

**EFEK PEMBERIAN TERAPI SALEP EKSTRAK KULIT
PISANG RAJA (*Musa paradisiaca* var. *sapientum*)
TERHADAP KESEMBUHAN LUKA YANG
DIINFEKSI MRSA (*Methicillin-Resistant
Staphylococcus aureus*) PADA TIKUS
(*Rattus novergicus*) BERDASARKAN
EKSPRESI TGF- β DAN JUMLAH
FIBROBLAST**

SKRIPSI

Oleh:

YOHANES SURYA PAMUNGKAS

145130101111009



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

Efek Pemberian Terapi Salep Ekstrak Kulit Pisang Raja (*Musa Paradisiaca* Var. *Sapientum*) Terhadap Kesembuhan Luka Yang Diinfeksi Mrsa (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*) Pada Tikus (*Rattus novergicus*) Berdasarkan Ekspresi TGF- β Dan Jumlah Fibroblast

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:

YOHANES SURYA PAMUNGKAS

145130101111009



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**



LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Efek Pemberian Terapi Salep Ekstrak Kulit Pisang Raja (*Musa Paradisiaca* Var. *Sapientum*) Terhadap Kesembuhan Luka Yang Diinfeksi Mrsa (Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus*) Pada Tikus (*Rattus novergicus*) Berdasarkan Ekspresi TGF- β Dan Jumlah Fibroblast

Oleh :

YOHANES SURYA PAMUNGKAS

145130101111009

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada 8 Oktober 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Sri Murwani, drh., MP.

NIP. 19630101 1989032 001

drh.Dyah Ayu OAP., Mbiotech

NIP. 19841026 200812 2 004

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

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

NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Yohanes Surya Pamungkas

NIM : 145130101111009

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

Efek Pemberian Terapi Salep Ekstrak Kulit Pisang Raja (*Musa Paradisiaca* *Var.Sapientum*) Terhadap Kesembuhan Luka Yang Diinfeksi Mrsa (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*) Pada Tikus (*Rattus novergicus*) Berdasarkan Ekspresi TGF- β Dan Jumlah Fibroblast

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 16 Oktober 2018

Yang Menyatakan,

YOHANES SURYA PAMUNGKAS

NIM. 145130101111009

EFEK PEMBERIAN TERAPI SALEP EKSTRAK KULIT PISANG RAJA (*Musa paradisiaca* var. *sapientum*) TERHADAP KESEMBUHAN LUKA YANG DIINFEKSI MRSA (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*) PADA TIKUS (*Rattus novergicus*) BERDASARKAN EKSPRESI TGF- β DAN JUMLAH FIBROBLAST

ABSTRAK

Luka adalah cedera pada tubuh yang mengakibatkan terganggunya struktur pada jaringan kulit. Luka non steril disebabkan oleh infeksi salah satunya infeksi *Staphylococcus aureus*. Pada luka yang diinfeksi MRSA (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*) akan menghambat penyembuhan luka. Kulit pisang raja terdapat kandungan yakni saponin, tannin, alkaloid dan flavonoid. Kandungan flavonoid membantu dalam percepatan pembentukan kolagen, kandungan tannin membantu pembentukan pembuluh darah serta kandungan saponin membantu dalam epitelisasi. Kandungan tannin dan alkaloid juga sebagai antimikroba. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui efek pemberian terapi salep ekstrak kulit pisang raja (*Musa paradisiaca* var *sapientum*) pada hewan model luka insisi yang diinfeksi MRSA terhadap jumlah fibroblast dan ekspresi TGF- β . Penelitian ini adalah penelitian yang bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan coba yang digunakan adalah tikus (*Rattus novergicus*) berjumlah 20 ekor yang dibuat menjadi lima kelompok. Lima kelompok tersebut yaitu kontrol positif (diinsisi dan diinfeksi bakteri MRSA sebanyak 0,2 ml dengan dosis 10^5 CFU/ml), kontrol negatif (tidak diinsisi dan tidak diinfeksi bakteri MRSA sebanyak 0,2 ml), dan kelompok terapi yang diinsisi, diinfeksi bakteri MRSA sebanyak 0,2 ml dan diterapi salep ekstrak kulit pisang raja dua kali sehari dengan dosis bertingkat yaitu terapi 10%, terapi 20% dan terapi 30%. Parameter yang diukur adalah jumlah fibroblast dengan pewarnaan *Hematoxylin eosin* dan ekspresi TGF- β yang dianalisa menggunakan teknik *immunohistokimia*. Analisa data dilakukan dengan menggunakan uji *one way ANOVA* dan uji lanjutan BNJ (Beda Nyata Jujur) dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Terapi ekstrak kulit pisang raja menunjukkan peningkatan terhadap ekspresi TGF- β dan jumlah fibroblast secara signifikan di jaringan kulit tikus yang diinfeksi MRSA dengan konsentrasi terbaik yakni 10 %. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak kulit pisang raja mampu memberikan efek penyembuhan pada luka insisi.

Kata kunci : Luka, Fibroblast, TGF- β , Kulit Pisang Raja

The Effect of Ambon Banana (*Musa paradisiaca var. sapientum*) Peel Extract Ointment Therapy on Wound Recovery Infected by MRSA (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*) in Rats (*Rattus norvegicus*) based on TGF- β Expression and Total Fibroblast

ABSTRACT

Wound is an injury happens in any part of the body that leads to a disruption of skin tissues structure. Non-sterile wound is caused by *Staphylococcus aureus* infection. Wounds infected by MRSA (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*) will slow down the wound recovery. Ambon banana peel contains of saponin, tannin, alkaloid and flavonoid. Flavonoid helps to accelerate the formation of collagen, tannin helps to form blood vessels and saponin will help in epithelialization. The purpose of this study was to find out the effect of ambon banana (*Musa paradisiaca var. sapientum*) peels extract ointment therapy in incision wounds model animals contaminated by MRSA (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*) towards the amount of fibroblast and TGF- β expression. This study was experimental using Completely Randomized Design. Model animals that were used consisted of 20 rats (*Rattus norvegicus*) divided into five groups. Those five groups were; positive control (was incised and infected by 0,2 ml of MRSA bacteria with the dose of 10^5 CFU/ml), negative control (was not incised and infected by MRSA bacteria) and therapy group that was incised, infected by 0,2 ml of MRSA bacteria and was treated by ambon banana peels extract ointment with gradual dose of 10% therapy, 20% therapy and 30% therapy. The measured parameters were the amount of fibroblast with *Hematoxylin eosin* staining and TGF- β expression that was analyzed by immunohistochemistry method. The data was analyzed by one-way ANOVA test and Honest Significant Difference (HSD) test with confidence level of 95% ($\alpha = 0,05$). Ambon banana (*Musa paradisiaca var. sapientum*) peels extract ointment therapy showed an improvement towards TGF- β expression and the amount of fibroblast significantly in skin tissues of rats infected by MRSA with the best concentration was 10%. The conclusion of this study was Ambon banana (*Musa paradisiaca var. sapientum*) peels extract could give recovery effect towards incision wounds.

Key Words: Wound, Fibroblast, TGF- β , Ambon banana peels

KATA PENGANTAR

Puji syukur terhadap Tuhan Yesus Kristus sebab belas kasih dan karunia-Nya dapat menyelesaikan SKRIPSI yang berjudul “Efek Pemberian Terapi Salep Ekstrak Kulit Pisang Raja (*Musa Paradisiaca* var. *Sapientum*) terhadap kesembuhan Luka Yang Diinfeksi MRSA Pada Tikus (*Rattus novergicus*) dilihat berdasarkan ekspresi TGF- β dan Jumlah Fibroblast” ini dapat terselesaikan. Dalam pernyataan Pemazmur (126:5) mengatakan bahwa ‘Orang orang yang menabur dengan mencururkan air mata, akan menuai dengan bersorak-sorai’ kalimat tersebut menjadi salah satu kekuatan dan inspirasi bagi penulis dalam mengerjakan SKRIPSI ini.

Penulis mengucapkan terimakasih kepada segenap pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah membantu dalam penyusunan SKRIPSI ini. Ucapan Trimakasih kepada:

1. Dr. Sri Murwani, drh., MP., selaku dosen pembimbing I atas segala bantuan, kesempatan, nasihat, bimbingan, dan arahan yang diberikan kepada penulis.
2. drh. Dyah Ayu OAP., M Biotech selaku dosen pembimbing II atas segala bantuan, kesempatan, nasihat, bimbingan, dan arahan yang diberikan kepada penulis.
3. drh. Dahliatul Qosimah, M.Kes. selaku dosen penguji I atas segala bantuan, kesempatan, nasihat, bimbingan, dan arahan yang diberikan kepada penulis.
4. drh. Aldila Noviatri, M.Vet. selaku dosen penguji II atas segala bantuan, kesempatan, nasihat, bimbingan, dan arahan yang diberikan kepada penulis.
5. Prof. Dr. Aulanni’am, drh., DES., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya (FKH UB).
6. Secara khusus penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada Bapak Sukono, Ibu Endah Suryani Yudaningsih, Kakak Antonius Himawan Jayanto dan Kakak Antonius Wahyu Dwijo Saputro atas doa, kasih sayang, semangat, dan dukungan dalam bentuk moril maupun materil tiada henti kepada penulis selama menempuh pendidikan di FKH UB.
7. Kepada kelompok skripsi yang hebat dan menjadi patner yang luar biasa (Safa, Fitrah dan Adeka)

8. Kepada para sahabat dikontrakan (Dion, Davinci, Rifqi, Bayu, Hendra, Kolif) yang selalu mengisi penuh dengan canda tawa.
9. Kepada sahabat sahabat yang dipertemukan di Uakkt dan masih akrab sampai saat ini dan slalu mensupport penulis dalam hal apapun (Viki, Barata, Yosua Tito, Gita, uni) .
10. Kepada sahabat-sahabat SMA yang masih akrab sampai saat ini dan selalu mensupport (Yoko, Selda, Yosua Pratama, Risa Agustin).
11. Keluarga Mahasiswa Katolik FKH UB St.Fransiskus dari Asisi yang penulis cintai yang selalu memberikan semangat dalam keluarga seiman di FKH UB.
12. Komunitas SCM (Serafim Catolic Ministry) yang memberikan dukungan iman untuk penulis.
13. Keluarga besar A'MAZE Class 2014 atas cinta, persahabatan, semangat, inspirasi, keceriaan, dan mimpi-mimpi yang luar biasa.
14. Teman-teman seperjuangan mahasiswa FKH UB angkatan 2014 yang telah memberikan semangat dan saran yang membangun.
15. Seluruh staf dan karyawan FKH UB, yang telah membantu proses administrasi dalam pembuatan Skripsi.
16. Semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan Laporan ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam penulisan Skripsi ini. Oleh karena itu, penulis sangat menerima kritik atau saran yang membangun. Semoga dapat memberikan manfaat karena pengalaman adalah guru terbaik.

Malang, Oktober 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
COVER	
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Kulit	7
2.2 Luka	8
2.3 Sistim Imun pada Kulit	9
2.4 Fase Penyembuhan	12
2.4.1 Fase Homeostatis	12
2.4.2 Fase Inflamasi	13
2.4.3 Fase Proliferasi	14
2.4.4 Fase Remodeling	14
2.5 TGF- β	15
2.6 Fibroblast	15
2.7 Pisang	15
2.8 Kulit pisang Raja dalam Penyembuhan Luka	18
2.9 <i>Stapylococcus aureus</i>	19
2.10 <i>Rattus novergicus</i>	19
BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	22
3.1 Kerangka Konseptual	22
3.2 Hipotesis Penelitian	24
BAB 4. METODE PENELITIAN	25
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	25
4.2 Alat dan Bahan	25

4.3 Tahapan Penelitian	26
4.3.1 Rancangan Penelitian	27
4.3.2 Penetapan Sampel Penelitian	28
4.3.3 Variabel Penelitian	28
4.4 Prosedur Kerja	29
4.4.1 Persiapan Hewan Coba.....	29
4.4.2 Pembuatan Ekstrak Kulit Pisang Raja.....	30
4.4.3 Pembuatan Salep Ekstrak Kulit Pisang Raja	30
4.4.4 Pembuatan Suspensi Bakteri MRSA.....	31
4.4.6 Pembuatan Luka Model Insisi	31
4.4.7 Terapi Salep Ekstrak Kulit Pisang Raja	32
4.4.8 Eutanasi dan Isolasi Kulit	32
4.4.9 Perhitungan jumlah fibroblast	33
4.4.10 Pembuatan preparat histologi dan Pewarnaan HE ..	33
4.5.2 Tahap Perhitungan Fibroblast	33
4.6 Prosedur IHK dan perhitungan Ekspresi TGF- β	34
4.7 Analisis Data	35
BAB 5. Hasil dan Pembahasan	36
5.1. Identifikasi MRSA	36
5.2. Terapi Salep Ekstrak Kulit Pisang Raja (Musa paradisiaca var.sapientum) Terhadap Gambaran Makroskopis Kulit Luka Insisi Tikus yang Diinfeksi Bakteri MRSA (<i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i>).....	36
5.3. Terapi Salep Ekstrak Kulit Pisang Raja (Musa paradisiaca var.sapientum) Terhadap Ekspresi Transforming Growth Faktor- β pada Luka Insisi Kulit Tikus yang Diinfeksi MRSA (<i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i>).....	40
5.4. Terapi Salep Ekstrak Kulit Pisang Raja (Musa paradisiaca var.sapientum) Terhadap Jumlah Fibroblast pada Luka Insisi Kulit Tikus yang Diinfeksi MRSA (<i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i>).....	48
BAB 6. Kesimpulan dan Saran	56
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN	63



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Data Biologis Tikus Putih (<i>Rattus novergicus</i>).....	21
4.1 Rancangan Kelompok Penelitian	27
5.1 Rata Rata± SD dan Hasil Tukey Rata- Rata Ekspresi TGF-β.....	45
5.2 Rata Rata± SD dan Hasil Tukey Jumlah Fibroblast.....	52



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Diagram Penampang Kulit	7
2.2 Diagram Lapisan Epidermis.....	8
2.3 Pisang Raja	17
2.4 Staphylococcus aureus.....	19
2.5 Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	21
5.1 Gambaran Makroskopis K-.....	38
5.2 Gambaran Makroskopis K+.....	38
5.3 Gambaran Maksroskopis T1.....	39
5.4 Gambaran Makroskopis T2.....	39
5.5 Gambaran Makroskopis T2.....	39
5.6 Ekspresi TGF- β K-.....	42
5.7 Ekspresi TGF- β K+	42
5.8 Ekspresi TGF- β T1	43
5.9 Ekspresi TGF- β T2	43
5.10 Ekspresi TGF- β T3	44
5.11 Gambaran Histopatologi Fibroblast K-	49
5.12 Gambaran Histopatologi Fibroblast K+	49
5.13 Gambaran Histopatologi Fibroblast T1	50
5.14 Gambaran Histopatologi Fibroblast T2	50
5.15 Gambaran Histopatologi Fibroblast T3	51



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Sertifikat Laik Etik “Ethical Clearance”	63
2. Kunci Determinasi Tanaman Pisang Raja	64
3. Keterangan Ekstrak dan Skrining Fitokimia Kulit Pisang Raja	65
4. Uji MSA dan Uji Antibiogram Bakteri MRSA	67
5. Kerangka Operasional Penelitian.....	68
6. Pembuatan Preparat Histopatologi.....	69
7. Prosedur Immunohistokimia untuk TGF- β	70
8. Prosedur Pewarnaan HE.....	71
9. Pembuatan Suspensi Bakteri MRSA.....	72
10. Perhitungan Dosis Anastesi.....	73
11. Perhitungan Konsentrasi Salep Ekstrak Kulit Pisang Raja.....	74
12. Data Uji Statistika Ekspresi TGF- β	75
13. Data Uji Statistika Ekspresi Jumlah Fibroblast	78



DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
MRSA	: <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i>
MT	: <i>Masson's Trichrome</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor-B</i>
RAL	: <i>Rancangan Acak Lengkap</i>
BNF	: <i>Buffer Neutral Formalin</i>
NA	: <i>Nutrient Agar</i>
NB	: <i>Nutrient Broth</i>
CFU	: <i>Colony Forming Unit</i>
NaCl	: <i>Natrium Chlorida</i>
HCL	: <i>Asam Klorida</i>
BNF	: <i>Buffer Neutral Formalin</i>
BSA	: <i>Bovine Serum Albumin</i>
DAB	: <i>Diamond Benzidine</i>
SA-HRP	: <i>Streptavidin Horse Raddish Peroxidase</i>
ANOVA	: <i>One Way Analysis of Variance</i>
Cm	: <i>Centi Meter</i>
ROS	: <i>Reactive oxigenase</i>
MHA	: <i>Mueller Hilton Agar</i>
MSA	: <i>Mannitol Salt Agar</i>
o	: <i>Derajat</i>
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
BFGF	: <i>Basic Fibroblast Growth Factor</i>
ml	: <i>Mili liter</i>





BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka adalah rusaknya sebagian jaringan tubuh yang dapat disebabkan oleh trauma benda tajam atau tumpul, perubahan temperatur, zat kimia, ledakan, sengatan listrik, atau gigitan hewan. Efek luka seperti hilangnya seluruh atau sebagian fungsi organ, pendarahan dan pembekuan darah, kontaminasi bakteri, dan kematian sel (Sjamsuhidayat dan Jong, 2005). Luka terdapat banyak jenisnya seperti luka sayatan, luka lecet, luka bakar, avulsi, tusukan, laserasi dan bekas luka. Luka insisi adalah luka yang disebabkan oleh alat yang berujung tajam. Pada luka insisi, ukuran luka yang terlihat dari luar (*external component*) lebih panjang daripada kedalaman luka (*internal component*). Prevalensi luka yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* pada sampel dari berbagai hewan yang masuk di laboratorium Mikrobiologi yang ada di Pakistan tercatat sebesar 39,13 % (Kumbhar *et al.*, 2018). Bakteri tersebut dapat ditransmisikan melalui kontak fisik, pakaian, benda maupun udara (Warsa, 1994).

Pada kulit terdapat epitel pada epidermis dan merupakan pembungkus utuh seluruh permukaan tubuh (Kalangi, 2013). Jika terdapat faktor dari luar tidak mampu ditahan oleh kulit maka terjadilah luka. Luka yang terjadi kulit akan mempunyai respon tubuh dan tubuh memiliki fungsi fisiologis penyembuhan luka. Fase penyembuhan yaitu fase awal, *intermediate* dan fase lanjut. Masing – masing fase memiliki proses biologis dan peranan sel yang berbeda. Pada fase awal, terjadi hemostasis dimana pembuluh darah yang terputus pada luka akan dihentikan dengan terjadinya reaksi vasokonstriksi untuk memulihkan aliran darah serta inflamasi untuk membuang

jaringan rusak dan mencegah infeksi bakteri. Pada fase *intermediate*, terjadi proliferasi sel mesenkim, epitelialisasi dan angiogenesis. Selain itu terjadi pula kontraksi luka dan sintesis kolagen pada fase ini. Sedangkan untuk fase akhir, terjadi pembentukan luka / *remodeling* (Lawrence, 2002; Pusponegoro, 2005). Pada umumnya penyembuhan luka menggunakan iodine (Timotius, 2012).

Iodine digunakan secara umum dalam penyembuhan luka dan dalam penggunaan yang berlebihan dapat menghambat proses granulasi luka. dalam perawatan luka secara umum biasanya menggunakan iodine 10% sehingga dapat digunakan untuk penyembuhan luka dengan membersihkannya dengan kassa steril yang diberi antiseptik kemudian diolesi pada daerah luka (Darmadi, 2008). Antibiotik dalam penggunaannya dinilai kurang efisien karena memiliki sifat *multidrug resistant* (Pringgencies, 2015). Iodine memiliki kekurangan yang telah di sebutkan sebelumnya maka diperlukan terapi yang lebih baik dan pada penelitian ini menggunakan kulit pisang raja.

Pisang raja merupakan tanaman yang mudah ditemukan di Indonesia. Pada pemanfaatan buah pisang raja berbanding lurus dengan limbah yang dihasilkan. Aktivitas antioksidan lebih tinggi di kulit pisang dibandingkan daging buahnya. Pada kulit pisang terdapat senyawa antioksidan yaitu katekin, gallokatekin dan epikatein (Pane, 2013). Senyawa antioksidan pada kulit pisang merupakan golongan senyawa flavonoid yang mempunyai aktivitas antibakteri karena mampu berinteraksi dengan DNA bakteri dan menghambat fungsi membran sitoplasma bakteri dengan mengurangi fluiditas dari membran dalam dan membrane luar sel bakteri (Cushinie, 2005).

Aktivitas antiinflamasi flavonoid yang terdapat pada pisang dapat bermigrasi ke tempat luka kemudian akan membuat reaksi inflamasi akan berlangsung secara cepat dan kemampuan TGF- β tidak terhambat (Kurnia, 2005). Antiinflamasi mempercepat proses inflamasi dengan menurunkan mediator inflamasi dan proses penyembuhan luka dapat segera memasuki fase proliferasi. Peran TGF- β yang terjadi pada proses penyembuhan luka mampu menginduksi fibroblast, dimana fibroblast bertanggung jawab dalam mensintesis kolagen (Klass *et al.*, 2010).

Pada penelitian ini kulit pisang raja diaplikasikan pada luka dalam bentuk salep. Menurut Anwar (2012) salep merupakan sediaan yang memiliki bentuk setengah padat lalu mudah dioleskan dan digunakan sebagai obat topikal. Bahan salep sendiri dapat larut dalam dasar salep yang cocok. Salep yang akan digunakan dalam sebuah formulasi memiliki sifat *inert* atau dapat dikatakan bahwa tidak merusak ataupun mengurangi efek terapi dari obat yang dikandungnya (Anief, 2013).

Berdasarkan latar belakang yang telah disebutkan, maka dalam penelitian ini dilakukan studi terapi salep kulit pisang raja terhadap luka insisi tikus putih yang diinfeksi bakteri MRSA. Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah ekspresi *Transforming Growth Factor* β (TGF- β) dan jumlah fibroblast. Pembuatan preparat untuk pengamatan jumlah fibroblast dilakukan dengan menggunakan pewarnaan HE (*Hematoxylin eosin*), sedangkan ekspresi TGF- β dilihat dengan metode imunohistokimia. Penelitian ini diharapkan dapat membuat inovasi pengobatan kesembuhan luka infeksi bakteri MRSA.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah terapi salep ekstrak kulit pisang raja (*Musa para diasiaca var. sapientum*) dapat meningkatkan ekspresi TGF- β pada luka insisi hewan model tikus yang diinfeksi MRSA ?
2. Apakah terapi salep ekstrak kulit pisang raja (*Musa paradisiaca var. sapientum*) dapat meningkatkan jumlah fibroblast pada luka insisi hewan model yang diinfeksi bakteri MRSA?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan rumusan masalah yang sudah disebutkan di atas, maka penelitian ini dibatasi pada :

- a. Hewan coba pada penelitian yaitu tikus putih (*Rattus novergicus*) galur wistar dengan kelamin jantan berat 150-180 g berumur 1-2 bulan (Aulia, 2015). Tikus yang didapatkan dari *Animal Experiment* di Singosari kabupaten Malang yang telah mendapatkan persetujuan sertifikat Laik Etik dari Komisi Etik Penelitian (*Animal Care and Use Committee*) Universitas Brawijaya No: 978-KEP- UB.
- b. Luka dibuat dengan cara menginsisi *longitudinal midline* pada daerah dorsal tikus sepanjang 3 cm sampai batas kedalaman subkutan dengan menggunakan *scalpel blade* berjarak 5 cm dari telinga, kemudian luka insisi diinfeksi dengan meneteskan sebanyak 0,2 ml suspensi bakteri MRSA (10^5 CFU/ml) (Marpaung, 2014; Rupina, 2015).
- c. Kulit pisang raja yang digunakan bewarna hijau dan masih mentah. Kulit pisang didapatkan dari pasar Blimbing Malang dan dilakukan proses ekstraksi metode

maserasi menggunakan pelarut etanol 96% di Materica medika Batu (Poelengan,*et al.*, 2007).

- d. Sediaan yang dibuat dalam bentuk salep dengan penambahan vaselin album dan adeps lanae sehingga didapatkan masing-masing konsentrasi 10%, 20%, 30% dan setiap salep dibuat sebanyak 100 g (Pongsipulung, 2012). Penggunaan salep diberikan seara topikal dengan pengolesan 2 kali sehari sebanyak 1 g menggunakan *cotton bud* steril selama 7 hari (Febram, 2010).
- e. Penghitungan jumlah fibroblast dilakukan dengan pewarnaan *Hematoxylin eosin* dengan menghitung jumlah fibroblast dengan 5 lapang pandang (Kusumawardhani, 2013; Ardiana, 2015).
- f. Pengukuran ekspresi TGF- β dilakukan dengan metode *imunohistokimia* dengan memunculkan warna kecoklatan pada ekspresi TGF- β yang diamati menggunakan *software imunoratio* (Purwanto, 2009).
- g. Analisa data ekspresi TGF- β dan jumlah fibroblast dianalisa secara statistik menggunakan metode ANOVA dan dilanjutkan dengan uji BNJ (Beda Nyata Jujur) dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 5\%$).

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah diuraikan, terdapat beberapa tujuan dari penelitian ini yakni :

1. Mengetahui efek terapi pemberian salep ekstrak kulit pisang raja (*Musa paradisiaca var sapientum*) dapat meningkatkan ekspresi TGF- β pada hewan model luka insisi yang diinfeksi bakteri MRSA.

2. Mengetahui efek terapi pemberian salep ekstrak kulit pisang raja (*Musa paradisiaca var sapientum*) terhadap jumlah fibroblast pada hewan model luka insisi yang diinfeksi bakteri MRSA.

1.5 Manfaat Penelitian

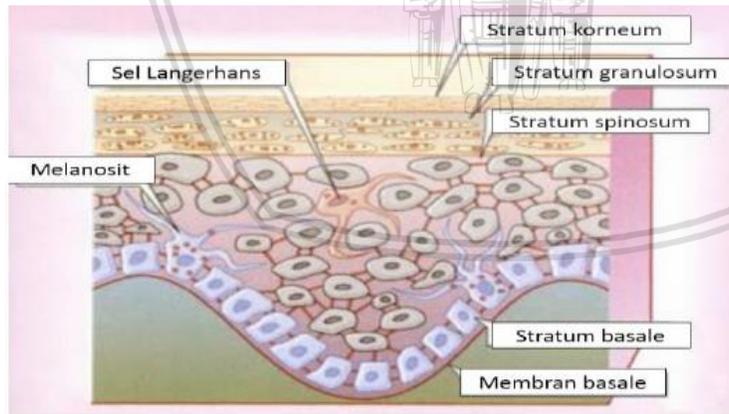
1. Sebagai dasar penelitian lanjut mengenai ekstrak kulit pisang Raja (*Musa paradisiaca var sapientum*) sebagai terapi terhadap luka insisi yang diinfeksi MRSA.



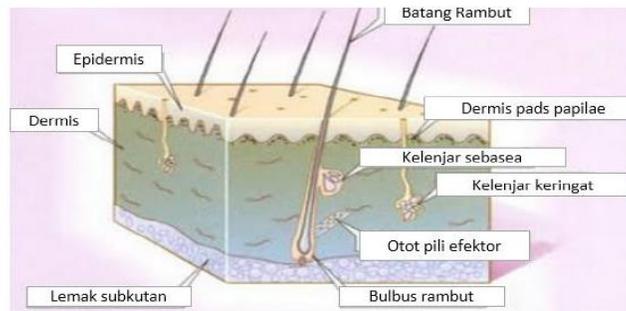
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit

Kulit adalah salah satu organ terbesar dan memiliki fungsi-fungsi utama termasuk perlindungan fisik, perasa, pengaturan suhu, dan isolasi. Kulit terdiri dari dua kompartemen yaitu epidermis dan dermis (Gambar 2.1). Epidermis terbentuk dari lima lapisan keratinosin yaitu lapisan dasar stratum, strata spinosum, stratum granulosum, stratum lucidum, dan strata korneum (Gambar 2.2). Komponen epidermal tambahan, disebut sebagai pelengkap kulit, termasuk akar rambut, keringat kelenjar, kelenjar sebaceous, dan kuku / kuku. Sel epidermis diisi oleh 95%-95% keratinosit dan juga di isi juga seperti melanosit, sel Langerhans, dan sel merkel. Epidermis melekat pada dermis di tingkat membran dasar, lapisan tipis, glikoprotein terutama terdiri dari kolagen laminin (Theoret and Schumacher, 2017).



Gambar 2.1 Diagram penampang kulit, menunjukkan epidermis dan dermis (Born and Burns, 2017),



Gambar 2.2 Diagram lapisan epidermis
(Brown dan Burns, 2005)

2.2 Luka

Menurut (Wijaya dkk., 2015) luka merupakan kerusakan yang terjadi pada komponen jaringan dan terdapat substansi jaringan yang rusak. Efek luka yang terjadi yaitu seperti hilangnya seluruh atau sebagian fungsi yang ada dari respon stres simpatis, organ, pendarahan dan pembekuan darah, kematian sel serta kontaminasi bakteri.

Klasifikasi luka menurut Abdurrahmat terdiri dari 6 yaitu luka iris, luka memar, luka terkoyak, luka bocor, luka gores dan luka bakar. Luka iris merupakan jenis luka diakibatkan oleh irisan benda tajam misalnya pisau. Luka memar merupakan luka yang diakibatkan oleh benturan tubuh dengan benda tumpul selanjutnya diikuti kerusakan pada bagian dalam tubuh seperti kerusakannya yaitu patah tulang. Luka terkoyak merupakan luka memiliki kontur tidak menentu, bergerigi lalu banyak jaringan yang rusak contohnya yaitu luka disebabkan pecahan kaca. Luka bocor merupakan jenis luka lalu terlihat lubang kecil pada permukaan kulit dan menembus cukup dalam contohnya luka yang ditimbulkan oleh peluru. Luka gores yaitu jenis luka yang tidak terlalu dalam dan memiliki permukaan luka yang sangat lebar dan

luka ini pembuluh darah rusak tetapi pada bagian perifer. Luka bakar merupakan luka yang disebabkan akibat terbakarnya bagian tubuh (Abdurrahmat,2014).

2.3 Sistem Imun pada Kulit

Imunitas alami dimiliki oleh pertahanan inang, memberikan perlindungan saat adanya infeksi dan terdapat imunitas adaptif yang memiliki perkembangan lebih lambat namun memberikan perlindungan. *Innate immunity* atau disebut dengan imunitas alami memiliki peran dalam menghambat masuknya mikroba dan mengeliminasi mikroba yang berhasil memasuki jaringan host/ inang. Limfosit adalah sel yang cukup berperan dalam respon imun karena mempunyai kemampuan untuk mengenali antigen dan limfosit merupakan respons imun adaptif (Mading, 2014).

Barier epitel kulit merupakan *innate immunity* memiliki fungsi untuk menghambat masuknya mikroba. Jika epitel dihancurkan mikroba dan memasuki jaringan atau sirkulasi maka mikroba tersebut diserang oleh fagosit dan limfosit spesifik (sel limfoid) alami misalnya sel natural killer, protein dari system komplemen dan termasuk beberapa protein plasma. Mekanisme imunitas alami bereaksi dan mengenali terhadap mikroba. Sistem imun alamiah (*innate immunity*) juga membentuk respon imun adaptasi yang lebih spesifik (Arina, 2003).

2.3.1 Komponen *Innate Immunity*

a. Barrier Epitel kulit

Merupakan penghubung utama antara tubuh dan lingkungan eksternal kulit memiliki pertahanan oleh epitel dalam bentuk barrier kimia dan fisik. Antigen dapat memasuki inang dari lingkungan eksternal melalui perbatasan

fisik dalam bentuk epitel untuk menghalangi mikroba. Sel epitel tersebut menghasilkan defensin dan katelisin sebagai peptide antibiotik untuk membunuh mikroba. Pada epitel terdapat limfosit intraepitel diperkirakan bekerja terhadap agen infeksius yang berusaha menembus epitel (Abbas, 2016).

b. Fagosit

Neutrophil merupakan sel fagositosis yang berperan menyingkirkan dan mikroorganisme yang masuk (Kresno, 2010). Monosit juga menelan dan menghancurkan mikroba dalam darah dan dalam jaringan tetapi ketika monosit masuk ke jaringan monosit akan berdiferensiasi menjadi makrofag. Makrofag selain memiliki fungsi fagositosis yaitu memproduksi sitokin dan mengawali proses penyembuhan luka (Abbas, 2016).

c. Sel Dendritik

Ketika mikroba banyak memproduksi sitokin peran sel dendritik meresponnya dengan fungsi mengawali peradangan dan merangsang respon imun adaptif. Sel dendritik merupakan jembatan penting antara respon imun alami dan respon imun adaptif dengan cara mengenali mikroba lalu berinteraksi dengan limfosit. Sel dendritik memiliki peran mempresentasikan pada permukaan sel dengan cara menangkap antigen dengan proses fagositosis dan pinositosis (Kresno, 2010)

d. Sel Natural Killer

Sel natural Killer (NK) memiliki peran dalam mengenali mikroorganisme yang menginfeksi sel dan sel tersebut memberikan respon

dengan membunuh sel tersebut dan dengan mensekresi sitokin yang mengaktifkan makrofag. Sel NK menghancurkan sel inang Bersama infeksi mikroba intraseluler. Aktivitas pada sel NK bersinergi dengan interferon serta rangsangan lain. Sel sel ini dapat memainkan peran penting dalam pengawasan sistem imun (Bellanti, 1993)

e. Sel Mast

Sel ini diproduksi oleh sumsum tulang belakang dan ditemukan juga di kulit. Sel mast diaktifkan TLR yang diproduksi oleh mikroba. Sel mast mengandung histamin yang menyebabkan vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas kapiler, mengandung juga enzim proteolitik yang dapat menetralkan toksin mikroba inaktif. Sel mast juga mensintesis dan mensekresikan prostaglandin dan TNF untuk stimulasi inflamasi (Abbas, 2016).

2.3.2 Tipe *Addative Imunity*

a. Imunitas seluler (*cell-Mediated Immunity*) :Aktivasi Limfosit T dan Eliminasi Mikroba yang Terkait Sel

Imunitas seluler merupakan pertahanan terhadap mikroba intraseluler dan prosesnya diperantarai sel-sel yang disebut dengan limfosit T. Limfosit T ada yang mengaktifasi fagosit untuk menghancurkan mikroba oleh sel fagosit. Limfosit T yang lainnya juga membunuh berbagai jenis sel inang yang terinfeksi mikroba infeksius di dalam sitoplasma. Sel T menetahui antigen yang ditampilkan pada permukaan sel dan menunjukkan mikroba di dalam sel tersebut (Abbas, 2016).

b. Imunitas Humoral

Imunitas ini dihasilkan oleh protein yang disebut dengan antibodi dan diproduksi oleh sel sel disebut limfosit B. Antibodi masuk di dalam sirkulasi lalu menetralsir dan mengeliminasi mikroba serta toksin yang berada di luar sel sel inang di dalam darah dan cairan ekstraseluler yang berasal dari plasma. Antibodi memiliki fungsi menghentikan mikroba ke permukaan dalam darah agar tidak meyebar ke sel-sel inang dan tidak membentuk koloni di dalam sel serta jaringan ikat inang. Cara antibodi tersebut mencegah mikroba berkembang (Abbas,2016).

2.4 Fase penyembuhan

Serangkaian proses penyembuhan luka sangat kompleks dan saling tumpang tindih. Seiring dengan perkembangan teknologi molekular maka proses tersebut dapat dibedakan secara biologis ke dalam beberapa fase yakni fase hemostatis, inflamasi, proliferasi dan maturase (Williams and Moores. 2009).

2.4.1 Fase Homeostatis

Fase homeostatis terjadi tiga hal penting yakni vasokonstriksi, pembentukan sumbat trombosit dan koagulasi darah. Vasokonstriksi perifer, berlangsung 5–10 menit dan mekanisme tersebut dipicu oleh adanya zat parakrin yang dilepaskan secara lokal oleh endotel yang rusak. Vaskonstriksi akan memperlambat aliran darah dan meminimalisi hilangnya darah, namun tindakan fisik tersebut tidak cukup untuk mencegah secara sempurna pendarahann yang terjadi sehingga dibutuhkan tindakan hemostatik lainnya (Sherwood, 2013).

Pada proses ini memerlukan peranan platelet dan fibrin. Ketika pembuluh darah pecah, proses pembekuan dimulai dari rangsangan collagen terhadap platelet. Platelet menempel dengan platelet lainnya dimediasi oleh protein fibrinogen dan faktor von Willebrand. Agregasi platelet bersama dengan eritrosit akan menutup kapiler untuk menghentikan pendarahan.

2.4.2 Fase Inflamasi

Menurut (Williams dan Moores, 2009) Inflamasi ditandai dengan migrasi dari leukosit ke dalam luka dan migrasi tersebut terjadi dalam waktu 6 jam setelah cedera. Peradangan dimulai dengan aktivasi *system* komplemen pada saat cedera. Degradasi komplemen menarik neutrophil menuju luka dan opsonin untuk fagositosis. *Opsonin* merupakan molekul yang mengikat bakteri dan meningkatkan serapan oleh fagositosis. Perubahan vascular pada inflamasi ditandai dengan adanya rubor, kalor, dolor dan tumor (Yunanda, 2016).

Neutrophil adalah sel pertama yang memasuki luka dan merupakan jenis sel dominan untuk 3 hari pertama memuncak pada 24-48 jam. Trombosit yang diaktivasi mengalami degranulasi dan melepaskan zat seperti pertumbuhan *platelet-derived growth factor* (PDGF) dan transformasi growth factor beta (TGF- β), yang menarik makrofag dan fibroblast. Munculnya platelet penting untuk kesembuhan luka, tidak adanya platelet tidak mempengaruhi keseluruhan hasil penyembuhan luka pada tikus model meskipun hal itu mempengaruhi respons inflamasi (Szpadarska *et al.*, 2003).

2.4.3 Proliferasi

Tahap proliferasi terjadi secara simultan dengan tahap migrasi dan proliferasi sel basal, yang terjadi selama 2-3 hari. Tahap proliferasi terdiri dari *neoangiogenesis*, pembentukan jaringan yang tergranulasi, dan epitelisasi kembali. Jaringan yang tergranulasi terbentuk oleh pembuluh darah kapiler dan limfatik ke dalam luka dan kolagen yang disintesis oleh fibroblas dan memberikan kekuatan pada kulit. Sel epitel kemudian mengeras dan memberikan waktu untuk kolagen memperbaiki jaringan yang luka. Proliferasi dari fibroblas dan sintesis kolagen berlangsung selama dua minggu (Schreml *et al.*, 2010)

2.4.4. Fase Remodeling

Kolagen muda (*gelatinous collagen*) yang terbentuk pada fase proliferasi akan berubah menjadi kolagen yang lebih matang, yang lebih kuat dan strukturnya yang lebih baik (proses remodelling) (Parampasi, 2013). Tahap akhir dari penyembuhan luka adalah remodelling luka, termasuk reorganisasi serat kolagen baru, membentuk struktur kisi yang lebih terorganisir yang progresif secara terus menerus meningkatkan ketegangan luka. Proses remodelling berlanjut hingga dua tahun, mencapai 40-70 persen dari kekuatan jaringan yang tidak rusak pada empat minggu (Novyana & Susianti, 2016).

2.5 TGF- β

TGF- β bertanggung memiliki peran terhadap adanya peningkatan jumlah dan proliferasi fibroblast dan sintesis kolagen setelah trauma. TGF- β didominasi oleh peranan TGF- β menstimulus terjadinya kemotaksis leukosit pada fase oleh peranan

TGF- β menstimulus terjadinya kemotaksis leukosit pada fase inflamasi dan menstimulus pembentukan jaringan granulasi (kondo and ishida, 2010).

TGF- β mempunyai peran penting pada perkembangan embrio, penyembuhan luka dan pembentukan tulang. Aktivitas TGF- β menghambat pertumbuhan berbagai jenis sel tetapi juga merangsang pertumbuhan sel lain. TGF- β berfungsi sebagai antisitokin yang merupakan sinyal untuk mengentikan respons imun dan respons inflamasi. TGF- β sebagian besar merupakan regulator negative respons imun, pada keadaan tertentu ia dapat memberikan efek positif. TGF- β merangsang sintesis protein matriks ekstraseluler seperti kolagen, metalloproteinase dan integrin dan meningkatkan angiogenesis (Kresno, 2010).

2.6 Fibroblast

Fibroblast berasal dari mesenkim. Mesenkim ialah jaringan ikat yang berkembang dari jaringan embrional. Fibroblast umumnya tersebar disepanjang serat kolagen dan secara mikroskopis nampak berbentuk fusiform. Inti fibroblast berbentuk elips dan Panjang, memiliki satu atau dua nucleoli serta gumpalan kromatin halus berdekatan dengan membrane nukleus. Sepasang sentriol dan sebuah kompleks golgi terdapat dekat inti. Fibroblast dapat terlihat dengan jelas pada pewarnaan hematoksilin eosin (Kusmardhani, 2013). Fibroblast mulai meningkat sekitar 3-4 hari setelah melukai dan sangat aktif 7 hari. Sumber fibroblas yaitu sel mesenkim yang tidak berdiferensiasi dekat dengan luka (Williams dan Moores, 2009).

Fibroblas akan aktif bergerak dari jaringan sekitar luka menuju kavitas luka dan berproliferasi. Fibroblast mampu mensintesis substansi penting seperti kolagen

yang menambah tegangan serta kekuatan permukaan luka (Febram dkk, 2010) fibroblast juga mampu mensintesis factor pertumbuhan yang menstimulus difrensiasi fibrosit menjadi miofibroblast. Miofibroblas adalah sel khusus yang bentuknya menyerupai sel otoy polos sehingga banyak mengandung mikrofilamen aktin dan myosin. Sel tersebut berperan dalam penutupan luka melalui mekanisme kontraksi (Inayah, 2014). Pada fase akhir dari penyembuhan luka, fibroblast juga bertanggung jawab untuk memproduksi MMP yang berperan dalam rekontruksi ECM (Klass *et al.*, 2010)

2.7 Pisang

Pisang merupakan salah satu tanaman penghasil buah dengan luasan areal paling luas di Indonesia Tanaman pisang memiliki berbagai jenis spesies dan telah digunakan sebagai tanaman obat tradisional (Dinastutie, 2015). Produksi pisang nasional menurut (Kementrian Pertanian, 2004) diperkirakan mencapai 6,28 juta ton pada tahun 2013. Limbah kulit pisang yang ada belum dimanfaatkan secara optimal dan jika tidak dimanfaatkan secara optimal maka dapat menyebabkan masalah tersendiri antara lain pencemaran lingkungan (Seftian *et al.*, 2012). Pada pisang raja memiliki berat buah yaitu 92 gram (1 buah) dengan Panjang 12-18 cm dan memiliki diameter 3,2 cm. buah pisang ini memiliki tekstur bewarna kuning kemerahan tanpa biji dan buahnya memiliki bentuk melengkung. Menurut Suyanti (2008) berdasarkan taksonominya, tanaman pisang raja diklasifikasikan yaitu:

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub Divisi : Angiospermae

Class : Monocotyledonae

Family : Musaceae

Genus : Musa

Spesies : *Musa paradisiaca* Var. *sapientum*



Gambar 2.3 Pisang Raja (Cahyono, 2009)

2.8 Kulit Pisang Raja dalam Penyembuhan Luka

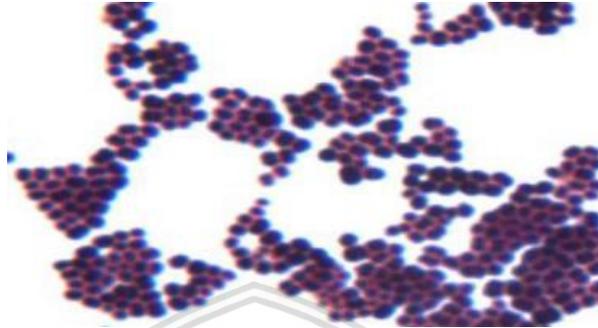
Tanaman pisang (*Musa*, sp), merupakan salah satu jenis tanaman yang paling banyak terdapat di Indonesia, tetapi masih belum memiliki acuan informasi yang lengkap, baik dari segi fitokimia maupun dari segi farmakologi guna dimanfaatkan secara optimal (Pane, 2013). Pada kulit pisang raja terdapat kandungan yakni saponin, tannin, dan flavonoid. Kandungan tannin lebih banyak terdapat pada kulit buah pisang yang belum matang dari pada kulit buah pisang yang telah matang, terjadinya peningkatan etanol hingga 70 kali lipat pada proses pematangan pisang menyebabkan kandungan tannin menurun. Pada daging buah pisang mengandung rata-rata 11,21 % flavonoid dan 24,6 % pada kulit pisang (Dinastutie, 2015). Manfaat yang terkandung pada flavonoid, tannin dan flavonoid yaitu:

- a. Tanin merupakan senyawa antimikroba yang aktif, dapat memicu kontraksi luka, dan meningkatkan pembentukan pembuluh darah kapiler serta fibroblast (Wibawani, 2015)
- b. Flavonoid mempertahankan fibroblas yang berlebih bersamaan dengan peningkatan vaskularisasi pada luka. Apabila fibroblast terlindung, maka fibroblast dapat banyak bermigrasi ke area luka dan dapat terjadi perlekatan antara kolagen dan fibroblast pada tepian luka dan proses tersebut sekitar 7-14 hari. (Pratiwi, 2015).
- c. Saponin mampu meningkatkan daya rentang , konten kolagen dan proses epitalisasi (Pratiwi, 2015)
- d. Alkaloid sebagai antibakteri tetapi alkaloid dengan dosis yang lebih tinggi dapat menyebabkan efek sitotoksik sehingga motilitas dan proliferasi fibroblas akan menurun akibatnya kesembuhan luka menjadi terhambat (Kulasekaran, 2004)

2.9 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif dengan diameter 0,5-1,0 mm, berbentuk serangkaian buah anggur, tidak membentuk spora dan tidak bergerak (BSN, 2015). Foster (2008) menambahkan bahwa *Staphylococcus* adalah bakteri berbentuk kokus, gram-positif dan memiliki diameter 0,5-1,0 mm, berkelompok, berpasangan dan kadang berantai pendek. Lay (1994) menyatakan bahwa bakteri gram positif berwarna ungu disebabkan kompleks zat warna kristal violet-yodium tetap dipertahankan meskipun diberi larutan pemucat. Pada sebagian

besar bakteri gram positif, dinding sel terutama terdiri dari beberapa lapis peptidoglikan, sehingga dinding sel tebal dan kaku (Murwani, 2015)



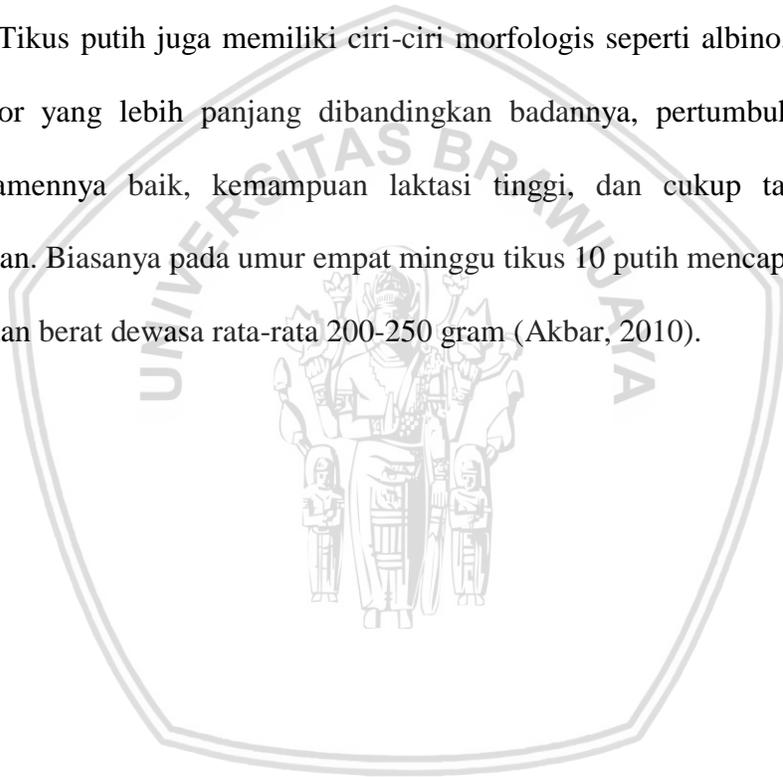
Gambar 2.3 *Staphylococcus aureus*, bewarna ungu, berbentuk bulat (Gram positif) (Makgotlho, 2019)

Faktor virulensi *S. aureus* antara lain: (1) Protein permukaan seperti protein A, adhesin, hemagglutinin, glikoprotein, dan fibronektin yang membantu kolonisasi dalam jaringan hospes; (2) Faktor permukaan memiliki peran menghalangi fagositosis seperti kapsul dan protein A; (3) Faktor virulensi yang berperan dalam kolonisasi bakteri yaitu antigen permukaan dan memiliki peran lain dalam penempelan *S. aureus* pada epitel; (4) Faktor virulensi pada *S. aureus* yang berperan sebagai pertahanan terhadap fagositosis netrofil dan berperan pada proses infeksi yang berperan yaitu Gen *coa*; (5) Faktor penggumpal merupakan protein adhesi yang penting pada *S. aureus* (Kushnan, 2016)

2.10 *Rattus norvegicus*

Tikus merupakan hewan masuk dalam taksonomi kelas mamalia/ menyusui. Tikus putih dapat digunakan sebagai hewan percobaan di laboratorium. Sifat merugikan yaitu dalam hal posisinya sebagai hama pada komoditas pertanian,

hewan pengganggu, serta penyebar dan penular (vector) dari beberapa penyakit pada manusia (Priyambodo, 2007). Tikus telah diketahui sifat-sifatnya dengan sempurna, mudah dipelihara, merupakan hewan yang relatif sehat dan cocok untuk berbagai macam penelitian (Pramono, 2005). Tikus juga merupakan salah satu hewan eksperimental yang populer dalam studi fungsi reproduksi. Salah satu keuntungannya adalah memiliki waktu siklus reproduksi yang lebih singkat (Krinke, 2000). Tikus putih juga memiliki ciri-ciri morfologis seperti albino, kepala kecil, dan ekor yang lebih panjang dibandingkan badannya, pertumbuhannya cepat, temperamennya baik, kemampuan laktasi tinggi, dan cukup tahan terhadap perlakuan. Biasanya pada umur empat minggu tikus 10 putih mencapai berat 35-40 gram, dan berat dewasa rata-rata 200-250 gram (Akbar, 2010).



Taksonomi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut (Sharp & Villano, 2013):

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia

Subordo : Myomorpha

Famili : Muridae

Genus : *Rattus*

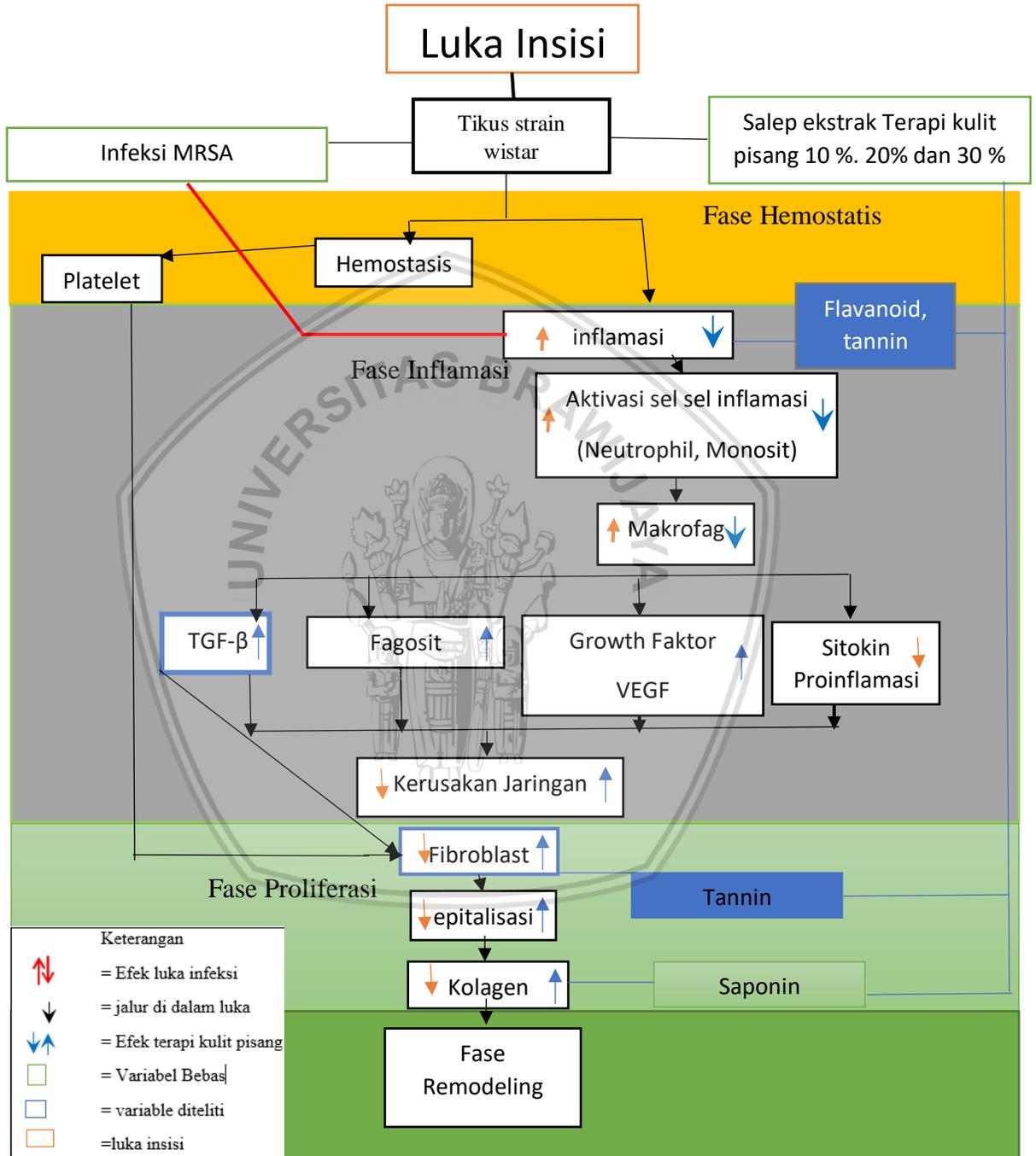
Spesies : *Rattus norvegicus*



Gambar 2.4 *Rattus norvegicus* (Janiver labs, 2013)

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Tikus putih diberikan perlakuan berupa luka insisi lalu diinfeksi bakteri MRSA. Insisi yang dilakukan menyebabkan kerusakan jaringan perifer dan diawali dengan pendarahan. Luka yang diinfeksi bakteri MRSA akan menyebabkan kerusakan sel inang pada jaringan kulit dan memperlambat penyembuhan luka. Platelet yang muncul pada fase homeostatis akan mengaktifasi trombokinase. Aktivasi yang terjadi di trombokinase akan mengubah prothrombin menjadi thrombin sehingga menghentikan pendarahan. Pada fase inflamasi yang menciri yaitu vasodilatasi disekitar jaringan luka dan migrasi leukosit salah satunya monosit. Monosit tersebut akan bertransformasi menjadi makrofag. Makrofag akan menghasilkan TGF- β , sitokin proinflamasi dan growth faktor contohnya VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor). Selanjutnya akan menarik fibroblast yang akan migrasi menuju luka. Makrofag memiliki fungsi lain menyingkirkan jaringan mati dan melawan infeksi mikroorganisme dengan memfagositosis. Lamanya waktu yang terjadi pada fase inflamasi kurang lebih satu hingga lima hari dan setelah inflamasi selesai maka sel radang menurun. Tahap terakhir penyembuhan luka yaitu fase remodeling. Pada fase ini fibroblast berproliferasi dan mengaktifasi matriks ekstraseluler dimana matriks tersebut akan menuju lokasi area luka dengan berkontraksi untuk mengurangi ukuran luka dan luka tertutup.

Salep kulit pisang raja yang diaplikasikan meningkatkan pembentukan pembuluh darah kapiler. Salep kulit pisang mengandung tannin, flavonoid dan saponin. Tannin merupakan senyawa antimikroba yang aktif, dapat memicu kontraksi luka, dan meningkatkan pembentukan pembuluh darah kapiler serta fibroblast. Saponin

membantu kontraksi luka. *flavonoid* berperan terhadap penyembuhan luka, khususnya dalam peningkatan jumlah fibroblas. Adanya flavonoid berfungsi untuk membatasi pelepasan mediator inflamasi. Aktivitas antiinflamasi flavonoid pembatasan jumlah sel inflamasi yang bermigrasi ke jaringan tempat luka, sehingga reaksi inflamasi akan berlangsung lebih singkat dan tidak menghambat kemampuan proliferasi dari TGF- β . TGF- β memiliki fungsi sebagai proliferasi dan migrasi fibroblast, meningkatkan sintesis kolagen dan fibronektin.

Salep kulit pisang raja memiliki aktivitas antiinflamasi yang bermigrasi ke tempat luka sehingga membuat reaksi inflamasi akan berlangsung singkat. Ketika respon inflamasi selesai jumlah sel radang akan menurun.

3.2 Hipotesa Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, maka hipotesa penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Terapi salep ekstrak kulit pisang (*Musa paradisiaca var sapientum*) secara topikal dapat meningkatkan ekspresi TGF- β pada luka hewan model luka insisi yang diinfeksi bakteri MRSA.
2. Terapi salep ekstrak kulit pisang (*Musa paradisiaca var sapientum*) secara topikal dapat meningkatkan gambaran Jumlah Fibroblast pada hewan model luka insisi yang diinfeksi bakteri MRSA.

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Maret-April 2018 dan dilakukan di beberapa laboratorium yaitu:

1. Pemeliharaan hewan coba dan pemberian perlakuan hewan coba di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Pembuatan suspensi bakteri MRSA 10^5 CFU/ml di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
3. Prosedur ekstraksi kulit pisang raja di UPT Materia Medika Batu
4. Pembuatan preparat histopatologi kulit dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
5. Uji *Immunohistokimia* untuk pengamatan ekspresi TGF- β yang dilakukan di Laboratorium Patologi Universitas Brawijaya Malang

4.2 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain kandang tikus, botol minum tikus, *underpad*, sarung tangan (*glove*), scalpel, pinset anatomis, pinset chirurgis, kain kasa, gunting tajam-tajam, gunting tajam-tumpul, *object glass*, *cover glass*, rak kaca objek, autoclave, timbangan, blender, penyaring karet, gelas ukur, wadah kaca tertutup, inkubator, kapas, papan fiksasi, pot organ, mikroskop cahaya (Olympus BX51), *water bath*, *software* Optilab viewer, *Immunoratio* dan aplikasi *Image Raster 3*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain tikus putih (*Rattus novergicus*) berjenis kelamin jantan galur *Wistar* dengan berat 120-150 gram, pakan, air minum, sekam, alkohol bertingkat 70%, 80%, 90%, 95%, salep ekstrak kulit pisang Raja (*Musa paradisiaca* *Var. sapientum*), jaringan kulit tikus, formalin 10%, pewarnaan HE, aquades, parafin, ketamine, xylazine, xylol, PBS, parafin cair, cakram antibiotik, *vaselin album*, *adepts lanae*, ketamine, xylazine, xylol, NaCL fisiologis 0,9%, PBS, parafin cair, antibodi TGF- β , pewarna kromagen *DAB*, antibodi sekunder *Goat Anti Rat* berlabel biotin.

4.3 Tahapan Penelitian

1. Persiapan hewan coba dan rancangan penelitian.
2. Prosedur pembuatan ekstrak kulit pisang Raja (*Musa paradisiaca* *var sapientum*) sebagai salep dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 30%.
3. Perlakuan insisi *longitudinal midline* hingga kedalaman subkutan pada daerah dorsal tikus sepanjang 3 cm dan pemberian bakteri MRSA.
4. Pemberian terapi salep ekstrak kulit pisang Raja (*Musa paradisiaca* *var sapientum*) dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 30%.
5. Pengambilan sampel kulit dan pembuatan preparat histopatologi kulit.
6. Analisa ekspresi TGF- β dengan metode Imunohistokimia.
7. Tahap pengamatan jumlah fibroblast dengan metode *Hematoxylin eosin*.
8. Analisis data.

4.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian yang bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan Acak Lengkap digunakan apabila percobaan yang digunakan memiliki ragam satuan yang seragam atau homogen. Hewan model dibagi menjadi beberapa kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan dalam penelitian ini yang akan dijelaskan pada **tabel 4.1**:

Tabel 4.1 Rancangan Kelompok Penelitian

Kelompok	Perlakuan
Kontrol Negatif	tikus yang tidak diinsisi, tidak diinfeksi bakteri MRSA, dan tidak diberikan terapi salep ekstrak kulit pisang raja (<i>Musa paradisiaca var sapientum</i>)
Kontrol Positif	adalah tikus yang diinsisi dan diinfeksi bakteri MRSA 10^5 CFU/ml tanpa pemberian terapi salep ekstrak kulit pisang raja (<i>Musa paradisiaca var sapientum</i>)
Terapi 1	tikus yang diinsisi dan diinfeksi bakteri MRSA 10^5 CFU/ml serta dilakukan terapi salep ekstrak kulit pisang raja (<i>Musa paradisiaca var sapientum</i>) dengan konsentrasi 10%
Terapi 2	tikus yang diinsisi dan diinfeksi bakteri MRSA 10^5 CFU/ml serta dilakukan terapi salep ekstrak kulit pisang raja (<i>Musa paradisiaca var sapientum</i>) dengan konsentrasi 20%
Terapi 3	tikus yang diinsisi dan diinfeksi bakteri MRSA 10^5 CFU/ml serta dilakukan terapi salep ekstrak kulit pisang raja (<i>Musa paradisiaca var sapientum</i>) dengan konsentrasi 30%

4.3.2 Penetapan Sampel Penelitian

Kriteria hewan model yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar berjenis kelamin jantan dengan berat 150-180 gram berumur 8 minggu. Penelitian ini menggunakan 5 perlakuan berdasarkan rumus menurut Kusningrum (2008) :

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

Keterangan :

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

t : Jumlah perlakuan

n : Jumlah ulangan yang diperlukan

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, maka diperlukan jumlah ulangan minimal empat kali untuk tiap kelompok perlakuan sehingga dibutuhkan tikus sebanyak 20 ekor.

4.3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

- Variabel bebas : dosis terapi salep ekstrak kulit pisang (*Musa paradisiaca var sapientum*) dan bakteri MRSA 10^5 CFU/ml, dan perlakuan insisi.
- Variabel terikat : Jumlah Fibroblast dan ekspresi TGF- β
- Variabel kontrol : homogenitas tikus meliputi berat badan, jenis kelamin, pakan, umur.

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Persiapan Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan hewan coba berupa tikus putih. Tikus yang digunakan dalam penelitian ini yaitu spesies *Rattus norvegicus* jantan strain *wistar* umur 8-12 minggu dengan berat badan berkisar antara 150-180 gram. Tikus diadaptasi dengan lingkungan selama tujuh hari sebelum digunakan dalam penelitian. Hewan coba diberikan pakan berbentuk pelet sebanyak dua kali sehari dan minum secara *ad libitum* (Muliani, 2011). Tikus terdiri dari lima kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok terdiri dari empat ekor tikus dalam satu kandang. Kandang tikus yang digunakan berbahan plastik dengan tutup kawat dan diberi alas berupa sekam untuk menjaga tingkat kelembapan. Pemeliharaan tikus dilakukan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.

4.4.2 Pembuatan Ekstrak Kulit Pisang Raja (*Musa paradisiaca var sapientum*)

Kulit buah pisang raja yang digunakan masih muda dan berwarna hijau yang didapatkan dari pasar Blimbing, Malang. Kulit pisang raja yang telah didapat dipisahkan dari buahnya dan dibersihkan dengan air mengalir. Kemudian dikeringkan dengan oven dan ditimbang sebanyak 300 gram. Sampel diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut ethanol 96%. Ekstraksi dilakukan selama 3 x 24 jam dan dilakukan pengadukan setiap 1 x 24 jam. Dilakukan penyaringan dan didapatkan ekstrak encer. Selanjutnya, ekstrak dievaporasi selama 1 x 24 jam pada suhu pemanasan 70°C hingga pelarut tidak mengalami penguapan lagi dan didapatkan ekstrak yang kental (Normayunita, 2015).

4.4.3 Pembuatan Salep Ekstrak Kulit Pisang Raja (*Musa paradisiaca var sapientum*)

Salep dibuat dengan bahan dasar hidrokarbon yakni vaselin album dan bahan dasar salep serap yakni adeps lanae. Dasar salep serap memiliki kelebihan yakni bersifat keras dan mudah melekat. Dasar salep hidrokarbon bersifat melembabkan permukaan kulit, susah dicuci sehingga benda asing akan sulit untuk masuk ke permukaan kulit yang luka, dan dapat bertahan lebih lama pada kulit (Paju, 2013). Menurut Naibaho (2013) basis salep hidrokarbon menunjukkan daya antimikroba yang lebih besar dibanding basis salep lainnya, yang ditandai dengan penyembuhan infeksi pada luka lebih cepat. Selain itu, basis salep hidrokarbon juga memiliki daya sebar yang lebih tinggi sehingga absorpsi bahan obat akan meningkat. Formula standar dasar salep menurut Pongsipulung (2012) yakni adeps lanae sebanyak 15 g dan vaselin album 85 g sehingga didapatkan konsentrasi 100 g. Salep ekstrak kulit pisang raja (*Musa paradisiaca var sapientum*) dibuat dengan memformulasikan ekstrak kulit pisang raja dengan basis salep vaselin album dan adeps lanae dengan konsentrasi dosis bertingkat 10%, 20%, dan 30%. Setiap salep dibuat dengan konsentrasi sebanyak 100 gram yang disimpan dalam pot salep dan diberi label.

4.4.5 Pembuatan Suspensi Bakteri MRSA

Kultur murni MRSA dalam media *Nutrien Agar (NA)* yang telah diremajakan selama 1 hari diinokulasikan 1 ose ke dalam 5 ml NB steril kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Suspensi bakteri tersebut diencerkan menggunakan larutan NaCl 0,9% steril hingga kekeruhannya setara dengan larutan standar 0,5 Mc. Farland I (kekeruhan bakteri 1×10^7 CFU/ml - 1×10^8 CFU/ml) (Nuria, 2010). Selanjutnya, konsentrasi suspensi bakteri dibuat hingga 10^5 CFU/ml.

4.4.6 Pembuatan Luka Model Insisi

Masing-masing tikus diberi label pada bagian ekornya menggunakan spidol permanent sesuai dengan kelompoknya. Kemudian tikus galur wistar jantan dianestesi menggunakan kombinasi ketamine HCl 1% (dosis 40 mg/kgBB) dan Xylazine 2% (dosis 5 mg/kgBB). Pembuatan luka insisi dilakukan dengan mencukur bulu tikus yang telah diberi air sabun dan dibersihkan daerah tersebut dengan menggunakan alkohol 70%. Setelah itu dilakukan insisi *longitudinal midline* pada daerah dorsal tikus sepanjang 3 cm sampai kedalaman *subkutan* (Sudrajat, 2006). Masing-masing lokasi diberikan bakteri MRSA (10^5 CFU/ml) sebanyak 0,2 ml (Marpaung, 2014).

4.4.7 Terapi Salep Ekstrak Kulit Pisang Raja (*Musa paradisiaca var sapientum*)

Pemberian terapi dilakukan dengan cara mengoleskan salep ekstrak kulit pisang raja (*Musa paradisiaca var sapientum*) pada area luka sebanyak 1 g dengan *cotton bud* steril 2 kali sehari selama 7 hari (Febram, 2010).

4.4.8 Eutanasi dan Isolasi Kulit

Pengambilan kulit yang dilakukan pada hewan coba tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan dilakukan pada hari ke-8. Pada awalnya dilakukan euthanasi pada tikus putih dengan cara dislokasi servicalis dengan cara mencit diposisikan rebah dorsal. Daerah punggung yang akan diambil kulitnya dibersihkan dari bulu yang mulai tumbuh kembali, kulit digunting dengan kulit digunting dengan ketebalan ± 3 mm sampai dengan subkutan dengan luas 4×2 cm². Kulit yang diperoleh kemudian difiksasi dengan larutan *Buffer Neutral Formalin* atau BNF 10% dibiarkan pada suhu kamar selama ± 48 jam (Febram, dkk., 2010). Bagian kulit lainnya yang akan digunakan sebagai sampel untuk pengukuran kadar relatif TGF- β dimasukkan dalam cawan petri dan segera dilakukan pengukuran kadar relatif TGF- β .

4.5 Perhitungan Jumlah Fibroblast

4.5.1 Pembuatan preparat histologi dan Pewarnaan HE

Jaringan kulit yang didapat selanjutnya di masukan dalam larutan formalin 10 % selanjutnya dilakukan fiksaksi dengan waktu 18-24 jam. Jaringan tersebut dehidrasi dalam larutan aseton 2x masing-masing selama 1 jam dan dilanjutkan clearing dalam larutan kloroform 2x masing-masing selama 1 jam. Kemudian jaringan diinfiltrasi dalam larutan kloroform parafin selama 1,5 jam dan parafin infiltrasi selama 1,5 jam. Jaringan ditanam dalam *parafin block* . Jaringan yang sudah padat dipotong setebal 5 mikron dengan mikrotom. Potongan jaringan ditempelkan pada kaca objek yang sebelumnya telah diolesi albumin-gliserin sebagai perekat. Jaringan pada kaca obyek diletakkan di atas *hot plate* hingga mengering (Balqis dkk., 2014). Gambaran histopatologi ketebalan epidermis kulit menggunakan *Hematoksilen-Eosin* (HE) .

Pengamatan fibroblast dengan alat opticlub dengan pembesaran lensa obyektif pembesaran 400 x dengan lima lapang pandang dengan mengamati jumlah fibroblast (Adriana, 2015).

4.5.2 Tahap Perhitungan Jumlah Fibroblas

Fibroblas diamati pada lapisan dermis menggunakan mikroskop perbesaran 400 x. sel fibroblast memiliki bentuk elips dan memiliki inti ungu. Perhitungan fibroblast dihitung lima lapang pandang berbeda dari masing-masing preparat dengan bantuan software *imageraster* dan selanjutnya diambil rata rata dalam nilainya (Kusumawardhani, 2013; Adriana, 2015).

4.6 Prosedur IHK dan perhitungan Ekspresi TGF- β

Metode pewarnaan imunohistokimia dimulai dengan perendaman *slide* preparat pada *xylol 1*, *xylol 2*, dan etanol bertingkat (100%, 90%, 80%, 70%). Slide preparat lalu dicuci menggunakan PBS sebanyak 3 kali selanjutnya ditetesi dengan 3% H₂O₂ selama 20 menit. Selanjutnya, dicuci kembali dengan PBS sebanyak 3 kali dan diblok dengan 1% *Bovine Serum Albumin* (BSA) selama 30 menit. *Slide* preparat dicuci kembali dengan PBS 3 kali dan diinkubasi dengan antibodi primer *anti rat TGF- β* selama semalam pada suhu 40°C, kemudian dicuci dengan PBS sebanyak 3 kali. Preparat lalu diinkubasi dengan antibodi sekunder berlabel rabbit anti rat igG berlabel biotin selama 1 jam dengan suhu ruang. Selanjutnya dicuci kembali dengan PBS sebanyak 3 kali.

Slide preparat diberi *Strep Avidin Horse Radish Peroxidase* (SA-HRP) selama 40 menit dan dicuci kembali dengan PBS sebanyak 3 kali. Ditetesi dengan kromagen

selama 10 menit dan dicuci kembali dengan PBS sebanyak 3 kali. *Counterstaining* menggunakan *Mayer Hematoxylen* selama 5 menit. Preparat dicuci dengan air mengalir kemudian dibilas dengan aquades dan dikeringkan. Preparat di *mounting* dengan entellan dan ditutup dengan cover glass.

Pengamatan ekspresi TGF- β dilakukan pada bagian sitoplasma sel makrofag pada lapisan dermis menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x dengan lima bidang pandang pengamatan (Junquiera dan Carneiro, 2007). Hasil pengamatan akan tampak warna kecoklatan pada sitoplasma sel makrofag kemudian di dokumentasikan dan dilakukan analisa data.

4.7 Analisis data

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini yaitu jumlah fibroblast yang dihitung dengan *software image raster* dan ekspresi TGF - β yang dianalisis secara kuantitatif menggunakan *software immunoratio*. Data yang diperoleh dianalisa secara statistika dengan menggunakan metode *one way* ANOVA dan uji lanjutan BNJ (Beda Nyata Jujur) dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 5\%$) (Firdaus dkk., 2013).

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Identifikasi MRSA

Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang menjadi kebal atau resisten terhadap antibiotik jenis *methicillin* (Mahummadah, 2013). Pada uji ini digunakan 5 jenis golongan antibiotik yaitu *tetracycline* (*tetracycline*), *aminoglikosida* (*gentamycin*), *cephalosporine* (*cefotaxime*), *penisilin* (*amoxicillin*) dan *sulfonamide* (*sulfamethoxazole*). Didapatkan hasil MRSA bersifat resistant terhadap antibiotik *tetracycline* dengan zona hambat 14 mm, MRSA bersifat resistant antibiotik *gentamycin* dengan zona hambat 0 mm, MRSA bersifat *intermediate* terhadap antibiotik *cefotaxime* dengan zona hambat 20 mm, MRSA bersifat resistant terhadap antibiotik *amoxicillin* dengan zona hambat 4 mm dan MRSA bersifat resistant terhadap antibiotik *sulfamethoxazole* dengan zona hambat 8 mm (**Lampiran 4**).

Menurut Afifurrahman (2014) uji resistensi terhadap *S. aureus* dapat menggunakan antibiotik golongan β -laktam, termasuk golongan *penicillinase-resistant penicillins* (*oxacillin*, *methicillin*, *nafcillin*, *cloxacillin*, *dicloxacillin*), *cephalosporin* dan *carbapenem*. Selain itu, resistensi silang juga terjadi pada antibiotik non- β -laktam seperti *erythromycin*, *clindamycin*, *gentamicin*, *cotrimoxazole*, dan *ciprofloxacin*.

5.2 Terapi Salep Ekstrak Kulit Pisang Raja (*Musa paradisiaca* var. *sapientum*) terhadap Gambaran Makroskopis Kulit Luka Insisi Tikus yang Diinfeksi Bakteri MRSA (*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*)

Gambaran makroskopis yang diamati meliputi adanya jaringan parut, pertumbuhan rambut, luka kering dan penutupan luka. Kelompok kontrol negatif tidak

diberikan perlakuan apapun dan merupakan tikus yang sehat. Kontrol negatif dilihat pada (**Gambar 5.1.**) terlihat normal dengan kondisi kulit tidak terluka. Kelompok kontrol positif merupakan tikus yang diinsisi dan diinfeksi bakteri MRSA 10^5 CFU/ml dan tidak diterapi dengan ekstrak kulit pisang raja memperlihatkan bahwa luka insisi masih dalam keadaan terbuka, tidak terjadi pertumbuhan rambut pada area sekitar luka. Pada kontrol positif terlihat gambaran inflamasi ditandai dengan calor, rubor, tumor (**Gambar 5.2**). Pada kelompok tikus terapi 10% merupakan kelompok tikus yang diinsisi diinfeksi bakteri MRSA 10^5 CFU/ml dan juga diterapi salep ekstrak kulit pisang raja dengan konsentrasi 10 %. Pada perlakuan terapi 10% terlihat bahwa luka sudah mengecil, sedikit terdapat inflamasi, serta mulai menunjukkan adanya penutupan yang disertai jaringan granulasi (**Gambar 5.3**). Jaringan ikat muda yang dihasilkan oleh fibroblas untuk mengisi jaringan yang mengalami kerusakan untuk penyembuhan luka disebut dengan jaringan granulasi. kelompok terapi 20% merupakan tikus yang diinsisi dan diinfeksi oleh bakteri MRSA 10^5 CFU/ml dan diterapi menggunakan ekstrak kulit pisang dengan konsentrasi 20 %. Pada perlakuan terapi 20% bewarna kemerahan menunjukkan inflamasi, luka masih terbuka, luas luka yang belum mengecil dan pertumbuhan rambut cukup lebat diarea sekitar luka (**Gambar 5.4**). Inflamasi pada gambaran makroskopis terapi 20% ditandai dengan bengkak dan kemerahan. Pada perlakuan terapi 30% merupakan kelompok tikus yang diinfeksi bakteri MRSA

10^5 CFU/ml selanjutnya diterapi dengan ekstrak kulit pisang sebanyak 30 %. Pada perlakuan terapi 30% luka sedikit penumbuhan rambut, luka terlihat terbuka dan kemerahan yang menandakan inflamasi (**Gambar 5.5**). Inflamasi pada gambaran makroskopis terapi 30% ditandai dengan bengkak dan kemerahan.



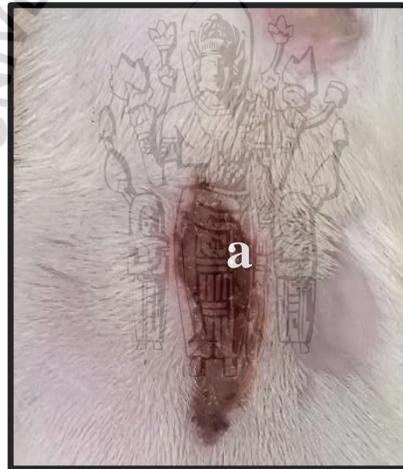
Gambar 5.1 K- Gambaran makroskopis pada hari ke-8 pada kelompok negatif. Pada perlakuan berupa insisi, infeksi bakteri MRSA dan terapi terlihat gambaran makroskopis yang normal.



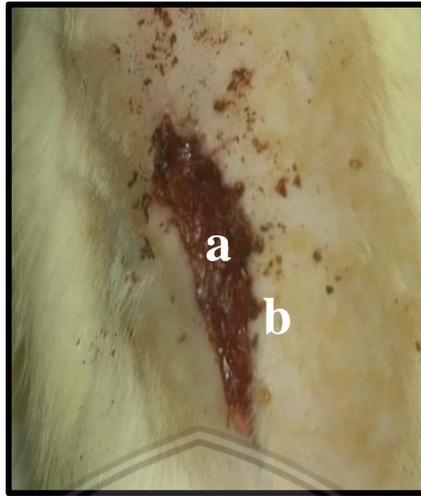
Gambar 5.2 K+ Gambaran makroskopis kesembuhan luka pada hari ke-8 pasca insisi kelompok kontrol positif. Luka belum menutup tidak terdapat pertumbuhan rambut dan terdapat inflamasi berupa (a) bewarna sangat kemerahan (b) bengkak



Gambar 5.3 T.1 Gambaran maskroskopis kesembuhan luka pada hari ke-8 pasca insisi kelompok terapi 10 %. (a) Luka sudah mengecil dan terdapat sedikit inflamasi



Gambar 5.4 T.2 Gambaran makroskopis kesembuhan luka pada hari ke-8 pasca insisi kelompok terapi 20 %. Luka belum menutup, terdapat pertumbuhan rambut yang lebat dan terdapat inflamasi berupa (a) kemerahan



Gambar 5.5 T.3 Gambaran Makroskopis kesembuhan luka pada hari ke-8 pasca insisi kelompok terapi 30 %. Luka masih lebar (b) Bewarna kemerahan pada area luka (a) bengkak

5.3 Terapi Salep Ekstrak Kulit Pisang Raja (*Musa paradisiaca var sapientum*) terhadap Ekspresi Transforming Growth Faktor- β pada Luka Insisi Kulit Tikus yang Diinfeksi Bakteri MRSA (*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*)

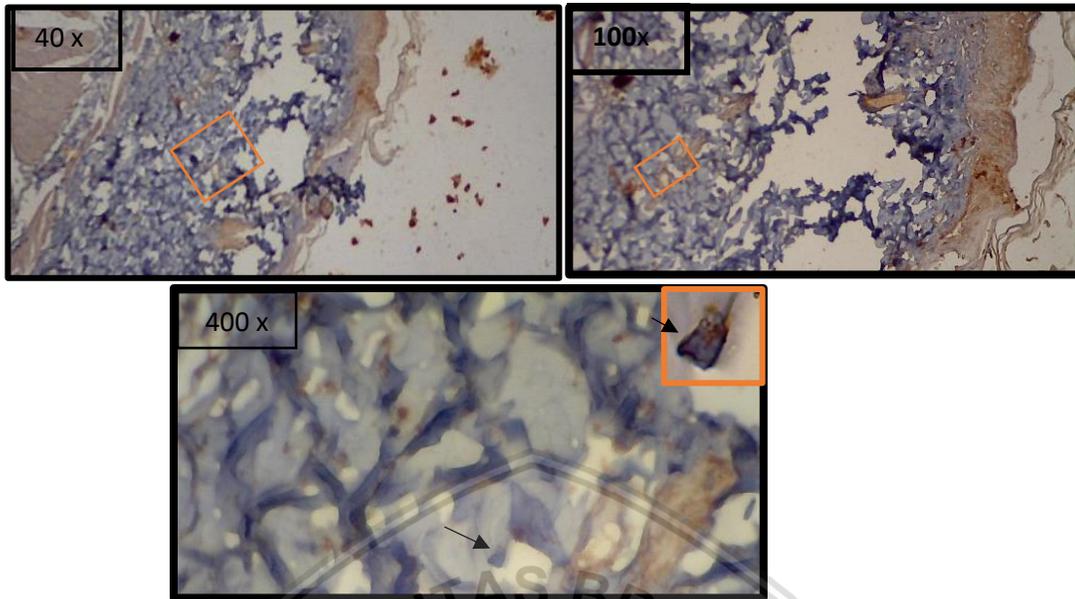
Transforming growth factor beta (TGF- β) adalah salah satu sitokin yang berperan dalam proses penyembuhan luka. Sitokin TGF- β aktif mensimulasi pembentukan sel-sel fibroblas yang berperan penting pada proses penyembuhan luka yakni fase proliferasi. *Transforming Growth Factor Beta* (TGF- β) merupakan sitokin multifungsional yang berperan penting dalam setiap fase penyembuhan. TGF- β dilepaskan oleh trombosit, neutrofil, limfosit, sel plasma, makrofag dan fibroblast (Kristianto, 2010).

Pada ekspresi TGF- β masing masing kelompok penelitian ditandai dengan terbentuknya kecoklatan pada makrofag dari lapisan dermis kulit pada (**Gambar 5.5-5.10**). Warna kecoklatan tersebut menggambarkan adanya ikatan antigen pada jaringan dengan antibodi TGF- β yang digunakan dalam penelitian ini. Warna coklat muncul

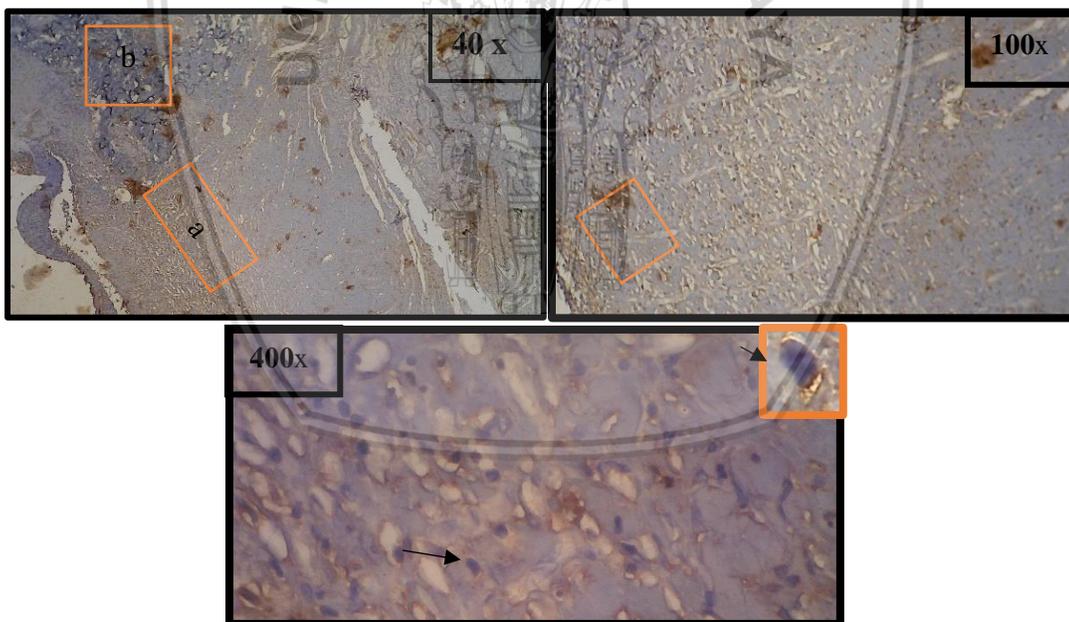
disebabkan ikatan antara antigen dan antibodi (antibodi primer dan antibodi sekunder) yang diberikan. Antibodi primer selanjutnya akan berikatan dengan antigen pada jaringan dan antibodi sekunder diikuti dengan penambahan enzim SA-HRP dan substratnya kromagen DAB (substrat dari proksidase) sehingga menghasilkan warna kecoklatan (Elias *et al*, 2000).

Ekspresi TGF- β pada kelompok kontrol negatif menunjukkan ekspresi yang lebih rendah dibandingkan dengan ekspresi TGF- β pada kelompok kontrol positif (**Gambar 5.5**). Kelompok kontrol negatif adalah kelompok tikus tanpa diinsisi dan tidak diinfeksi bakteri serta tidak dilakukan terapi, sedangkan kelompok kontrol positif adalah kelompok tikus yang diinsisi, diinfeksi bakteri MRSA (*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*) tanpa diberikan terapi dikarenakan adanya infeksi bakteri tanpa diberikan terapi apapun sehingga memperpanjang respon inflamasi (**Gambar 5.6**).

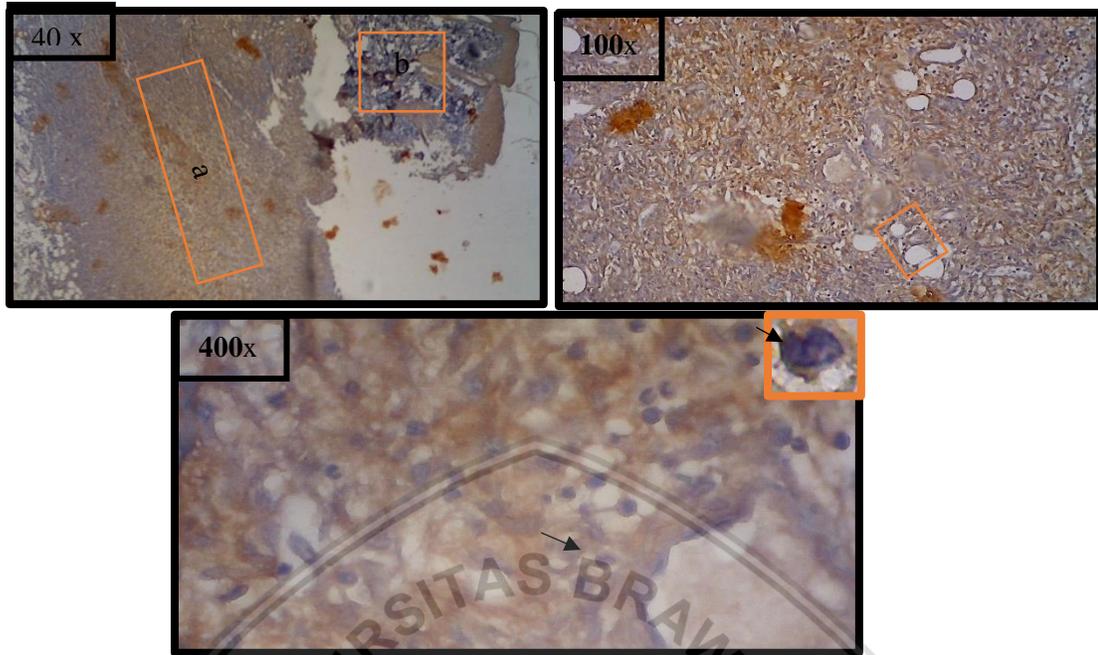
Kelompok terapi 10%, terapi 20%, dan terapi 30% (**Gambar 5.7-5.10**) merupakan kelompok tikus yang diberi perlakuan berupa luka insisi, infeksi bakteri MRSA (*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*) serta diberikan terapi salep ekstrak kulit pisang raja (*Musa paradisiaca var. sapientum*). Ekspresi TGF- β yang muncul pada semua kelompok terapi lebih banyak dibandingkan dengan kelompok tikus kontrol positif.



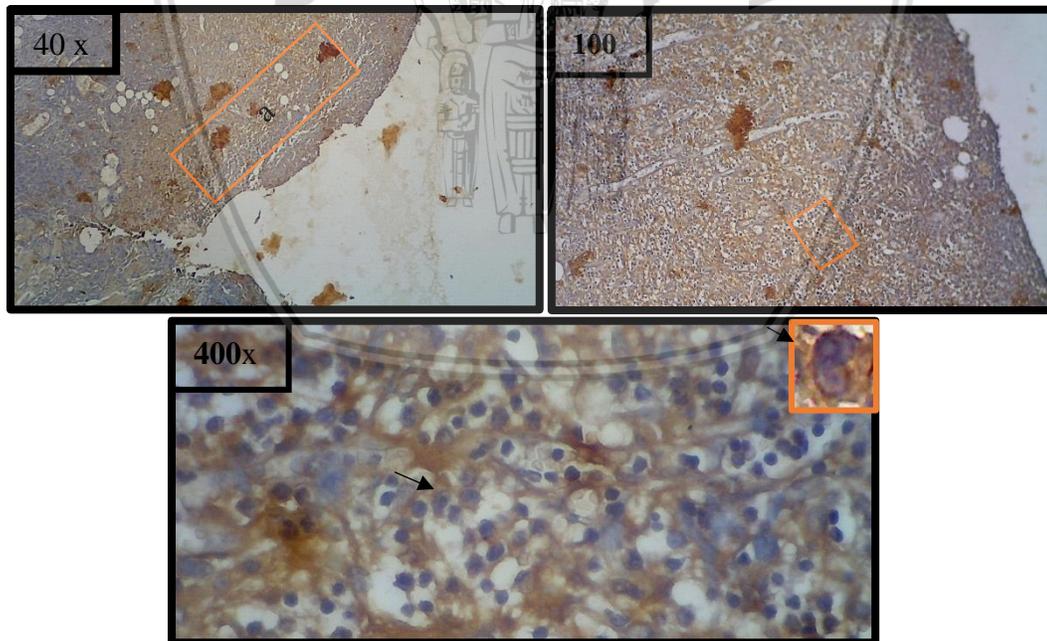
Gambar 5.6 (K-) Ekspresi TGF-β pada kelompok k- dengan pembesaran menggunakan metode imunohistokimia. Ekspresi TGF-β pada sel Makrofag cukup terlihat ditunjukkan dengan \blacktriangleright . \square menandakan perbesaran.



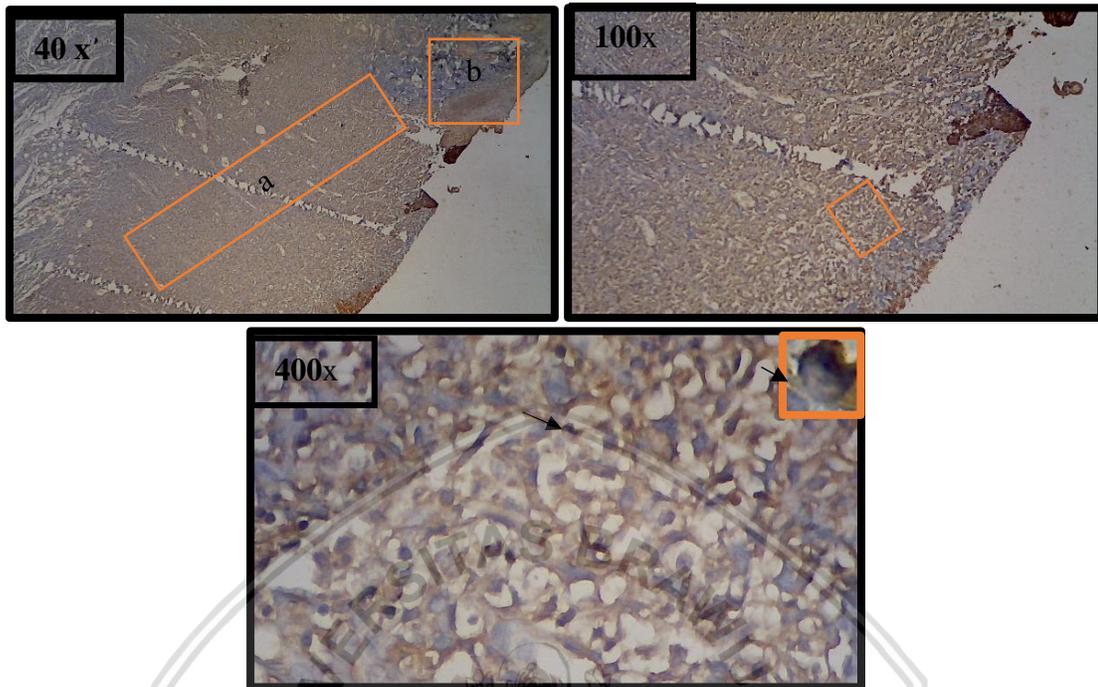
Gambar 5.7 (K+) Ekspresi TGF-β pada kelompok k+ menggunakan metode imunohistokimia. Ekspresi TGF-β terlihat pada sel makrofag ditunjukkan dengan \blacktriangleright . (a) daerah terinsisi. (b) daerah tidak terinsisi. \square Menandakan pembesaran mikroskop



Gambar 5.8 (T1) Ekspresi TGF- β pada kelompok T1 menggunakan metode imunohistokimia. Ekspresi TGF- β disel makrofag cukup terlihat ditunjukkan dengan \blacktriangleright . (a) daerah terinsisi. (b) daerah tidak terinsisi. \square Menandakan pembesaran mikroskop.



Gambar 5.9 (T2) Ekspresi TGF- β pada kelompok T2 menggunakan metode imunohistokimia. Ekspresi TGF- β disel makrofag cukup terlihat ditunjukkan dengan \blacktriangleright . (a) daerah terinsisi. (b) daerah tidak terinsisi. \square Menandakan pembesaran mikroskop



Gambar 5.10 (T3) Ekspresi TGF- β pada kelompok k- dengan pembesaran menggunakan metode imunohistokimia. Ekspresi TGF- β cukup terlihat disel makrofag ditunjukkan dengan \blacktriangleright . (a) daerah terinsisi. (b) daerah tidak terinsisi. Menandakan pembesaran mikroskop

Hasil uji Tukey memperlihatkan perbedaan notasi yang ditunjukkan pada **Tabel 5.1** dan didapatkan hasil data ekspresi TGF- β perlakuan kelompok kontrol positif berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok kontrol negatif, terapi 10% dan 20% sedangkan kelompok kontrol positif tidak berbeda nyata dengan terapi 30%. Kelompok kontrol positif memiliki ekspresi rendah dibandingkan dengan terapi 10% memiliki rata rata ekspresi tertinggi.

Tabel 5.1 Rata- Rata \pm SD dan Hasil Tukey Rata- Rata Ekspresi TGF β

No	Perlakuan	Rata-rata \pm SD (%)	Peningkatan terhadap kontrol negatif (%)	Peningkatan terhadap kontrol positif (%)
1	Kontrol Negatif	30.95 \pm 1.94165 ^a	-	-
2	Kontrol Positif	44.17 \pm 8.59932 ^b	29,92	-
3	Terapi 10 %	62.42 \pm 6.02017 ^c	-	29,23
4	Terapi 20 %	52,24 \pm 4.84091 ^{bc}	-	15,44
5	Terapi 30 %	46,53 \pm 6.23094 ^b	-	5,07

Keterangan : perbedaan notasi a,b,c menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan dengan nilai $p < 0,05$

Berdasarkan **Tabel 5.1** diketahui rata rata ekspresi TGF- β pada tikus kontrol negatif ialah 44,17. Ekspresi kontrol negatif TGF- β membuktikan bahwa diekspresikan dalam kulit normal dalam kondisi tidak terinsisi. Menurut Guanqun *et al.*, (2005), TGF- β berperan penting dalam menjaga hemostatis jaringan dengan meregulasi pertumbuhan dan difrensiasi sel serta deposisi ECM. Pada kondisi fisiologis terjadi apoptosis atau kematian sel terprogram, dengan demikian diperlukan peranan faktor pertumbuhan seperti TGF- β untuk meregenerasi sel-sel yang telah mati tersebut.

TGF- β berfungsi sebagai antiinflamasi yang merupakan sinyal untuk mengentikan respons imun dan respons inflamasi. TGF- β merangsang sintesis protein matriks ekstraseluler seperti kolagen, metalloproteinase dan integrin dan meningkatkan angiogenesis (Kresno, 2010). Munculnya respon proinflamatori berlebihan dapat menyebabkan kerusakan jaringan. Dalam mengimbangi pengeluaran sitokin proinflamasi yang berlebihan tubuh mengaktifkan sitokin lain yaitu TGF- β . Peran TGF-

β yaitu memunculkan perbaikan jaringan dengan proses menghambat sitokin proinflamasi yang disekresi oleh makrofag. Peningkatan kadar TGF- β menandakan sitokin proinflamasi telah menurun sehingga peradangan segera berakhir (Hanifarizani, 2018).

Berdasarkan tabel diatas, diketahui bahwa terjadi peningkatan rata rata ekspresi TGF- β pada kelompok kontrol positif dengan rata-rata 44.17 dibandingkan dengan kontrol negatif dengan rata-rata 30.95. Peningkatan pada kontrol positif dapat disebabkan karena luka masih berada pada fase inflamasi. Menurut Kharesh *et al.*, (2001) adanya inflamasi atau peradangan menyebabkan peningkatan sekresi sitokin proinflamasi dan pengeluaran sitokin TGF- β .

Berdasarkan (**Gambar 5.11-5.15**) dari ketiga kelompok perlakuan ketiga kelompok perlakuan pada terapi 10% dengan rata-rata 62,42, Terapi 20% dengan rata-rata 52,24 , maupun terapi 3 dengan rata-rata 46,53 mengalami peningkatan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dengan rata-rata 44,17. Peningkatan persentasi tersebut membuktikan bahwa pemberian ekstrak kulit pisang dinilai efektif dalam meningkatkan ekspresi TGF- β sehingga dapat mengoptimalkan fase proliferasi dan dapat mempercepat penyembuhan luka. Menurut (Dinastutie, 2015), ekstrak kulit pisang mengandung antiinflamasi. Efek antiinflamasi dari flavanoid terjadinya pembatasan sel radang yang bermigrasi ke jaringan perlukaan sehingga reaksi inflamasi berlangsung lebih singkat (Hajiaghaalipour *et al*, 2013). Ekstrak kulit pisang memiliki efek sebagai antiinflamasi didalam flavonoid dan antibakteri dalam tanin sehingga dapat mempercepat proses inflamasi dengan menurunkan mediator inflamasi dan proses penyembuhan luka dapat segera memasuki fase proliferasi

Pada kelompok terapi 10% memiliki rata rata ekspresi TGF- β sebesar 62,42, rata-rata tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal tersebut disebabkan karna pada hari ke-8 kelompok tikus terapi 10 % telah memasuki fase proliferasi, dimana pada fase tersebut TGF- β berperan menstimulus pembentukan jaringan baru melalui proliferasi fibroblas dan pembentukan kolagen, serta menstimulus difrensiasi fibroblas menjadi miofibroblas yang bertanggungjawab dalam kontraksi luka (Klass *et al.*, 2010). Peningkatan signifikan dari ekspresi TGF- β kelompok terapi 10% pada hari ke-8 terbukti mampu mempercepat proses penyembuhan luka. Hal ini didukung dengan pengamatan secara makroskopis yang menunjukkan bahwa komponen luka dengan luka sudah hampir tertutup dan mengering.

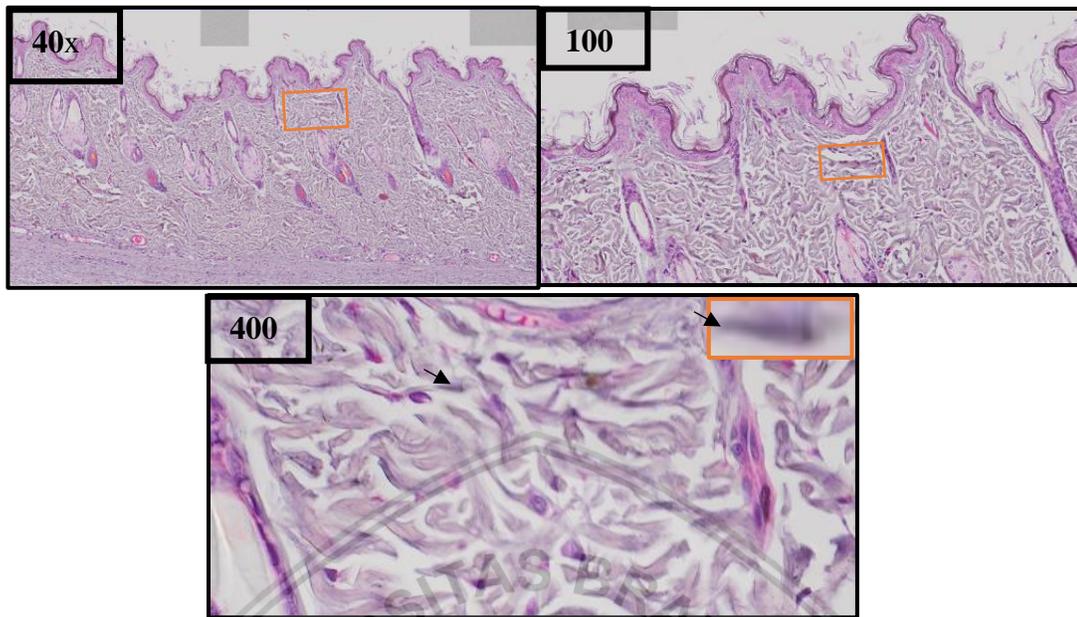
Kelompok terapi 20% memiliki rata rata ekspresi TGF- β sebesar 52,24% rata-rata ekspresi TGF- β tersebut lebih rendah dibandingkan dengan kelompok terapi 10%. Kelompok terapi 30 % memiliki rata rata ekspresi TGF- β paling rendah diantara semua kelompok terapi yakni sebesar 46,53%. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun terapi 20% dan 30 % mampu meningkatkan ekspresi TGF- β dibanding kelompok kontrol positif namun pembentukan ekspresi TGF- β lebih optimal pada terapi 10 %. Hal ini didukung pada kondisi makroskopis terapi 20 % dan terapi 30% menunjukkan luka masih terbuka dan menunjukkan tanda inflamasi.

5.4. Terapi Salep Ekstrak Kulit Pisang Raja (*Musa paradisiaca var. sapientum*) terhadap Jumlah Fibroblast pada Luka Insisi Kulit Tikus yang diinfeksi Bakteri MRSA (*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*)

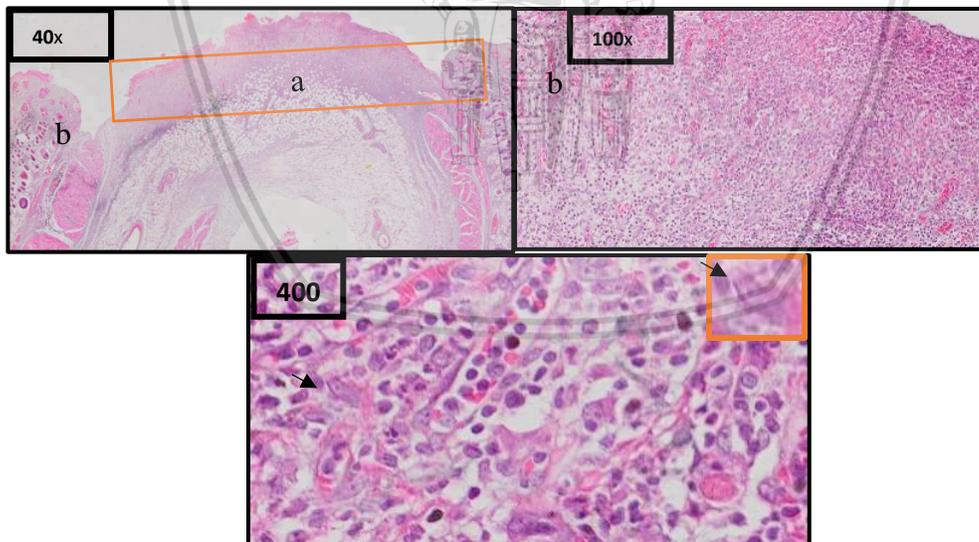
Fibroblast merupakan sel mesenkim yang merupakan jaringan ikat yang berkembang dari jaringan embryonal. Fibroblast umumnya tersebar disepanjang serat kolagen. Inti fibroblast berbentuk elips dan Panjang. Fibroblast mulai meningkat sekitar 3-4 hari setelah mengalami luka. Sumber fibroblas yaitu sel mesenkim yang tidak berdiferensiasi dekat dengan luka (Williams dan Moores, 2009).

Perlakuan pada kontrol negatif adalah kelompok tikus tanpa diinsisi dan tidak diinfeksi bakteri serta tidak dilakukan terapi, sedangkan kelompok kontrol positif adalah kelompok tikus yang diinsisi, diinfeksi bakteri tanpa diberikan terapi. Kelompok kontrol negatif menunjukkan adanya jumlah fibroblast yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (**Gambar 5.11**). Banyaknya jumlah fibroblas dengan bentuk ukuran cukup besar, inti berbentuk elips yang terwarnai ungu memiliki sitoplasma yang terwarnai merah dan kedua ujung fibroblas berbentuk lancip (Williams dan Moores, 2009).

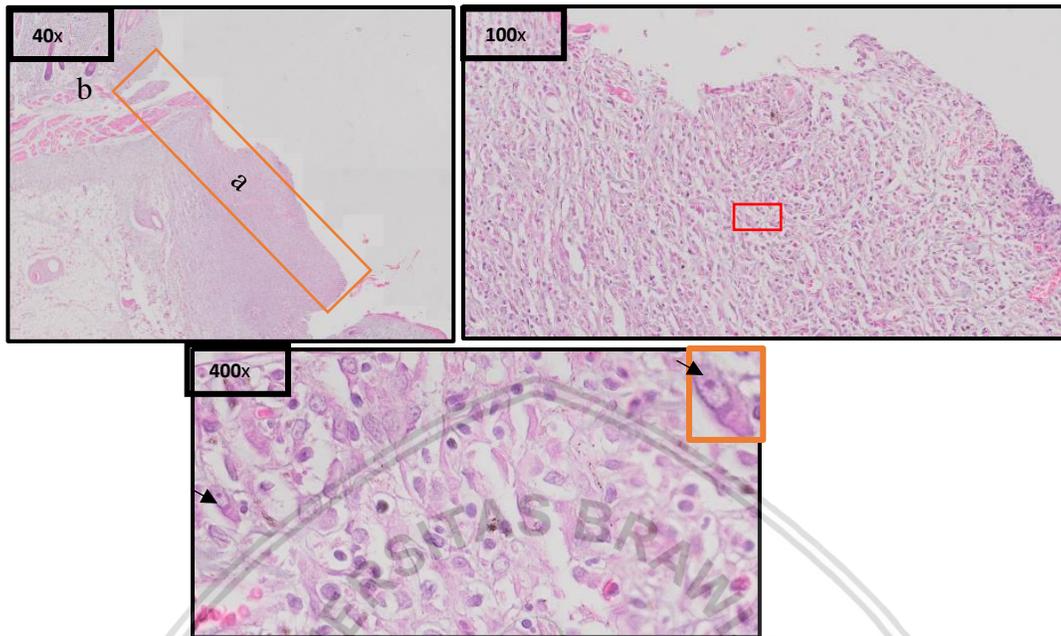
Kelompok terapi 10% (**Gambar 5.13**), terapi 20% (**Gambar 5.14**), dan terapi 30% (**Gambar 5.15**) merupakan kelompok tikus yang diberi perlakuan berupa luka insisi, infeksi bakteri MRSA (*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*) serta diberikan terapi salep ekstrak kulit pisang raja (*Musa paradisiaca var. sapientum*). Jumlah fibroblast pada terapi 10%, terapi 20% dan terapi 30% lebih banyak dibandingkan dengan kelompok tikus kontrol positif.



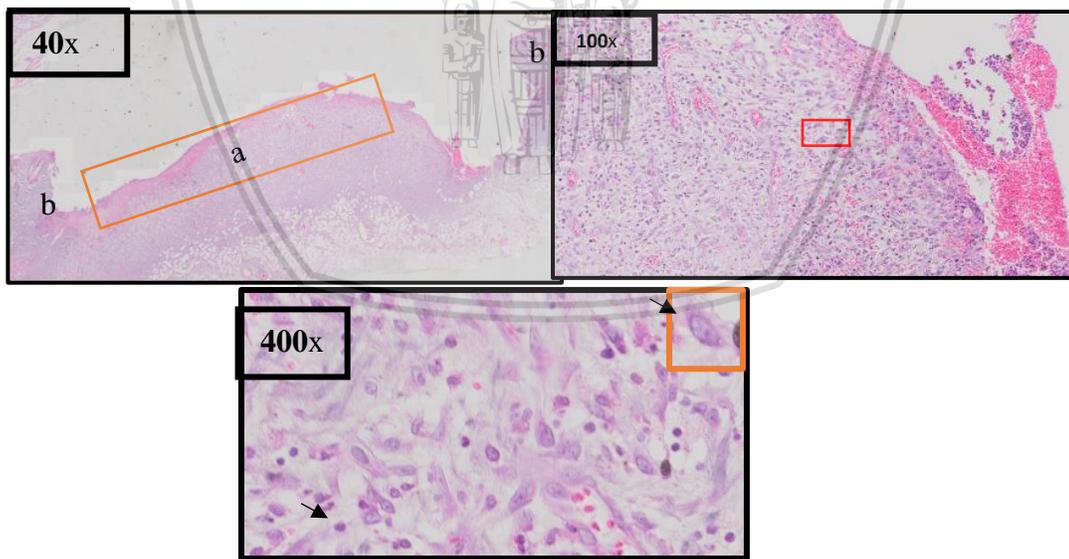
Gambar 5.11 (K-) Gambaran histopatologi Jumlah Fibroblast pada kelompok kontrol negatif dengan perbesaran menggunakan pewarnaan *Hematoxylin eosin*. Gambaran fibroblast (K-) yaitu berbentuk elips dengan ujung lancip dan terwarnai ungu secara jelas ditandai dengan ▲ . (a) daerah terinsisi. (b) daerah tidak terinsisi. □ Menandakan pembesaran mikroskop



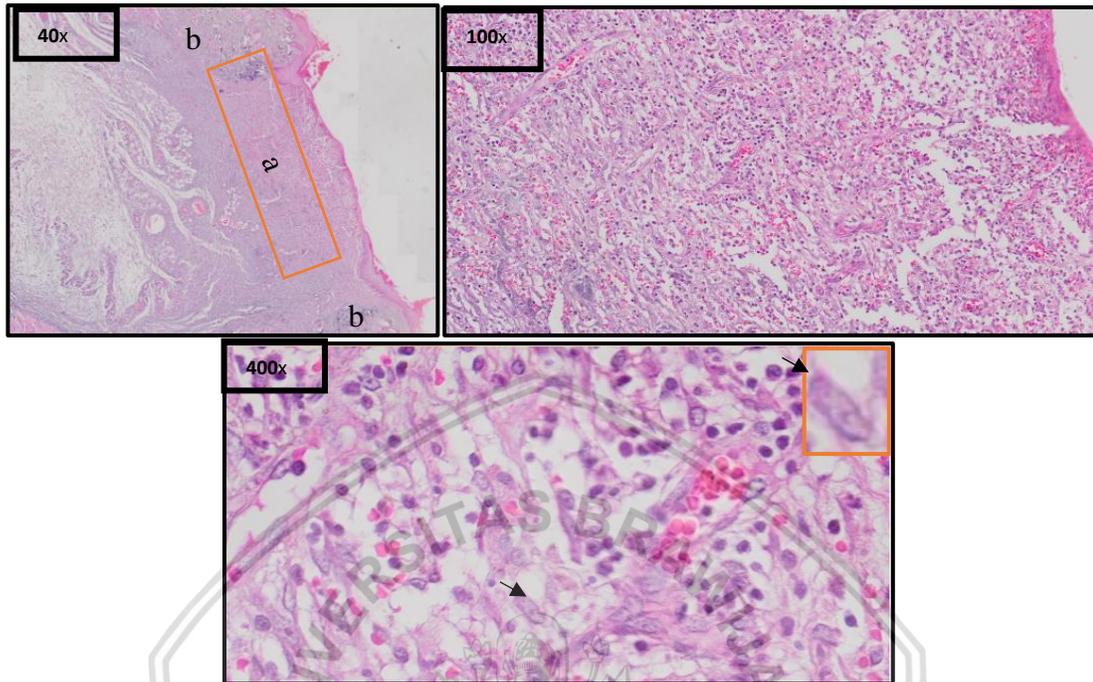
Gambar 5.12 (K+) Gambaran histopatologi Jumlah Fibroblast pada kelompok kontrol Positif menggunakan pewarnaan *Hematoxylin eosin*. Gambaran fibroblast (K+) yaitu berbentuk elips dengan ujung lancip dan terwarnai ungu secara jelas ditandai dengan ▲ . (a) daerah terinsisi. (b) daerah tidak terinsisi. □ Menandakan pembesaran mikroskop



Gambar 5.13 (T1) Gambaran histopatologi jumlah fibroblast menggunakan pewarnaan *Hematoxylin eosin*. Gambaran fibroblast (T1) yaitu berbentuk elips dengan ujung lancip dan terwarnai ungu secara jelas ditandai dengan \blacktriangleright (a) daerah terinsisi. (b) daerah tidak terinsisi. Menandakan pembesaran mikroskop.



Gambar 5.14 (T2) Gambaran histopatologi Jumlah Fibroblast pada kelompok (T) menggunakan pewarnaan *Hematoxylin eosin*. Gambaran fibroblast (T2) yaitu berbentuk elips dengan ujung lancip dan terwarnai ungu secara jelas ditandai dengan \blacktriangleright . (a) daerah terinsisi. (b) daerah tidak terinsisi. Menandakan pembesaran mikroskop



Gambar 5.15 (T3) Gambaran histopatologi Jumlah Fibroblast pada kelompok T3 dengan menggunakan pewarnaan *Hematoxylin eosin*. Gambaran fibroblast (T3) yaitu berbentuk elips dengan ujung lancip dan terwarnai ungu secara jelas ditandai dengan \blacktriangleright . (a) daerah terinsisi. (b) daerah tidak terinsisi. Menandakan pembesaran mikroskop

Hasil uji tukey memperlihatkan bahwa adanya perbedaan notasi yang ditunjukkan pada **Tabel 5.2** dan didapatkan bahwa hasil data jumlah fibroblas perlakuan kelompok kontrol negatif berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok kontrol positif dan kelompok terapi 10%, 20% dan 30%. Kelompok kontrol negatif memiliki jumlah fibroblas paling sedikit sedangkan terapi 10% memiliki rata rata jumlah fibroblas paling banyak.

Tabel 5.2 Rata- Rata \pm SD dan Hasil Tukey Jumlah Fibroblast

No	Perlakuan	Rata-rata \pm SD	Peningkatan terhadap kontrol negatif (%)	Peningkatan terhadap kontrol positif (%)
1	Kontrol Negatif	16.45 \pm 2.73435 ^a	-	-
2	Kontrol Positif	39.90 \pm 1.18322 ^b	58.77	-
3	Terapi 10 %	50.20 \pm 3.55903 ^c	-	20,51
4	Terapi 20 %	45.60 \pm 3.76652 ^{bc}	-	12,5
5	Terapi 30 %	42.65 \pm 4.83149 ^b	-	6.44

Keterangan : perbedaan notasi a,b,c menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan dengan nilai $p < 0,05$

Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa rata-rata jumlah fibroblast pada kelompok kontrol negatif dengan nilai sebesar 16.45 lebih rendah dibandingkan rata-rata kontrol positif dengan nilai 39.90. Pada hari yang sama yakni pengamatan hari ke-8, rata-rata jumlah sel fibroblast pada kelompok kontrol positif lebih rendah jika dibandingkan kelompok perlakuan terapi 10%, terapi 20% dan terapi 30%.

Berdasarkan tabel diatas, diketahui bahwa rata-rata jumlah fibroblast jumlah sel fibroblas pada tikus kontrol positif ialah 39.90. Menurut (Fowcett, 2002) pada keadaan normal, aktivitas pembelahan fibroblast sangat jarang terlihat, namun ketika terjadi perlukaan sel ini terlihat lebih aktif dalam memproduksi matriks ekstraseluler (ECM). ECM merupakan jaringan ikat yang berfungsi mempertahankan bentuk berbagai organ tubuh termasuk kulit, serta memfasilitasi pertukaran bentuk berfungsi sebagai organ tubuh termasuk kulit, serta memfasilitasi pertukaran nutrisi dan sisa metabolisme antara sel dan pembuluh darah.

Tabel 5.2 menunjukkan bahwa terdapat peningkatan rata-rata jumlah fibroblast pada kelompok kontrol positif bila dibandingkan kontrol negatif . Peningkatan rata-

rata jumlah sel fibroblast tersebut dipicu akibat luka insisi yang dialami oleh tikus kontrol positif sebaliknya kontrol negatif tidak dilukai atau dalam keadaan sehat. Terbentuknya luka tersebut akan memicu terjadinya kerusakan jaringan perifer sehingga tubuh tikus akan merespon kerusakan tersebut melalui serangkaian proses perbaikan agar jaringan kembali normal. Menurut Tanggo (2003), pada fase proliferasi terbentuk jaringan granulasi yang disusun oleh kumpulan berbagai sel terutama sel fibroblas. Makrofag aktif menghasilkan beberapa faktor pertumbuhan termasuk TGF- β yang turut mendukung terjadinya proliferasi fibroblast. Peningkatan fibroblast dimulai dari hari ke-4 dan puncaknya dimulai pada hari ke-7 (Ardiana, 2015).

Pada pengamatan hari ke-8 menunjukkan rata-rata jumlah sel fibroblast pada kelompok perlakuan terapi 10%, terapi 20% maupun terapi 30% yang diterapi dengan ekstrak kulit pisang mengalami peningkatan bila dibandingkan dengan kontrol positif. Peningkatan tersebut membuktikan bahwa pemberian ekstrak kulit pisang dinilai lebih efektif dengan meningkatkan jumlah sel fibroblast sehingga dapat mengoptimalkan fase proliferasi dan berpotensi untuk menyembuhkan luka. Efektifitas ekstrak kulit pisang disebabkan karena adanya kontaminasi kandungan antiinflamasi. Antiinflamasi akan membuat reaksi inflamasi akan berlangsung lebih singkat. Proses ini mengakibatkan fase proliferasi dapat segera terjadi. Aktivitas saponin dalam meningkatkan jumlah fibroblas didukung oleh penelitian Sumartiningsih (2009), yang menyimpulkan bahwa terjadinya peningkatan jumlah fibroblas disebabkan oleh senyawa saponin.

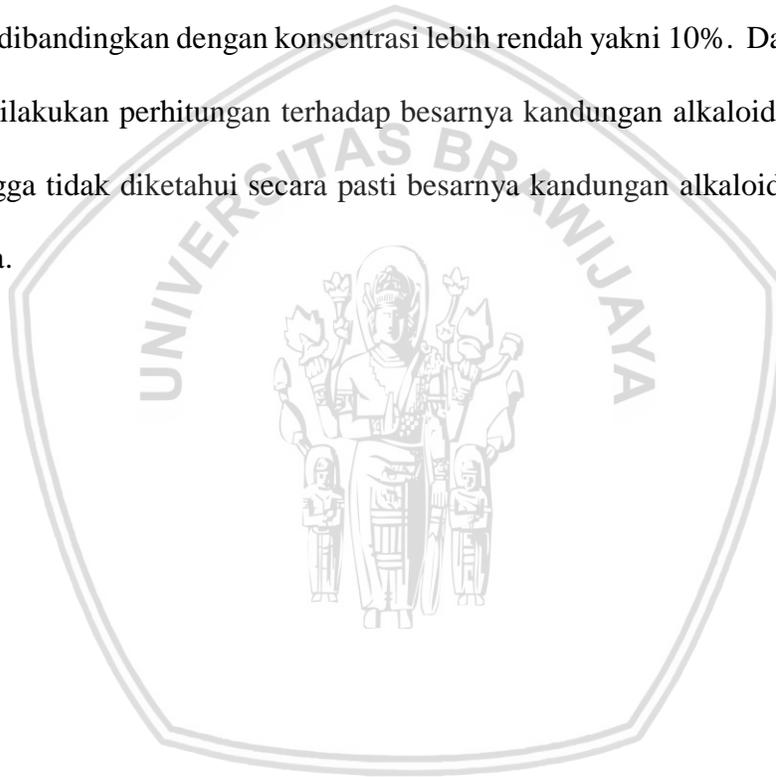
Pengamatan hari ke-8 menunjukkan bahwa kelompok terapi 10% diketahui memiliki rata-rata jumlah sel fibroblas yang lebih tinggi yaitu 50.20 dibandingkan

kelompok positif sebesar 39.90. Hari ke-8 menunjukan bahwa luka memasuki fase proliferasi, pada fase ini sel fibroblas aktif memproduksi kolagen. Kolagen merupakan substansi protein yang terlibat dalam rekonstruksi jaringan kulit dan berperan dalam menambah tegangan dan kekuatan permukaan luka sehingga kecil kemungkinan luka kembali terbuka (Febram dkk, 2010). Peningkatan signifikan jumlah fibroblasts yang dialami kelompok terapi 10% pada hari ke- 8 memiliki dampak positif terhadap kondisi luka sehingga mempercepat kesembuhan luka tersebut.

Kelompok terapi 20% dengan rata-rata jumlah fibroblas sebesar 46.60 diketahui memiliki rata rata jumlah sel fibroblas yang lebih rendah dibandingkan kelompok terapi 10 %. Kelompok terapi 30% memiliki jumlah rata rata fibroblas yaitu sebesar 42,65 yang diketahui memiliki rata rata jumlah sel fibroblas yang lebih rendah dibandingkan kelompok terapi 20%. Pemilihan dosis 10%, 20% dan 30% dengan menggunakan acuan pada penelitian Pongsipulung dkk (2012) dimana konsentrasi dosis 20 % memberikan efek penyembuhan luka pada tikus putih galur wistar dengan menggunakan bonggol pisang. Pada kulit pisang raja terdapat satu jenis zat aktif namun tidak terdapat pada ekstrak bonggol pisang yakni senyawa alkaloid (Ehiowemwenguan, 2014).

Penelitian yang dilakukan oleh Fetse JP, *et al* menggunakan ekstrak alkaloid murni pada tanaman *Alstonia boonei* (Apocynacea) dengan penggunaan konsentrasi tertinggi yakni 10 % dapat membuat iritasi pada penanganan luka terbuka. Ekstrak alkaloid tersebut juga membuat toksik sehingga menghambat penyembuhan luka tersebut.

Pada alkaloid dengan dosis yang lebih tinggi dapat menyebabkan efek sitotoksik sehingga motilitas dan proliferasi fibroblas akan menurun akibatnya kesembuhan luka menjadi terhambat. Penelitian tersebut dilakukan oleh Kulasekaran, *et al.* (2004) menggunakan ekstrak alkohol Amaranthaceae yang mengandung alkaloid. Pada penelitian ini terdapat alkaloid di ekstrak kulit pisang raja menyebabkan penggunaan konsentrasi lebih tinggi 20% dan 30% tidak menunjukkan kesembuhan luka lebih baik dibandingkan dengan konsentrasi lebih rendah yakni 10%. Dalam penelitian ini tidak dilakukan perhitungan terhadap besarnya kandungan alkaloid dikulit pisang raja sehingga tidak diketahui secara pasti besarnya kandungan alkaloid didalam kulit pisang raja.



BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah disampaikan dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Pemberian salep ekstrak kulit pisang raja (*Musa paradisiaca var sapientum*) mampu meningkatkan ekspresi TGF- β pada jaringan kulit hewan model luka insisi yang diinfeksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Konsentrasi terapi 10 % salep ekstrak kulit pisang raja (*Musa paradisiaca var sapientum*) merupakan konsentrasi salep yang efektif dalam meningkatkan rata-rata ekspresi TGF- β .
2. Pemberian salep ekstrak kulit pisang (*Musa paradisiaca var sapientum*) mampu meningkatkan jumlah fibroblast pada hewan model luka insisi yang diinfeksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Konsentrasi terapi 10 % salep ekstrak kulit pisang raja (*Musa paradisiaca var sapientum*) merupakan konsentrasi salep yang efektif dalam meningkatkan jumlah fibroblast

6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang dosis yang lebih terbaik dari terapi ekstrak kulit pisang raja untuk menyembuhkan luka insisi.

BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah disampaikan dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Pemberian salep ekstrak kulit pisang raja (*Musa paradisiaca var sapientum*) mampu meningkatkan ekspresi TGF- β pada jaringan kulit hewan model luka insisi yang diinfeksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Konsentrasi terapi 10 % salep ekstrak kulit pisang raja (*Musa paradisiaca var sapientum*) merupakan konsentrasi salep yang efektif dalam meningkatkan rata-rata ekspresi TGF- β .
2. Pemberian salep ekstrak kulit pisang (*Musa paradisiaca var sapientum*) mampu meningkatkan jumlah fibroblast pada hewan model luka insisi yang diinfeksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Konsentrasi terapi 10 % salep ekstrak kulit pisang raja (*Musa paradisiaca var sapientum*) merupakan konsentrasi salep yang efektif dalam meningkatkan jumlah fibroblast

6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang dosis yang lebih terbaik dari terapi ekstrak kulit pisang raja untuk menyembuhkan luka insisi.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifurrahman., Samadin., dan S. Azis. 2014. Pola Kepekaan Bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap Antibiotik Vancomycin di RSUP Dr. Mohamma Hoesin Palembang. Universitas Sriwijaya: Palembang; *Jurnal MKS*, (46) 4.
- Abdurrahmat., A.S. 2014. Luka, Peradangan dan Pemulihan. *Jurnal Entropi* (9) 1 .
- Abbas, A. K., and A. H. Lichtman 2016. *Imunologi Dasar Abbas Fungsi dan Kelainan Sistem Imun*, 6th Ed. Philadelphia: saunders elsavier.
- Akbar B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta: Adabia Press.
- Anief, M. 2007. *Farmasetika*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Ardiana,T., A. R. P. Kusuma., M. D. Firadusy. 2015. Efektivitas Pemberian Gel Binahong 5% Terhadap Jumlah Sel Fibroblas Pada Soket Pasca Pencabutan Gigi Marmut (*Cavia Cobaya*). *Jurnal* (2) 1.
- Asriani. 2006. Kajian Efek Sinergi Antimikroba Metabolit Bakteri Asam Laktat dan Monoasilgliserol minyak Kelapa Terhadap Bakteri Patogen [Thesis]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Bellanti, J.A. 1993. *Imunologi III*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2015. SNI 2332.9: *Cara Uji Mikrobiologi – Bagian 9. Penentuan Staphylococcus aureus Pada Produk Perikanan*. Jakarta (ID): Badan Standar nasional.
- Cahyono, Bambang. 2009. *Pisang Usaha Tani dan Penanganan Pasca Panen*. Yogyakarta: Kanisius.
- Cushnie T, Lamb AJ. 2005. Antimicrobial Activity of Flafonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26:343-56.
- Darmadi. 2008. *Infeksi Nosokomial*. Jember Salemba Medika.
- Dinastutie, R., S Poeranto ., dan D. Hidayati. 2015. Uji Efektifitas Antifungal Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata x balbisiana*) Mentah Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Secara In Vitro. *Majalah Kesehatan FKUB 2* (3).

- Elias, J.M., M. Margiotta., and D. Gabore. 2009. Sensitivity and Detection Efficiency of the Peroxidase Antiperoxidase (PAP), Avidin-Biotin Peroxidase Complex (ABC), and Peroxidase-Labeled Avidin-Biotin (LAB) Methods. *American Journal of Clinical Pathology*, 92(1) : 62-67.
- Febram, B., I. Wientarsih dan B. Pontjo. 2010, Activity Of Ambon Banana (*Musa Paradisiaca* Var. *Sapientum*) Stem Extract In Ointment Formulation On The Wound Healing Process Of Mice Skin (*Mus Musculus Albinus*). *Majalah Obat Tradisional* 15(3):121-137.
- Fetse, J., James, O., Evans, D., and Kwasi, B. 2014. Wound Healing Activity of Total Alkaloidal Extract of the Root Bark of *Alstonia boonei* (Apocynacea). *British Journal of Pharmaceutical Research*, 4(23): 2642-2652
- Janvier Labs. 2013. Research Model: Sprague Dawley Rat [Online]. <http://www.janvier-labs.com/rodent-research-models-services/research-models/per-species/outbred-rats/product/sprague-dawley.html> [Diakses: 26 Maret 2018].
- Hajiaghaalipour, F., M.S. Kanthimathi, M.A. Abdulla, and J. Sanusi. 2013. *The Effect of Camellia sinensis on Wound Healing Potential in an Animal Model*. Research Article Hindawi Publishing Corporation.UK.
- Hanifarizani, R. D., S. Santoso dan I.W.A Indrawan., Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Turi Merah terhadap Jumlah Koloni Bakteri di Hepar dan Kadar TGF-Mencit Nifas yang Diinokulasi *Staphylococcus aureus*. Universitas Brwijaya: Malang: *Jurnal* (2)1.
- Kalangi, Sonny J. R. 2013. Histologi Kulit. *Jurnal Biomedik (JBM)* 5 (3): S12-20.
- Khaheshi, I., Keshavarz, A.A.I. Fooladi, M. Ebrahimi, S. Yazdani, Y. Panahi,, M, Shohrati, and M.R. N. 2011. *Loss of Expression of TGF-Bs and their Receptors in Chronic Skin Lesions Induced by Sulfur Mustard as Compared with Chronic Contact Dermatitis Patients*. *BMC Dermatology*.
- Klass, B.R., Brandford.,O.A., Girobbelaar.A.O., and Roflfe,K.J. The Effect of Epigallocatechin-2-gallate, a Constituent of Green Tea, on Transforming Growth Factor-B1-stimulated wound Contraction. *Wound Rep Reg*.18:80.
- Kumbhar, M., S. Kandhr.,R.Rind., R. Kaler., Shafi., Chandio.,Farooq,T., Rehman,A.,Junejo,A., Qureshi dan Kumar,M.2018. Prevalence and Incidence of *Staphylococcus aureus* from Wound of Different Animal Species. *Journal of Basic & Applied Sciences* 12-16.

- Kurnia,P.A.,H. Ardhiyanto., dan Suhartini. 2015. Potensi Ekstrak The Hijau (*Camellia sinensis*) T(1): 122-126.
- Kementrian Pertanian. 2014. *Outlook Komoditi Pisang 2014*. Kementan: Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian.
- Krinke GJ. 2000. *The Handbook of Experimental Animals: The Laboratory Rat*. London: Academic Press.
- Kusumawardhani, A.D. 2013. Pengaruh sediaan Salep Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle Linn*) Terhadap Jumlah Fibroblast Luka Bakar Derajat Ila pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Galur Wistar . *Jurnal* (2)1.
- Kondo, T. and Y. Ishida. 2010. *Molecular Pathology of wound healing*. Elsevier Publishing. Ireland.
- Kristianto, H. 2010. Perbandingan Perawatan Luka Teknik Modern dan Konvensional Terhadap *Transforming Growth Factor β I* (TGF β I) dan Respon Nyeri Pada Luka Diabetes Melitus. [Thesis]. Universitas Indonesia.
- Kresno, S.B. 2010. *Imunologi Diagnosis dan Prosedur Laboratoriun*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia:Jakarta.
- Lawrence, W.T. 2002. *Wound Healing Biology and Its Application to Wound Management*. Dalam: O’Leary P, penyunting. *The Physiologic Basis of Surgery*. Edisi ke-3. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; h. 107-32.
- Makgotlho, P.E. 2009. Molecular Characterisation Of MRSA Strain. <http://www.life.umd.edu/>. [diakses 18 Mei].
- Muhammadah, R., T.U. Soleha., dan Ekowati CN .2013. Identifikasi Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Pada Tenaga Medis dan Paramedis di Ruang Intensivecare Unit (ICU) dan Ruang Perawatan Bedah Rumah Sakit Uum Daerah Abdul Moeloek. Universitas Lampung: Bandar Lampung; *Jurnal* (2) 4.
- Marpaung, P., Wullur, A., dan Yamlean, P. 2014. diakses Uji Efektivitas Sediaan Salep Ekstrak Daun Miana (*Coleus Scutellarioides [L] Benth.*) untuk Pengobatan Luka yang Terinfeksi Bakteri Staphylococcus Aureus pada Kelinci (*Oryctolagus Cuniculus*). *Jurnal Ilmiah Farmasi* 3 (3) 2302 – 2493.
- Murwani, Sri. 2015. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Veteriner*. Universitas Brawijaya Press: Malang.

- Novriansyah, Robin. 2008. *Perbedaan Kepadatan Kolagen Di Sekitar Luka Insisi Tikus Wistar Yang dibalut Kasa Konvensional dan Penutup Oklusif Hidrokoloid Selama 2 dan 14 Hari*. [Thesis]. Magister Ilmu Biomedik.
- Nuria, C.M. 2010. Antibacterial Activities From Jangkang (*Homalocladium platycladum* (F.Muell) Bailey) Leaves. Universitas Wahid Hasyim: Semarang: *Jurnal* (6) 2.
- Pane, Elfira. 2013. Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Metanol Kulit Pisang Raja (*Musa paradisiaca Sapientum*). *Valensi* 3 (2): 76-81.
- Parampsi,N dan T. Soemarno.2013. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pepaya dalam Etanol 70% pada Proses Penyembuhan Luka Insisi. *Jurnal* Vol. 22 No. 1.
- Parija, S.C. 2012. *Textbook of Microbiology and Immunology*. 2nd ed. Elsevier. India.
- Poelengan, M., K. Andriani., Susanti, S., Sussan,L., Komala, M.. 2007. *Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Batang Bungur (*Lagerstormenia speciosa Pers*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara In Vitro*. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor.
- Pongsipulung, G. R., V. Y Paulina V. Y., Banne. 2012. Formulasi dan Pengujian Salep Ekstrak Bonggol Pisang Ambon terhadap Luka Terbuka Pada Kulit Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus novvegicus*). *Jurnal* (1)2 .
- Pratiwi, A. D.,R. Ratnawati., dan H.Kristianto. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kuncup Bunga Cengkeh (*ssyzygium aromaticum*) terhadap Peningkatan Ketebalan Epitelisasi Luka Insisi pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Galur Wistar. *Jurnal* (2) 3.
- Pramono CSU, 2005. *Penggunaan Hewan-Hewan Coba Di Laboratorium*. Institut Pertanian Bogor.
- Pringgenies, D., Jumiati, M., dan Ridho, A. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Nudibranch Polka-Dot (*Jorunna funebris*) (Gastropoda : Moluska) Terhadap Bakteri Multidrug Resistant (MDR). *Jurnal Ilmu Kelautan* 20(4):195-206.
- Priyambodo S, 2007. *Pengendalian Hama Tikus Terpadu*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Purwanto, B., A. G. Hermawan.,Yogyantoro., Alsagaff, Juliati. Hood. 2009. Kajian Ekspresi TGF- 1, MMP-9, Kolagen Tipe- Kolagen Tipe-I, Kolagen Tipe- Kolagen Tipe-IV, Glomerulosklerosis, Interstisial Fibrosis, Albuminuri pada

Kejadian Nefrotoksik Doxorubicin dan Nefroprotektif Pentoxifyllin dengan Hewan Coba Mencit Galur Swiss Jantan. *Jurnal (13) 2*.

Pusponegoro AD, Sjamsuhidajat R, De Jong W.,2005. *Luka Dalam: penyunting. Buku Ajar Ilmu Bedah*. Edisi ke-2. Jakarta: EGC, h. 66-88.

Rienda, M.N, dan Susianti.2016. Lidah Buaya (Aloe vera) untuk Penyembuhan Luka. *jurnal (5) 4*

Schreml, S., R, Szeimies., L. Prantl., M.Landthaler., P. Babilas., Wound Healing in the 21st Century. *J Am Acad Dermatol*. 2010; 63(5): 866-881.

Seftian,D., F.Antonius., & M. Faizal. 2012. *Pembuatan Etanol Dari Kulit Pisang Menggunakan Metode Hidrolisis Enzimatik Dan Fermentasi. Jurnal Teknik Kimia. 18 (1)*.

Sharp P, Villano J. 2013. *The Laboratory Rat*. Second edition. Boca Raton: CRC Press

Sherwood, L. 2013. *Fisiologi Manusia (Brahm U. Pendit, Penerjemah)*. Penerbit Buku Kedokteran ECG. Jakarta. 434-438)

Sjamsuhidayat, R, dan W. Jong . 2005. *Buku Ajar Ilmu Bedah Edisi 2*. EGC. Jakarta. 73-75.

Sumartiningsih, S. (2009). Pengaruh Pemberian Binahong (Anradera Cordifolia) Terhadap Sel Radang dan Sel Fibroblast Pada Hematoma Regio Femoris Ventralis Rattus Norvegicus Strain Wistar Jantan. *Karya Ilmiah Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya*.

Suyanti dan Supriyadi, A. 2008. *Pisang Budi daya, pengolahan, dan prospek pasar*. Jakarta: Penebar Swadaya.

Szpaderska AM, Egozi El , Gamelli RL *et al.* (2003) The effect of thrombocytopenia on dermal wound healing. *Journal of Investigative Dermatology 120,1130-1137*.

Timotius, I.C.D., S. Puradisastra dan H. Tiono. 2012. Pengaruh Air Perasan Umbi Bawang Putih (*Allium sativum L.*) Dalam mempersingkat Durasi Penyembuhan Luka Mencit Swiss Webster. *Jurnal Medika Planta (2) 1*.

Theoret and Schumacher. 2017. *Equine Wound Management* .University of Tennessee Knoxville: USA.

Wijaya.Y.A., S.J. Kalangi..., and M.M. Kaseke. 2015. Gambaran Reaksi Radang Luka Postmorem Pada Hewan Coba. *Jurnal e-Biomedik (eBm) (3) 1*.

Williams. J., and A. Moores. 2009. *BSAVA Manual of Canine and Feline Wound Management and Reconstruction*. UC Davis:California

Warsa, U. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Binarupa Aksara.

