

**PENGARUH PEMBERIAN SALEP EKSTRAK BELUT  
(*Monopterus albus*) TERHADAP EKSPRESI  
*INTERLEUKIN 1* (IL-1) DAN JUMLAH  
SEL RADANGPADA LUKA INSISI  
TIKUS (*Rattus norvegicus*)**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**BABY NUR IZZATI**  
**155130100111053**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2019**

**PENGARUH PEMBERIAN SALEP EKSTRAK BELUT  
(*Monopterus albus*) TERHADAP EKSPRESI  
INTERLEUKIN 1 (IL-1) DAN JUMLAH  
SEL RADANG PADA LUKA INSISI  
TIKUS (*Rattus norvegicus*)**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:  
**BABY NUR IZZATI**  
155130100111053



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2019**

## LEMBAR PENGESAHANSKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN SALEP EKSTRAK BELUT  
(*Monopterus albus*) TERHADAP EKSPRESI  
INTERLEUKIN 1 (IL-1) DAN JUMLAH  
SEL RADANG PADA LUKA INSISI  
TIKUS (*Rattus norvegicus*)**

Oleh:  
**BABY NUR IZZATI**  
155130100111053

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji  
Pada tanggal 25 Juni 2019  
Dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

**Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES**  
NIP. 19600903 198802 2 001

**drh. Herlina Pratiwi, M. Si.**  
NIP. 19870518 201012 2 010

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Brawijaya

**Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M. App. Sc**  
NIP. 19631216 198803 1 002

## LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Baby Nur Izzati

NIM : 155130100111053

Program Studi : Kedokteran Hewan

Penulisan Skripsi berjudul:

Pengaruh Pemberian Salep Ekstrak Belut (*Monopterus albus*) terhadap Ekspresi *Interleukin 1* (Il-1) dan Jumlah Sel Radang pada Luka Insisi Tikus (*Rattus norvegicus*).

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, 25 Juni 2019

Yang menyatakan,

(Baby Nur Izzati)

NIM. 155130100111053

**Pengaruh Pemberian Salep Ekstrak Belut (*Monopterus albus*)  
terhadap Ekspresi *Interleukin 1* (IL-1) dan Jumlah  
Sel Radang pada Luka Insisi Tikus  
(*Rattus norvegicus*)**

**ABSTRAK**

Luka insisi merupakan salah satu jenis luka yang terjadi akibat mekanisme *shearing*, yaitu dihasilkan akibat goresan benda-benda tajam yang dilakukan dalam rangka prosedur operasi. Pengobatan luka insisi secara umum menggunakan obat kimia seperti *povidon iodine* yang dapat menimbulkan iritasi pada kulit. Alternatif obat yang dapat dimanfaatkan untuk membantu penyembuhan luka insisi yaitu dengan salep ekstrak belut yang mengandung omega 3 dan asam amino yang dapat bersifat antiinflamasi serta membantu pembentukan jaringan baru. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) terhadap luka insisi. Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah 20 ekor tikus (*Rattus norvegicus*) jantan, *Wistar* dengan berat 150-200 gram dan berumur 8-12 minggu. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan dibagi menjadi 4 kelompok. Kelompok Kontrol Negatif adalah kelompok tikus sehat. Kelompok Kontrol Positif adalah kelompok yang diberi insisi namun tidak diberikan terapi. Kelompok P1 dan P2 adalah kelompok terapi dengan dosis salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) 2% dan 5% pada tikus luka insisi. Parameter yang digunakan adalah ekspresi IL-1 dengan pewarnaan Imunohistokimia (IHK) dan jumlah sel radang dengan pewarnaan *hematoksilin eosin* (HE). Analisis data IL-1 kulit dan jumlah sel radang dilakukan dengan metode kuantitatif. Data kuantitatif diolah secara statistik dengan uji *One Way ANOVA* dan uji lanjutan Tukey dengan tingkat kepercayaan 95% ( $\alpha=0,05$ ). Hasil penelitian menunjukkan bahwa terapi salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) secara signifikan ( $P<0,05$ ) menurunkan ekspresi IL-1 dan jumlah sel radang pada luka insisi. Dapat disimpulkan bahwa pemberian terapi salep ekstrak belut dapat menurunkan ekspresi IL-1 dan menurunkan jumlah sel radang pada luka insisi tikus.

**Kata kunci :** Kulit, Luka Insisi, Ekstrak Belut, IL-1, Sel Radang

**The Potency of Eel Extract (*Monopterus albus*) Ointment Toward Expression of Interleukin 1 (IL-1) and Level Inflammatory Cells of Skin Incision Wound Healing on Rats (*Rattus norvegicus*)**

**ABSTRACT**

Incision wound is one type of injury that occurs due to a shearing mechanism, which is produced due to scratches of sharp objects in the context of operating procedure. Treatment of incision wounds generally uses chemical drugs such as povidone iodine which can cause irritation to the skin. Alternative medicine that can be used to help incision wound healing, is eel extract ointment that contain omega 3 and amino acids which can be anti-inflammatory and help the formation of new tissue. This study aims to determine the effect of giving eel extract ointment (*Monopterus albus*) to incision wounds. The experimental animals used in this study were 20 male rats (*Rattus norvegicus*), Wistar, weighing 150-200 grams and aged 8-12 weeks. This study used a completely randomized design (CRD) and was divided into 4 groups. The Negative Control Group was healthy rats. The Positive Control Group was a group which given an incision without eel extract administration. P1 and P2 therapy group of skin incision rats treated with 2% and 5% eel extract ointment. The parameters used were expression of IL-1 with immunohistochemical staining (CPI) and the number of inflammatory cells by staining *haematoxylin eosin* (HE). Analysis of skin IL-1 data and number of inflammatory cells was carried out by quantitative methods. Quantitative data were processed statistically by One Way ANOVA and Tukey's advanced test with a confidence level of 95% ( $\alpha = 0.05$ ). The result showed that eel extract ointment therapy significantly ( $P < 0,05$ ) decrease the level of IL-1 and number of inflammatory cell of skin incision wound healing. It can be concluded that the administration of eel extract ointment therapy can reduce the expression of IL-1 and decrease the level of inflammatory cells in rat incision wounds.

**Keywords:** Skin, Incision Wounds, Eel Extract, IL-1, Inflammatory cells

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat serta hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “**Pengaruh Pemberian Salep Ekstrak Belut (*Monopterus albus*) terhadap Ekspresi *Interleukin 1* (IL-1) dan Jumlah Sel Radang pada Luka Insisi Tikus (*Rattus norvegicus*)**”. Penelitian ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya (FKH UB).

Dengan penuh rasa hormat dan ketulusan hati, penulis mengucapkan terima kasih kepada segenap pihak secara langsung maupun tidak langsung yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih terutama kepada :

1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES., sebagai Pembimbing 1 atas segala bimbingan dan arahan yang telah diberikan kepada penulis.
2. Drh. Herlina Pratiwi, M. Si sebagai Pembimbing 2 atas segala bimbingan dan arahan yang telah diberikan kepada penulis.
3. Drh. M. Arfan Lesmana, M. Sc., sebagai Penguji 1 yang telah meluangkan waktu serta memberikan saran dan masukan yang membangun
4. Drh. Aldila Noviatry, M. Biomed., Penguji 2 yang telah meluangkan waktu serta memberikan saran dan masukan yang membangun
5. Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M. App. Sc., sebagai Dekan FKH UB atas kepemimpinan dan fasilitas yang telah diberikan.

6. Keluarga penulis, Ayah, Ibu, Sherly dan Bobby yang selalu memberikan kasih sayang, dorongan, dukungan dan doa untuk menyelesaikan studi penulis serta perhatiannya akan kebutuhan penulis baik secara moril maupun materi.
7. Seluruh sahabat Utomo's Family, Vina, dan Hana atas segala perhatian, dorongan, dukungan, dan doa yang diberikan.
8. Tim Penelitian skripsi, yaitu Arinda, Sarah, dan Fairuz.
9. Seluruh dosen dan civitas akademika yang telah membimbing, memberikan ilmu, dan mewadahi penulis selama Pendidikan Dokter Hewan FKH UB.

Penulis sadar bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi pembaca untuk itu saran yang membangun sangat penulis harapkan

Malang, 25 Juni 2019

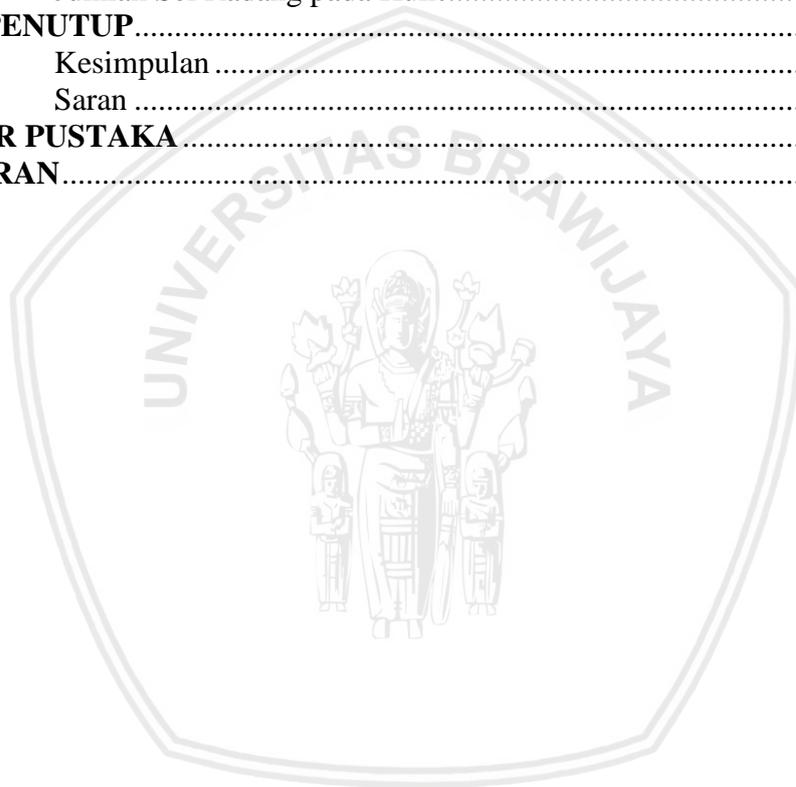
Penulis

## DAFTAR ISI

<b>JUDUL</b> .....	i
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>LEMBAR PERNYATAAN</b> .....	iii
<b>ABSTRAK</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	x
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xii
<b>DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG</b> .....	xiii
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	2
1.3. Batasan Masalah .....	3
1.4. Tujuan Penelitian .....	3
1.5. Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
2.1. Luka .....	5
2.1.1 Mekanisme Penyembuhan Luka .....	6
2.2. Belut ( <i>Monopterus albus</i> ) .....	9
2.3. Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	10
2.3.1 Kulit .....	12
2.4. Sel Radang .....	13
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEP</b> .....	16
3.1 Kerangka Konseptual .....	16
3.2 Hipotesis Penelitian .....	18
<b>BAB 4 METODEOLOGI PENELITIAN</b> .....	19
4.1. Tempat dan Waktu Penelitian .....	19
4.2. Sampel Penelitian .....	19
4.3. Rancangan Penelitian .....	20
4.4. Variabel Penelitian .....	21
4.5. Alat dan Bahan .....	21
4.5.1 Alat .....	21
4.5.2 Bahan .....	22
4.6. Prosedur Penelitian .....	22
4.6.1 Persiapan Hewan Coba .....	22
4.6.2 Pembuatan Salep Ekstrak Belut ( <i>Monopterus albus</i> ) .....	23
4.6.3 Pembuatan Luka Insisi pada Hewan Coba .....	24
4.6.4 Pemberian Terapi Salep Ekstrak Belut ( <i>Monopterus albus</i> ) .....	24
4.6.5 Pengambilan dan Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit .....	25
4.6.6 Perhitungan Jumlah Sel Radang .....	27
4.6.7 Pembuatan dan Perhitungan Ekspresi <i>Interleukin 1 (IL-1)</i> dengan pewarnaan Imunohistokimia (IHK) .....	27



4.6.8 Analisis Data.....	29
<b>BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	30
5.1 Pengaruh Terapi Salep Ekstrak Belut ( <i>Monopterus albus</i> ) terhadap Luka Insisi pada Tikus Berdasarkan Gambaran Makroskopis.....	30
5.2 Pengaruh Terapi Salep Ekstrak Belut ( <i>Monopterus albus</i> ) pada Luka Insisi pada Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) terhadap Jumlah <i>Interleukin 1</i> (IL-1) pada Kulit .....	32
5.3 Pengaruh Terapi Salep Ekstrak Belut ( <i>Monopterus albus</i> ) terhadap Luka Insisi pada Tikus( <i>Rattus norvegicus</i> ) Berdasarkan Jumlah Sel Radang pada Kulit.....	36
<b>BAB 6 PENUTUP</b> .....	43
6.1 Kesimpulan .....	43
6.2 Saran .....	43
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	44
<b>LAMPIRAN</b> .....	47



## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
4.1 Kelompok Perlakuan Hewan Coba Penelitian .....	20
5.1 Hasil Uji Tukey terhadap Ekspresi IL-1 .....	34
5.2 Hasil Uji Tukey terhadap Jumlah Sel Radang .....	39

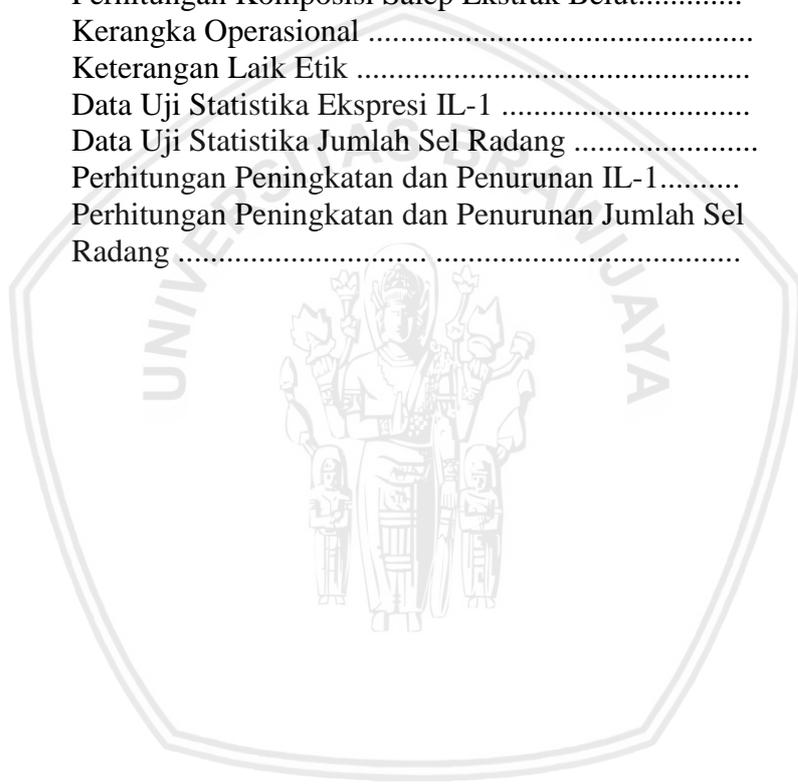


## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>		<b>Halaman</b>
<b>2.1</b>	Belut ( <i>Monopterus albus</i> ) .....	10
<b>2.2</b>	Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	11
<b>2.3</b>	Histologi Lapisan Kulit .....	12
<b>2.4</b>	Sel Radang .....	14
<b>3.1</b>	Kerangka Konsep.....	16
<b>5.1</b>	Makroskopis Tikus Kontrol Positif (K+).....	30
<b>5.2</b>	Makroskopis Tikus P1 Terapi Salep Ekstrak Belut ( <i>Monopterus albus</i> ) 2%.....	31
<b>5.3</b>	Makroskopis Tikus P2 Terapi Salep Ekstrak Belut ( <i>Monopterus albus</i> ) 5%.....	31
<b>5.4</b>	Ekspresi IL-1 Jaringan Kulit Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) dengan Metode Imunohistokimia.....	32
<b>5.5</b>	Histopatologi Kulit Kelompok Kontrol Negatif.....	37
<b>5.6</b>	Histopatologi Kulit Kelompok Kontrol Positif.....	37
<b>5.7</b>	Histopatologi Kulit Kelompok Terapi Salep Ekstrak Belut ( <i>Monopterus albus</i> ) Konsentrasi 2%.....	38
<b>5.8</b>	Histopatologi Kulit Kelompok Terapi Salep Ekstrak Belut ( <i>Monopterus albus</i> ) Konsentrasi 5%.....	38

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran</b>		<b>Halaman</b>
1	Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit dengan Pewarnaan HE .....	48
2	Pewarnaan Immunohistokimia .....	49
3	Perhitungan Komposisi Salep Ekstrak Belut.....	51
4	Kerangka Operasional .....	52
5	Keterangan Laik Etik .....	53
6	Data Uji Statistika Ekspresi IL-1 .....	54
7	Data Uji Statistika Jumlah Sel Radang .....	56
8	Perhitungan Peningkatan dan Penurunan IL-1.....	58
9	Perhitungan Peningkatan dan Penurunan Jumlah Sel Radang .....	59



## DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

<u>Simbol/singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
%	Persen
°C	Derajat Celcius
BB	Berat Badan
BNJ	Beda Nyata Jujur
cm	Centimeter
G	Gram
HE	<i>Hematoxyline-eosin</i>
IHK	Immunohistokimia
IL-1	<i>Interleukin 1</i>
IM	Intramuscular
Kg	Kilogram
NaCl	Natrium klorida
PBS	<i>Phosphate-buffered saline</i>
PDGF	<i>Platelet-derived growth factor</i>
PGA	Pulvis Gummi Arabicum
TGF $\beta$	<i>Transforming growth factor beta</i>
TNF $\alpha$	<i>Tumor necrosis factor alpha</i>

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Luka merupakan suatu kondisi dimana kulit mengalami kerusakan pada komponen jaringannya. Luka dapat disebabkan oleh trauma benda tajam atau tumpul, sengatan listrik, zat kimia atau gigitan hewan. Bentuk dari luka berbeda tergantung penyebabnya, ada yang terbuka dan tertutup. Salah satu contoh luka terbuka adalah luka insisi dimana terdapat robekan linier pada kulit dan jaringan di bawahnya. Pada hewan, luka dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu gigitan, kecelakaan, maupun laserasi dari benda tajam. Luka yang tidak ditangani dapat menyebabkan gangguan sistem hemostatis tubuh, timbulnya infeksi sekunder, kematian sel dan jaringan yang mampu merusak organ bersangkutan (Suryadi, 2016). Oleh sebab itu luka harus segera ditangani agar tidak terjadi infeksi dan meminimalisir pembuluh darah serta jaringan yang rusak.

Proses penyembuhan luka terdapat 4 fase yaitu fase homeostatis, fase inflamasi, fase proliferasi dan fase maturasi (*remodelling*). Masing – masing fase memiliki proses biologis dan peranan sel yang berbeda. Selama fase inflamasi, akan terjadi emigrasi sel-sel radang yang berasal dari darah. Infiltrasi dari sel radang terjadi ketika sel radang menginfiltrasi di pembuluh darah dan daerah luka. Mediator kimiawi akan dilepaskan oleh sel imunitas sebagai respon adanya kerusakan jaringan yang berupa kemoatraktan dan sitokin. *Interleukin-1* adalah salah satu sitokin polipeptida yang dihasilkan pada proses inflamasi. *Interleukin-1* (IL-1) merupakan salah satu sitokin yang bersifat pro-inflamasi, berperan penting dalam respon imun yaitu sebagai mediator inflamasi (Subowo, 2009).

Penggunaan obat bertujuan untuk mempercepat proses penyembuhan luka. Obat yang digunakan dapat berupa obat kimia atau obat herbal alami. Obat kimia yang sering digunakan oleh masyarakat contohnya adalah *povidon iodine* yang memiliki efek antimikroba kuat namun dapat menyebabkan efek samping seperti iritasi pada kulit, oleh sebab itu diperlukan obat alternatif lain. Saat ini penelitian mengenai alternatif obat dari tumbuhan semakin pesat, namun penggunaan ekstrak belut sebagai bahan alternatif pengobatan masih belum banyak dikenal. Belut sawah (*Monopterus albus*) merupakan salah satu hewan yang memiliki banyak khasiat, dan dapat digunakan sebagai pengobatan. Protein dalam daging belut mengandung asam amino yang penting untuk pembentukan kulit, penyusunan kolagen, pembentukan fibroblas dan makrofag. Asam-asam lemak dalam belut berperan dalam fase inflamasi serta memperbaiki jaringan yang rusak. Dalam penyembuhan luka, asam lemak dan protein bekerja-sama dalam pembentukan keratinosit dan kolagen untuk memperbaiki jaringan yang rusak. Senyawa ini banyak terdapat dalam spesies ikan seperti belut (*Monopterus albus*) (Mulyani, 2015). Penelitian ini diharapkan dapat mengetahui potensi dari salep ekstrak belut terhadap proses kesembuhan luka dilihat dari jumlah sel radang dan ekspresi IL-1.

## 1.2. Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) berpengaruh terhadap ekspresi IL 1 pada luka insisi tikus (*Rattus norvegicus*)?
2. Apakah pemberian salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) berpengaruh terhadap jumlah sel radang pada luka insisi pada tikus (*Rattus norvegicus*)?

### 1.3. Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini dibatasi pada:

1. Hewan model yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan, strain *Wistar* dengan umur 8-12 minggu dan berat badan 150-200 g. Tikus diperoleh dari Laboratorium Hewan Coba Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Telah mendapatkan sertifikat Laik Etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya Malang No: 1066-KEP-UB (Lampiran 4).
2. Luka insisi dibuat dengan menginsisi pada daerah dorsal yang telah dicukur sepanjang 2 cm kedalamannya mencapai subkutis dengan menggunakan scalpel (Sinambela, 2012).
3. Pemberian terapi salep ekstrakbelut (*Monopterus albus*) dilakukan secara topikal, pemberian dua kali sehari dibuat dalam bentuk sediaan salep selama 14 hari.
4. Variabel pertama yang diamati dalam penelitian ini adalah jumlah sel radang dengan preparat histopatologi pewarnaan HE.
5. Variabel kedua yang diamati dalam penelitian ini adalah ekspresi IL 1 dengan preparat histopatologi pewarnaan IHC.

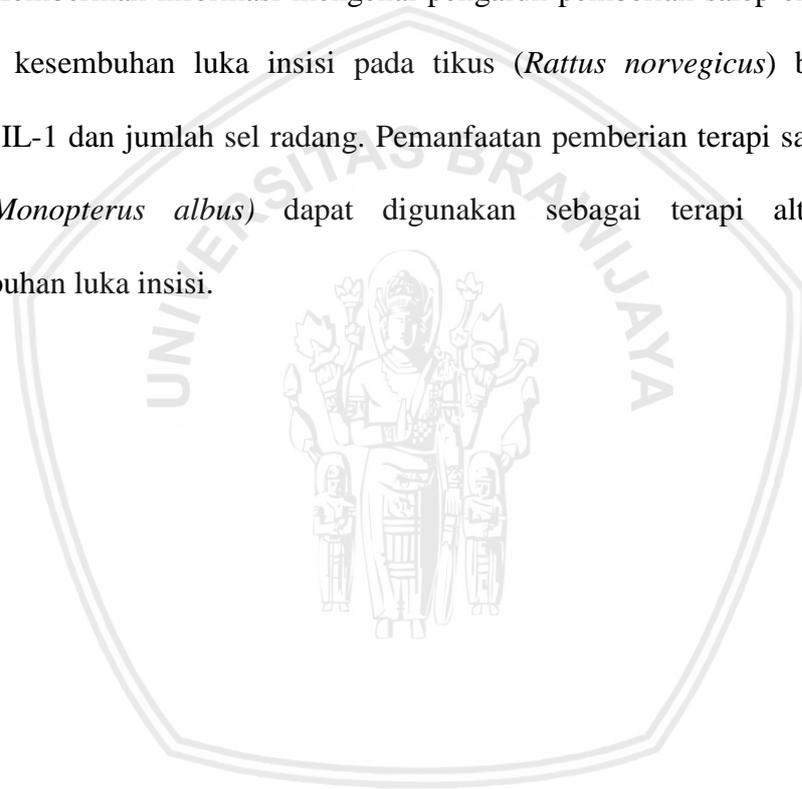
### 1.4. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh pemberian salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) secara topikal terhadap ekspresi IL 1 pada luka insisi tikus (*Rattus norvegicus*).

2. Mengetahui pengaruh pemberian salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) secara topikal terhadap jumlah sel radang pada luka insisi tikus (*Rattus norvegicus*).

### 1.5. Manfaat Penelitian

Memberikan informasi mengenai pengaruh pemberian salep ekstrak belut terhadap kesembuhan luka insisi pada tikus (*Rattus norvegicus*) berdasarkan ekspresi IL-1 dan jumlah sel radang. Pemanfaatan pemberian terapi salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) dapat digunakan sebagai terapi alternatif pada penyembuhan luka insisi.



## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Luka

Luka merupakan suatu bentuk kerusakan jaringan pada kulit yang disebabkan kontak dengan sumber panas (seperti bahan kimia, air panas, api, radiasi, dan listrik), hasil tindakan medis, maupun perubahan kondisi fisiologis. Luka menyebabkan gangguan pada fungsi dan struktur anatomi tubuh (Purnama, 2017). Menurut Suryadi (2016), luka adalah rusak atau hilangnya jaringan tubuh yang terjadi karena adanya suatu faktor yang mengganggu sistem perlindungan tubuh. Faktor tersebut seperti trauma, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik, atau gigitan hewan. Bentuk dari luka berbeda tergantung penyebabnya, ada yang terbuka dan tertutup. Salah satu contoh luka terbuka adalah insisi dimana terdapat robekan linier pada kulit dan jaringan di bawahnya.

Salah satu jenis luka terbuka adalah luka insisi. Menurut Pavletic (2010), luka insisi merupakan salah satu jenis luka yang terjadi akibat mekanisme shearing, yaitu dihasilkan akibat goresan benda-benda tajam seperti pisau, kaca, silet dan lain-lain. Energi dari benda-benda tersebut didispersi sepanjang area yang terkena luka sehingga menyebabkan kerusakan jaringan. Luka insisi umumnya dilakukan pada prosedur yang steril dalam proses pembedahan menggunakan bantuan *blade*. Sehingga hasil dari luka insisi akan terlihat rapi dan dapat ditentukan panjang serta kedalamannya.

### 2.1.1 Mekanisme Penyembuhan Luka

Proses penyembuhan luka terdapat 4 fase yaitu fase hemostatis, fase inflamasi, fase proliferasi dan fase maturasi (*remodelling*). Masing – masing fase memiliki proses biologis dan peranan sel yang berbeda. Pada fase awal, terjadi hemostasis dimana pembuluh darah yang rusak pada luka akan dihentikan dengan terjadinya reaksi vasokonstriksi serta inflamasi untuk membuang jaringan rusak dan mencegah infeksi bakteri. Kemudian fase proliferasi, dimana terjadi epitelialisasi dan angiogenesis. Selain itu terjadi pula kontraksi luka dan sintesis kolagen pada fase ini. Sedangkan untuk fase akhir, terjadi pembentukan jaringan baru / *remodelling* (Suryadi, 2016).

#### a) Fase Homeostatis

Hemostasis adalah proses fisiologis yang dilakukan oleh tubuh untuk menghentikan perdarahan pada lesi vascular. Pada fase hemostatis melibatkan peran dari platelet (trombosit) dan fibrin. Respon awal dari luka oleh pembuluh darah adalah terjadinya vasokonstriksi. Permukaan trombosit yang terdapat di sekitar akan melekat pada permukaan trombosit lainnya sehingga terbentuk agregasi dari trombosit. Pada saat munculnya platelet, terjadi perubahan thrombin menjadi fibrinogen dan kemudian menjadi fibrin selama agregasi platelet sehingga terbentuk *fibrin clot* untuk menahan pendarahan. Sedangkan pada saat koagulasi, terjadi *coagulation pathways* secara instrinsik dan ekstrinsik. Platelet juga akan meningkatkan pembentukan jaringan baru dengan menghasilkan growth factor seperti *Transforming Growth Factor Beta* (TGF- $\beta$ ) dan *Platelet-derived Growth Factor* (PDGF) (Li *et al.*, 2007).

b) Fase Inflamasi

Netrofil merupakan sel radang pertama yang dijumpai pada daerah luka, fungsi utamanya untuk mengeliminasi benda asing, bakteri, sel dan matrik jaringan yang rusak. Sel Mast merupakan sel yang kaya dengan granula berisi berbagai macam enzim, Histamin dan berbagai jenis mediator kimia lain yang bertanggung jawab terhadap terjadinya inflamasi pada daerah sekitar luka. Bahan aktif yang dilepaskannya akan memicu serangkaian proses yang menyebabkan peningkatan permeabilitas pembuluh darah sehingga sel monosit bisa dengan mudah bermigrasi kedalam jaringan yang luka (Ahyar, 2016).

Sel Monosit dalam darah akan menjadi teraktivasi dan menjadi Makrofag setelah 48 jam, yang berperan besar dalam tahap inflamasi penyembuhan luka. Setelah teraktivasi, sel Makrofag sendiri juga akan menghasilkan PDGF dan TGF- $\beta$ . Sifat fagositik dari Makrofag bertujuan untuk mengeliminasi sel dan matrik yang rusak, Netrofil yang penuh dengan patogen, benda asing dan sisa bakteri yang masih tersisa (Ahyar, 2016). Makrofag sebagai sel yang sangat penting dalam penyembuhan luka memiliki fungsi fagositosis bakteri dan jaringan mati. Makrofag mensekresi proteinase untuk mendegradasi matriks ekstraseluler (ECM) dan penting untuk membuang material asing, merangsang pergerakan sel, dan mengatur pergantian ECM. Makrofag merupakan penghasil sitokin dan growth factor yang menstimulasi proliferasi fibroblast, produksi kolagen, pembentukan pembuluh darah baru, dan proses penyembuhan lainnya (Suryadi, 2016).

c) Fase Proliferasi

Pada fase ini terjadi penurunan jumlah sel – sel inflamasi, tanda – tanda radang berkurang, munculnya sel fibroblast yang berproliferasi, pembentukan pembuluh darah baru, epitelialisasi dan kontraksi luka. Matriks fibrin yang dipenuhi platelet dan makrofag mengeluarkan growth factor yang mengaktifasi fibroblast. Fibroblast bermigrasi ke daerah luka dan mulai berproliferasi hingga jumlahnya lebih dominan dibandingkan sel radang pada daerah tersebut(Suryadi, 2016).

Angiogenesis distimulasi dan diatur oleh berbagai sitokin yang kebanyakan dihasilkan oleh makrofag dan platelet. Makrofag akan menghasilkan growth factor yang merangsang fibroblast berproliferasi. Makrofag juga akan merangsang sel endotel untuk membentuk pembuluh darah baru (Suryadi, 2016).

d) Fase Pematangan

Fase remodelling jaringan parut adalah fase terlama dari proses penyembuhan. Proses ini dimulai sekitar hari ke-21 hingga satu tahun. Pembentukan kolagen akan mulai menurun dan stabil. Meskipun jumlah kolagen sudah maksimal, kekuatan tahanan luka hanya 15 % dari kulit normal. Proses remodelling akan meningkatkan kekuatan tahanan luka secara drastis. Proses ini didasari pergantian dari kolagen tipe III menjadi kolagen tipe I. Peningkatan kekuatan terjadi secara signifikan pada minggu ketiga hingga minggu keenam setelah luka. Kekuatan tahanan luka maksimal akan mencapai 90% dari kekuatan kulit normal (Suryadi, 2016).

## 2.2. Belut (*Monopterus albus*)

Belut adalah hewan yang tergolong dalam kelas ikan (pisces). Belut memiliki bentuk badan bulat panjang dan berlendir banyak seperti yang terlihat pada **Gambar 2.1**. Menurut Sundoro (2008), taksonomi dari belut adalah sebagai berikut:

Kingdom	: animalia
Fillum	: chordata
Kelas	: pisces
Subkelas	: teleostei
Ordo	: synbranchoiddae
Famili	: synbranchidae
Genus	: monopterus
Spesies	: <i>Monopterus albus</i>

Ikan belut bersifat hermaphrodite (sempurna), yaitu dapat berganti kelamin selama menjalani hidupnya. Pada stadium kecil sampai muda, belut selalu berkelamin betina; dan ketika memasuki stadium dewasa (tua) berubah menjadi jantan (Rukmana, 2003). Induk belut dapat dikenali dari penampilannya. Ciri dari belut jantan adalah berukuran panjang lebih dari 40 cm, warna permukaan kulit lebih gelap atau abu-abu, bentuk kepala tumpul, dan usianya di atas sepuluh bulan. Sedangkan untuk belut betina dapat dikenali dengan ciri-ciri berukuran panjang 20-30 cm (lebih pendek dari jantan), warna permukaan lebih cerah, warna punggung hijau muda dan warna perut putih kekuningan, bentuk kepala runcing, serta usianya di bawah sembilan bulan (Sundoro, 2008).



**Gambar 2.1** Belut (*Monopterus albus*) (Susatyo dkk., 2018)

Belut mengandung protein dan lemak yang cukup tinggi. Nilai protein pada belut sebesar 18,4 g/100g daging. Nilai ini hampir setara dengan protein daging sapi, yakni 18,8 g/100 g (Muktiani, 2012). Protein dalam daging belut mengandung asam amino yang penting untuk pembentukan kulit, penyusun kolagen, pembentukan fibroblas dan makrofag. Asam-asam lemak dalam belut berperan dalam inflamasi sertamemperbaiki jaringan yang rusak. Dalam penyembuhan luka, asam lemak dan protein bekerjasama dalam pembentukan keratinosit dan fibroblas. Senyawa ini banyak terdapat dalam spesies ikan seperti belut (*Monopterus albus*) (Mulyani, 2015).

### **2.3. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**

Tikus putih sering digunakan sebagai hewan percobaan atau digunakan untuk penelitian, dikarenakan tikus merupakan hewan yang mewakili hewan mamalia. Sehingga kelengkapan organ, kebutuhan nutrisi, metabolisme biokimianya, sistem reproduksi, pernafasan, peredaran darah dan ekskresi menyerupai manusia. Alasan lain hewan ini sering dijadikan hewan coba adalah karena mudah diperoleh dalam jumlah banyak, mempunyai respon yang cepat,

memberikan gambaran secara ilmiah yang mungkin terjadi pada manusia dan harganya relatif murah (Sihombing, 2010). Klasifikasi tikus putih menurut Priyambodo (2007), adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Odontoceti
Familia	: Muridae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>



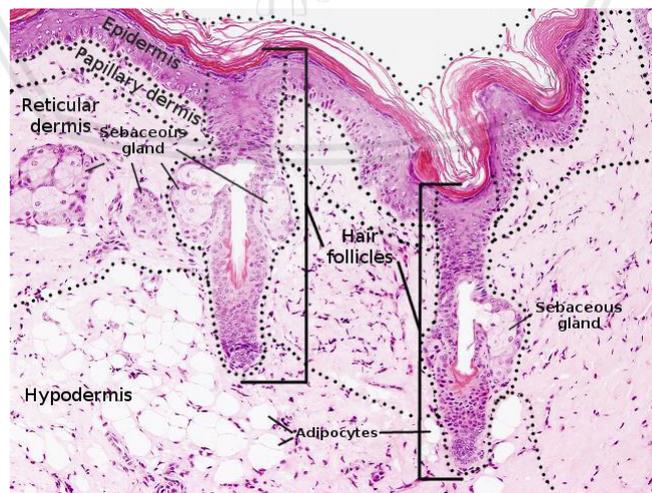
**Gambar 2.2** Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Liu *et. al.*, 2018)

Tikus putih memiliki beberapa sifat yang menguntungkan sebagai hewan uji penelitian di antaranya perkembangbiakan cepat, mempunyai ukuran yang lebih besar dari mencit, seperti yang terlihat pada gambar 2.2. Tikus putih juga mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak. Tikus putih memiliki ciri-ciri morfologis seperti albino, kepala kecil, dan ekor yang lebih panjang dibandingkan

badannya, pertumbuhannya cepat, temperamennya baik, kemampuan laktasi tinggi, dan tahan terhadap arsenik tiroksid (Akbar, 2010).

### 2.3.1 Kulit

Kulit merupakan lapisan pelindung tubuh yang sempurna terhadap pengaruh luar, baik pengaruh fisik maupun pengaruh kimia (Wulaningsih, 2010). Kulit adalah organ pelindung paling luar yang berupa barrier mekanik untuk pencegahan mikroorganisme dan agen perusak agar tidak masuk ke jaringan yang lebih dalam. Menurut Kalangi (2013), kulit dibagi menjadi 2 lapisan umum, yaitu lapisan epidermis dan dermis. Epidermis merupakan jaringan epitel yang berasal dari ektoderm, terdiri dari *stratum korneum*, *stratum lusidum*, *stratum granulosum*, *stratum spinosum* dan *stratum basalis*. Dermis merupakan jaringan ikat yang agak padat, berasal dari mesoderm. Lapisan dermis terdiri dari *stratum papilaris* dan *stratum retikularis*. Secara histologis, lapisan dari epidermis digambarkan pada **Gambar 2.3**



**Gambar 2.3**Jaringan kulit tikus *Rattus norvegicus* secara histologis dengan pewarnaan *hematoksilin eosin*, perbesaran 100× (Pachecho, 2018)

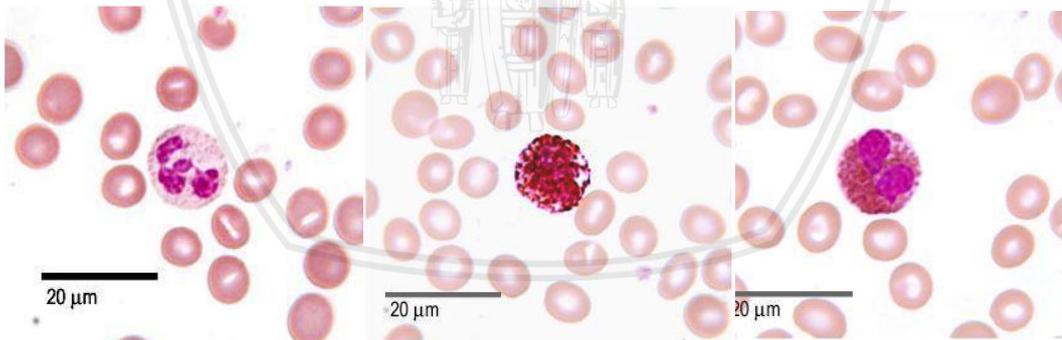
Fungsi utama kulit adalah sebagai pelindung dari berbagai macam gangguan dan rangsangan dari luar. Fungsi perlindungan ini terjadi melalui mekanisme biologis, seperti pembentukan lapisan tanduk secara terus menerus atau yang biasa dikenal dengan keratinisasi dan pelepasan sel-sel yang sudah mati. Selain itu juga terjadi pembentukan pigmen melanin untuk melindungi kulit dari sinar radiasi ultraviolet, sebagai peraba dan perasa serta pertahanan terhadap infeksi dari luar (Tranggono dan Latifah, 2007).

#### **2.4. Sel Radang**

Leukosit dibagi menjadi 2 kelompok utama, yaitu mononuklear/ MN dan polimorfonuklear/ PMN. Leukosit yang terdapat pada luka di dua hari pertama adalah neutrofil. Neutrofil adalah jenis sel leukosit yang paling banyak yaitu sekitar 50-70% diantara sel leukosit yang lain. Neutrofil memiliki granula berbentuk butiran halus tipis dengan sifat netral sehingga terjadi pencampuran warna asam (eosin) dan warna basa (metilen biru), yang menghasilkan warna ungu atau merah muda yang samar saat diwarnai (Indriani, 2017). Sel ini membuang jaringan mati dan bakteri dengan fagositosis. Neutrofil juga mengeluarkan protease untuk mendegradasi matriks ekstraseluler yang tersisa. Setelah melaksanakan fungsi fagositosis, neutrofil akan difagositosis oleh makrofag atau mati (Bratawidjaya dan Rengganis, 2010).

Pada hari kedua / ketiga luka, monosit / makrofag akan masuk ke dalam luka. Monosit adalah sel radang mononuklear. Sel mononuklear berjumlah sekitar 3-8% dari keseluruhan leukosit. Bentuk inti dapat berbentuk oval, seperti tapal

kuda atau seperti terlipat. Sitoplasma monosit tampak berwarna biru keabu-abuan. Ketika berada di jaringan, monosit berubah menjadi makrofag (Subowo, 2009). Monosit akan mengalami aktivasi dan berdiferensiasi menjadi makrofag setelah meninggalkan pembuluh darah, diikuti oleh perubahan ekspresi gen, yang dipengaruhi oleh berbagai mediator yang ditemukan pada lingkungan mikro disekitar luka yang menyebabkan sel Makrofag mengalami perubahan sifat sesuai dengan kebutuhan di lokasi luka (Rajan *and* Murray, 2008). Sel-sel radang ini berperan sangat penting dalam membersihkan infeksi dan debris, namun juga dapat menyebabkan kerusakan jaringan jika berkepanjangan. Infiltrasi sel radang yang berkepanjangan akibat infeksi ataupun lainnya dapat menyebabkan jaringan parut meningkat atau terbentuk luka kronis (Zhao, *et al.*, 2016). Gambaran histologi dari sel-sel leukosit PMN dapat dilihat pada gambar 2.4



Gambar 2.4 Gambaran sel PMN. Neutrofil (kiri), basofil (tengah) dan eusinofil (kanan) (The Histology Guide, 2015)

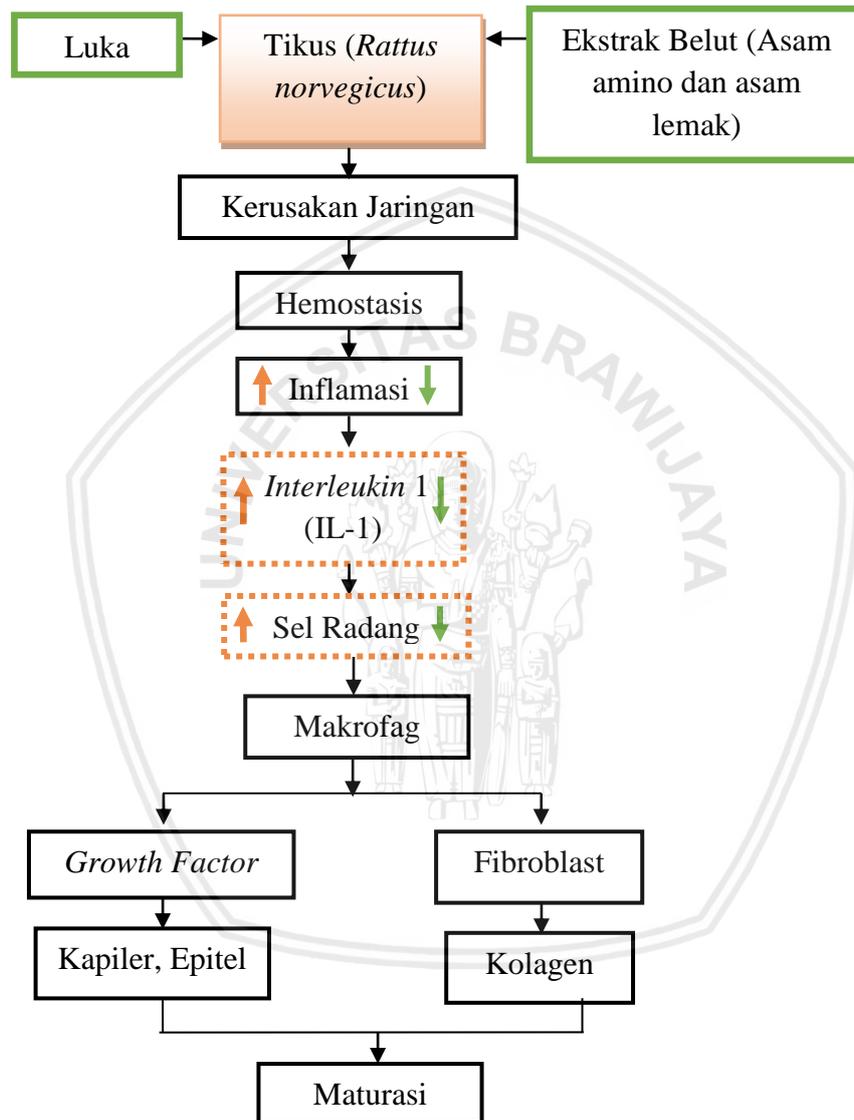
### 2.5.IL-1 (*Interleukin-1*)

*Interleukin-1* adalah sitokin polipeptida yang dihasilkan pada proses inflamasi dengan spektrum aktivitas imunologik luas. Sitokin adalah protein

dengan berat molekul rendah, nonantigen-spesifik yang memperantarai interaksi seluler yang terlibat dalam sistem imun, inflamatori, dan hematopoitik. Sitokin bekerja dengan cara mengikat reseptor-reseptor membran spesifik, kemudian membawa sinyal ke sel untuk mengubah aktivitasnya (ekspresi gen). Fungsi utama IL-1 adalah mediator inflamasi yang merupakan respon terhadap terhadap infeksi dan rangsangan lain. Sumber utama IL-1 juga yaitu fagosit mononuklear yang diaktifkan (Subowo, 2009). IL-1 juga diproduksi oleh sel-sel lain selain makrofag, misalnya netrofil, sel epitel (seperti keratinosit), dan sel endotel dalam jumlah sedikit (Abbas, *et al.*, 2007). Interleukin 1 terbagi atas dua protein, yaitu IL-1 $\alpha$  dan IL-1 $\beta$ , yang terdiri dari dua gen yang berbeda, tetapi mengenali permukaan reseptor yang sama. Ekspresi IL-1 akan meningkat ketika jaringan kulit mengalami kerusakan akibat luka. IL-1 bersama mediator inflamasi lainnya meningkatkan ekspresi faktor adhesi pada sel endotel untuk meningkatkan diapedesis sel radang ke lokasi luka untuk melawan agen infeksi yang mengontaminasi luka (Contassot, *et al.*, 2012).

### BAB 3 KERANGKA KONSEP

#### 3.1 Kerangka Konseptual



Keterangan :

<span style="border: 1px solid green; padding: 2px;"> </span>	: Variabel bebas	↓	: Menstimulus
<span style="border: 1px dashed orange; padding: 2px;"> </span>	: Variabel terikat	↑	: Penyembuhan luka
<span style="background-color: #f4a460; padding: 2px;"> </span>	: Variabel control	↓	: Efek pemberian terapi

Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Tikus (*Rattus norvegicus*) diberi perlakuan insisi sehingga menyebabkan kerusakan jaringan. Pada luka yang menembus epidermis, akan merusak pembuluh darah menyebabkan pendarahan. Untuk mengatasinya terjadilah proses hemostasis. Pada fase hemostasis akan terjadi agregasi platelet atau trombosit, vasokonstriksi dan pembentukan *fibrin plug*. Platelet yang teragregasi akan memicu fase inflamasi yang ditandai aktifnya *growth factor* yaitu PDGF dan TGF- $\beta$ . Di mana keduanya akan menginisiasi respon inflamasi dengan menarik sel inflamasi (neutrofil dan makrofag) ke sekitar tempat terjadinya luka. Makrofag yang sudah ada pada jaringan, berfungsi sebagai pembunuh patogen, dan memperbaiki jaringan yang rusak. Makrofag juga memproduksi sitokin pro-inflamasi, seperti IL-1. IL-1 berperan dalam imunitas nonspesifik. Fungsi utama IL-1 adalah mediator inflamasi yang merupakan respon terhadap infeksi dan rangsangan lain. IL-1 adalah sitokin pro inflamasi yang berfungsi dalam pengerahan dan pengaktifan sel radang ke tempat yang mengalami kerusakan. Sehingga jumlah sel radang akan meningkat seiring dengan peningkatan IL-1. Ekstrak belut ini berperan sebagai anti inflamasi dan membantu fibroblast dalam pembentukan kolagen karena adanya kandungan asam amino dan asam lemak.

Asam lemak dalam ekstrak belut (*Monopterus albus*) akan menurunkan jumlah sel radang dengan cara menghambat enzim siklooksigenase pada inflamasi, sehingga produksi prostaglandin dapat berkurang. Penekanan prostaglandin sebagai mediator inflamasi dapat menyebabkan berkurangnya nyeri dan pembengkakan, mengurangi vasodilatasi pembuluh darah dalam aliran darah lokal, sehingga migrasi sel radang akan menurun. Mediator anti inflamasi yang

terkandung dalam asam lemak juga dapat memobilisasi sel makrofag untuk memakan sel neutrofil dan membersihkan sisa-sisa proses fagositosis sehingga mengakhiri fase inflamasi dan masuk ke dalam fase proliferasi. Pada fase ini, makrofag bekerja dalam aktivasi *growth factor*. Ekstrak belut juga mengandung asam amino. Kandungan asam amino yang ada sebagai penyusun serat kolagen, sehingga dapat berperan membantu fibroblast dalam pembentukan kolagen. Proses kesembuhan luka akan memasuki fase maturasi yang diikuti dengan terbentuknya pembuluh darah baru, pembentukan serat kolagen, dan epitel untuk membentuk jaringan kulit yang baru.

### 3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Pemberian salep ekstrakbelut (*Monopterus albus*) dapat menurunkan ekspresi IL-1 pada proses penyembuhan luka insisi tikus (*Rattus norvegicus*).
2. Pemberian salep ekstrakbelut (*Monopterus albus*) dapat menurunkan jumlah sel radang pada proses penyembuhan luka insisi tikus (*Rattus norvegicus*).

## BAB 4 METODELOGI PENELITIAN

### 4.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 2 bulan, terhitung dari Desember 2018 hingga Januari 2019. Penelitian dilakukan di beberapa laboratorium, yaitu:

a) Pembuatan salep ekstrak belut dilakukan di Laboratorium Farmakologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya

b) Pemeliharaan hewan coba beserta pemberian perlakuan dilakukan di Laboratorium Hewan Coba, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim

c) Pembuatan preparat histopatologi kulit dan pewarnaan HE dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya

d) Pewarnan IHK, pengamatan sel radang dan pengamatan ekspresi IL-1 dilakukan di Laboratorium Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya

### 4.2. Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar dengan BB berkisar 150 – 200 gr dan berusia 8 – 12 minggu. Sebelum dilakukan percobaan, tikus diadaptasi selama 7 hari untuk menyesuaikan keadaan tubuh tikus dengan kondisi di sekitar. Jumlah hewan coba yang digunakan sebagai sampel dihitung dengan rumus berikut (Kusriningrum, 2008):

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

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4.75 \rightarrow 5$$

Keterangan:

t: Jumlah perlakuan

n: Jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan rumus diatas, maka dalam pelaksanaan penelitian ini dibutuhkan hewan coba sejumlah 20 ekor yang dibagi dalam 4 perlakuan berbeda. Masing-masing perlakuan membutuhkan 5 kali ulangan, sehingga setiap perlakuan membutuhkan 5 ekor hewan coba.

#### 4.3. Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sampel hewan coba yang berjumlah 20 ekor, dibagi dalam 4 perlakuan yang berbeda dan masing-masing menggunakan pengulangan sebanyak 5 kali. Kelompok perlakuan pada penelitian ini adalah:

**Tabel 4.1** Rancangan kelompok penelitian

Kelompok	Perlakuan
<b>Kontrol Negatif</b>	Tidak diberi insisi dan tidak diberi terapi.
<b>Kontrol Positif</b>	Diberi insisi namun tidak diberikan terapi
<b>Perlakuan 1 (P1)</b>	Diberi insisi dan diberi terapi salep ekstrak belut 2%
<b>Perlakuan 2 (P2)</b>	Diberi insisi dan diberi terapi salep ekstrak belut 5%

#### 4.4. Variabel Penelitian

Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah:

- Variabel bebas : terapi salep ekstrak belut, luka insisi
- Variabel terikat : jumlah sel radang dan ekspresi IL-1
- Variabel kendali : homogenitas tikus (*Rattus norvegicus*)(galur, berat badan, usia, dan jenis kelamin), pakan, kondisi kandang, penggantian kassa steril pada lokasi luka, dan intensitas pemberian terapi

#### 4.5. Alat dan Bahan

##### 4.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain:

- a. Pemeliharaan: kandang hewan coba, sekam, *underpad*, botol minum tikus, *glove*
- b. Terapi dan pembedahan: seperangkat alat bedah, pot organ, kassa steril, spuit
- c. Pembuatan salep: kukusan, mangkuk tahan panas, kertas saring, gelas ukur, sentifuse, mortar, sudip, pot salep, timbangan digital
- d. Pewarnaan HE dan IHK: mikroskop, *water bath*, inkubator, vortex, micropipet, *glass wear*

#### 4.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini, antara lain:

- a. Pemeliharaan: tikus (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar dengan BB 150 – 200 gr yang berusia 8-12 minggu, pakan tikus, air minum tikus
- b. Terapi dan pembedahan: NaCl fisiologis, ketamin, xylazine, formalin
- c. Pembuatan salep: belut, formula pembuatan salep
- d. Pewarnaan HE dan IHK: alkohol dengan konsentrasi bertingkat (70%, 80%, 90%, 100%), minyak emersi, pewarna *Hematoxyline Eosin* (HE), aquades, larutan PBS pH 7,4, *StrepAvidin Horse Radish Peroxidase* (SA-HRP), *Diamino Benzidine* (DAB), paraffin, eter dengan konsentrasi 70%, dan larutan xylol.

#### 4.6. Prosedur Penelitian

##### 4.6.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) strain *wistar* jantan dengan berat badan berkisar 150-200 g dan berumur 2-3 bulan. Hewan coba tersebut dibagi dalam 4 kelompok. Masing-masing kelompok berisikan 5 ekor hewan coba. Hewan coba dirawat di Laboratorium Hewan Coba, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim. Hewan coba dipelihara didalam kandang balok plastik berukuran 17.5 x 23.75 x 17.5 cm yang diberi penutup dari kawat. Kandang ditempatkan pada tempat yang nyaman.

#### 4.6.2 Pembuatan Salep Ekstrak Belut (*Monopterus albus*)

Dimulai dengan proses preparasi sampel. Belut sebanyak 1 kg yang masih segar dibersihkan bagian isi perut, isi perut dikeluarkan terlebih dahulu, kemudian belut dicuci bersih. Setelah dicuci, belut dimasukkan ke dalam kukusan. Di dalam kukusan diberi mangkuk tahan panas untuk menampung ekstrak belut. Kemudian belut dipotong menjadi bagian-bagian kecil, dan dimasukkan ke dalam kukusan. Belut dikukus dengan suhu 70-80°C selama 30 menit. Lalu didapat ekstrak belut yang tertampung di mangkuk tahan panas. Kemudian disaring menggunakan kain saring untuk memeras sisa ekstrak di belut. Setelah disaring, ekstrak disentrifugasi selama 60 menit dengan kecepatan 6000 rpm. Akan terbentuk lapisan fase minyak, air, dan gumpalan yang berada di bawah. kemudian diambil fase minyak dan fase air (Andrie, 2017).

Salep ekstrak belut dibuat dengan menghomogenkan ekstrak belut (*Monopterus albus*) dengan masing-masing konsentrasi yakni 2%, 5%. Ekstrak belut (*Monopterus albus*) tersebut diformulasikan dengan bahan dasar salep PGA dan vaselin album yang dibuat masing-masing sebanyak 100 gram. Pencampuran dilakukan menggunakan alat mortar dan disimpan ke dalam tube serta diberi label. Basis salep yang digunakan adalah kombinasi antara PGA dan *vaseline album* dengan perbandingan 1:4. Salep dibuat pada konsentrasi yang berbeda-beda, dibutuhkan komposisi sebagai berikut:

- a) Salep ekstrak belut 2% : 2 g ekstrak belut + 98 g basis salep (19,6 PGA + 78,4 g *vaseline album*). Setelah itu, salep diletakkan pada pot salep dan diberi label.

- b) Salep ekstrak belut 5% : 5 g ekstrak belut + 95 g basis salep (19 PGA + 76 g *vaseline album*). Setelah itu, salep diletakkan pada pot salep dan diberi label.

#### 4.6.3 Pembuatan Luka Insisi pada Hewan Coba

Hewan coba diadaptasikan pada kondisi laboratorium selama 7 hari, kemudian dikelompokkan menjadi 4 kelompok, masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus (*Rattus norvegicus*). Tikus (*Rattus norvegicus*) diberi tanda pada bagian ekor dengan spidol *waterproof*. Pada hari ke delapan, insisi diberikan pada tikus (*Rattus norvegicus*) sepanjang 2 cm dengan kedalaman hingga subkutan pada daerah dorsal berjarak 0,5 cm dari kanan os vertebrae. Sebelum dilakukan insisi, lokasi insisi dicukur dari rambut hingga bersih, dioles kapas yang diberik alkohol 70% untuk sterilisasi serta dilakukan injeksi anestesi menggunakan ketamine dan xylazine secara IM untuk mempermudah peneliti dalam memberi perlakuan insisi pada hewan coba. Tikus dilakukan anestesi menggunakan kombinasi ketamin (dosis 40 mg/kgBB, konsentrasi 100 mg/mL) dan xylazine (dosis 5 mg/kgBB, konsentrasi 20 mg/mL) secara intramuskular (Plumb, 2008).

Luka tikus diberi terapi rutin setiap harinya sebanyak 2 kali. Pemberian pakan dan air minum dilakukan secara *ad libitum*, dan tikus diusahakan ada posisi yang nyaman serta leluasa untuk bergerak. Kandang juga harus dibersihkan secara rutin, mendapatkan cahaya, kelembaban, suhu yang cukup dan jauh dari kebisingan. Kandang yang digunakan adalah kandang individu.

#### 4.6.4 Pemberian Terapi Salep Ekstrak Belut (*Monopterus albus*)

Masing-masing tikus (*Rattus norvegicus*) diberi terapi dua kali sehari setiap pagi dan sore. Salep ekstrak belut diberikan topikal, yaitu dengan cara

mengoleskan tipis pada lokasi luka. Kelompok K- tidak diinsisi dan tidak diberi terapi apapun. Kelompok K+ diinsisi namun tidak diberikan terapi apapun. Kelompok P1 diberikan terapi salep ekstrak belut 2%. Kelompok P2 diberikan terapi salep ekstrak belut 5%. Setelah dioleskan salep ekstrak belut, lokasi luka segera ditutup dengan kasa steril agar tidak terkontaminasi. Lama terapi yang diberikan adalah 14 hari, yaitu pada hari ke-8 hingga hari ke-21.

#### **4.6.5 Pengambilan dan Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit**

Euthanasia dan pengambilan jaringan kulit hewan coba dilakukan 14 hari setelah insisi atau hari ke-21. Euthanasia tikus dilakukan dengan metode *dislokasio os cervicalis*, karena menurut Suckow *et al.* (2006) *American Veterinary Medical Association* (AVMA) merekomendasikan metode tersebut pada tikus yang memiliki berat badan  $\leq 200$  g, karena jika berat badan tikus lebih berat maka akan terdapat massa otot yang besar di area servikal sehingga menyulitkan dislokasi servikal. Kemudian mengeksisi bagian luka yang sembuh dan melibatkan sedikit jaringan kulit normal sekitar 0,5 cm dari tepi luka. Eksisi kemudian dimasukkan pada larutan formalin 10% sebelum dilakukan pembuatan preparat histologi.

Pembuatan preparat histopatologi kulit diawali dengan fiksasi jaringan, dimana eksisi biopsi kulit direndam dalam formalin 10% selama kurang lebih 18-24 jam. Setelah itu, jaringan segera dimasukkan pada akuades selama satu jam agar bersih dari larutan fiksasi. Tahap selanjutnya adalah dehidrasi, dimana eksisi biopsi dimasukkan pada larutan alkohol bertingkat 70% (30 bagian akuades + 70

alkohol absolut), 80% (20 bagian akuades + 80 alkohol absolut), 90% (10 bagian akuades + 90 alkohol absolut) dan 100%. Tahapan ini bertujuan agar memudahkan paraffin cair masuk dan mengisi ruang yang ada pada sel. Jaringan yang sudah lebih jernih tersebut dimasukkan dalam alkohol-xylol selama satu jam, dan xylol murni selama 2 x 2 jam. Potongan jaringan tersebut bisa dimasukkan pada paraffin cair selama 2 x 2 jam.

Potongan jaringan yang telah dimasukkan pada paraffin cair ditunggu hingga memadat. Jaringan dalam paraffin tersebut dipotong dengan ketebalan 4 mikron dengan menggunakan mikrotom. Potongan jaringan tersebut bisa diletakkan pada object glass yang telah dilapisi polylysine sebagai perekat. Jaringan yang telah ada pada object glass tersebut dipanaskan pada inkubator bersuhu 56°C – 58 °C agar paraffin di dalamnya dapat mencair kembali. Potongan sediaan histopatologi tersebut diwarnai dengan pewarna HE (*Hematoxyline Eosin*) agar inti sel bisa nampak berwarna biru (basofilik) dan sitoplasma dan jaringan penyambungannya berwarna merah muda (eosinofilik). Pewarnaan dilakukan dengan cara deparaffinasi dengan xylol, dilanjutkan rehidrasi dengan alkohol turun bertingkat 95%, 90%, 80% dan 70% masing-masing selama 5 menit. Kemudian jaringan tersebut dicuci dengan air mengalir selama 15 menit dan akuades selama 5 menit. Jaringan kemudian diwarnai dengan pewarna HE selama 10 menit, dicuci dengan air mengalir selama 30 menit dan akuades selama 5 menit. Jaringan yang terwarnai tersebut kemudian diberi perlakuan dehidrasi kembali dengan alkohol bertingkat 70%, 80%, 90% dan 95% masing-masing selama 5 menit. Lalu, dilanjutkan dengan tahap clearing dengan larutan xylol I, II,

dan III selama 3 menit. Tahap terakhir dari pembuatan preparat histologi adalah dilakukan mounting dengan larutan Entelan serta ditutup *coverglass*.

#### **4.6.6 Perhitungan Jumlah Sel Radang**

Perhitungan jumlah sel radang bisa dilakukan pada preparat histopatologi yang dibuat sebelumnya, dengan pengamatan dilakukan pada lapisan dermis di sekitar luka. Preparat kulit diwarnai dengan pewarnaan HE, dan menghitung sel radang yang ada. Sel radang PMN ditandai dengan sel yang terdapat segmen atau lobus inti yang jumlahnya berkisar 2-4 buah. Inti sel PMN akan terisi penuh oleh butir-butir kromatin padat sehingga sangat mengikat zat warna basa menjadi biru atau ungu. Sel radang MN ditandai bentuk inti yang dapat berbentuk oval, seperti tapal kuda atau seperti terlipat. Sitoplasma monosit tampak berwarna biru keabuan. Pengamatan histopatologi dilakukan menggunakan mikroskop cahaya (Olympus® BX51) dengan perbesaran 400x pada 5 lapang pandang (Zayyan, dkk., 2016).

#### **4.6.7 Pembuatan dan Perhitungan Ekspresi *Interleukin 1 (IL-1)* dengan pewarnaan Imunohistokimia (IHK)**

Metode pewarnaan imunohistokimia dilakukan untuk mengamati ekspresi IL-1 pada jaringan histopatologi yang diamati. Pewarnaan imunohistokimia meliputi beberapa tahap preparasi, antara lain preparasi gelas obyek, pelapisan (coating) gelas obyek dengan neufron (agen penempelan), penempelan preparat irisan pada gelas obyek dan prosedur pewarnaan imunohistokimia yaitu dengan memilih preparat irisan yang paling bagus, kemudian dilakukan perlakuan sesuai

prosedur. Slide dideparafinasi dengan cara memasukkan slide ke dalam xylol III sampai I masing-masing selama 7-10 menit dengan tujuan untuk menghilangkan parafin yang terdapat di dalam jaringan. Kemudian slide direhidrasi dengan cara memasukkan slide ke dalam alkohol absolute 95%, 90%, 85%, 80%, 70% masing-masing selama 7-10 menit, kemudian slide dicuci menggunakan aquades selama 5 menit (3x). Kemudian ditetaskan peroksidase pada slide sebanyak 1 tetes dan diinkubasi didalam chamber selama 40 menit dengan suhu ruang. Setelah diinkubasi selama 40 menit, slide dicuci dengan menggunakan PBS (phospat buffer saline) selama 5 menit (3x).

Permukaan slide di sekitar jaringan dikeringkan menggunakan kertas tisu dengan tetap menjaga jaringan untuk tidak kering, kemudian dilakukan blocking dengan menggunakan serum FBS dan Tritone X 100 sebanyak 30  $\mu$ L dan diinkubasi pada suhu 4°C selama 1 malam. Selanjutnya slide dicuci dengan PBS selama 5 menit (3x). Slide diberi antibodi/Ab primer IL-1 sebanyak 30  $\mu$ L dan slide diletakkan didalam chamber lalu diinkubasi dalam refigator suhu 4°C selama 1 malam. Slide kemudian dicuci kembali menggunakan PBS selama 5 menit (3x). Kemudian ditetaskan antibodi/Ab sekunder yaitu universal antibodi sekunder sebanyak 1 tetes per jaringan pada slide, dimasukkan ke dalam chamber dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit. Slide dicuci kembali dengan PBS selama 5 menit (3x), kemudian dilakukan pemberian SAHRP dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 40 menit. Slide dicuci kembali dengan menggunakan PBS selama 5 menit (2x) dan yang terakhir dicuci menggunakan aquades 5 menit (1x). Slide dilakukan pemberian DAB (3,3- diaminobenzidine) sebanyak 10 mg dalam

tris buffer (50 cc) yang dicampur dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (50 µL) selama maksimal 40 menit. Slide kemudian dicuci menggunakan Aquades (*stopping point*) selama 5 menit (3x). Slide diwarnai dengan menggunakan pewarnaan Mayer, selanjutnya sediaan histologis siap diamati di bawah mikroskop.

Perhitungan ekspresi IL-1 dilakukan dengan mikroskop perbesaran 400x dengan lima bidang pandang pengamatan. Pengamatan dilakukan pada sel radang dan jaringan di sekitarnya, kemudian hasil pengamatan difoto. Hasil foto dari mikroskop diproses menggunakan *software imumnoratio* untuk menghitung peningkatan ekspresi IL-1 yang ditandai dengan peningkatan presentasi luas daerah yang terwarnai (Janquiera *and* Carneiro, 2007).

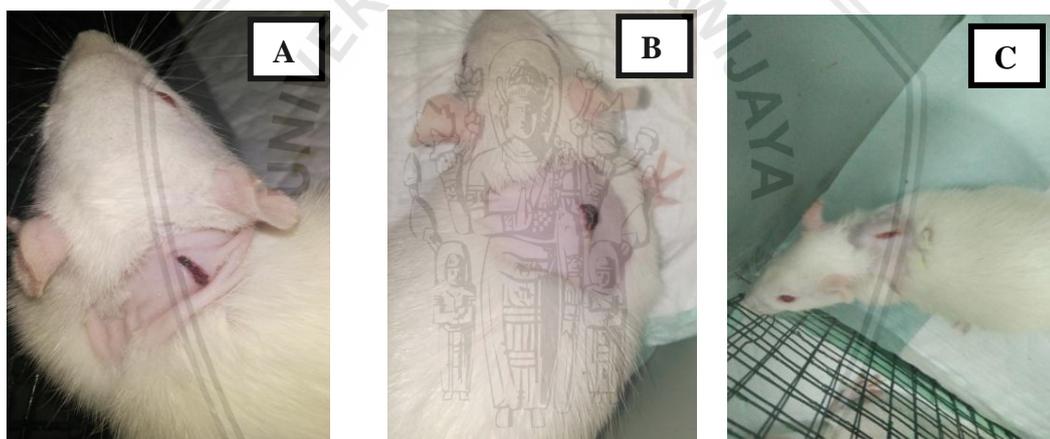
#### 4.6.8 Analisis Data

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah jumlah sel radang dan ekspresi IL-1. Analisa kedua parameter tersebut dilakukan dengan metode kuantitatif. Data kuantitatif yang didapat dari seluruh perlakuan diolah secara statistik menggunakan aplikasi khusus statistika SPSS for Windows 25®. Uji yang digunakan adalah uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* ( $p > 0,05$ ), uji homogenitas ( $p > 0,05$ ) dan uji *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan perbandingan berganda uji *Tukey/ Beda Nyata Jujur* (BNJ)  $\alpha = 0,05$  (Kusriningrum, 2008).

## BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Pengaruh Terapi Salep Ekstrak Belut (*Monopterus albus*) terhadap Luka Insisi pada Tikus Berdasarkan Gambaran Makroskopis

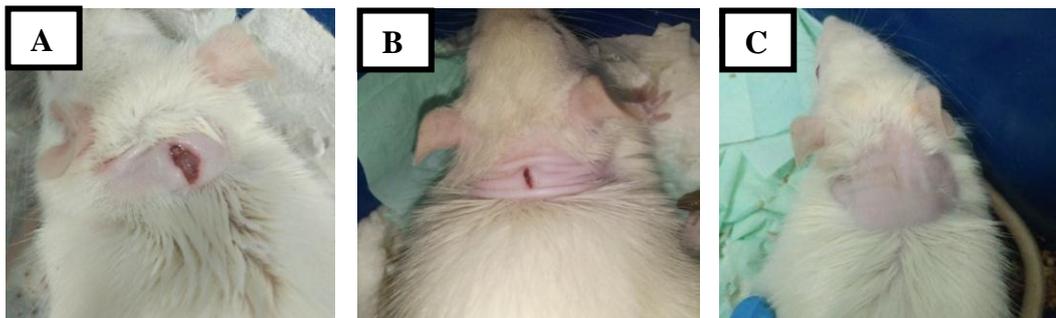
Gambaran makroskopis pada luka kelompok positif (K+) yang diberi perlakuan insisi tanpa diberi terapi menunjukkan perbedaan pada luas luka seperti **Gambar 5.1**. Kelompok positif menunjukkan hasil luka insisi belum menutup sempurna dan tidak ada pertumbuhan rambut di sekeliling luka pada hari ke 14 pasca operasi.



**Gambar 5.1** Tikus (*Rattus norvegicus*) Kelompok Positif (K+) Diinsisi Tanpa Diberi Terapi

Keterangan : **A.** Hari ke 3 luka masih lebar, terdapat keropeng ditepi luka, dan luka masih tampak berwarna merah tanda luka masih berada dalam fase inflamasi **B.** Hari ke 7 luka ditutupi oleh keropeng pertanda luka sudah memasuki fase proliferasi. **C.** Hari ke 14 luka masih terbuka luka terlihat sudah mengecil

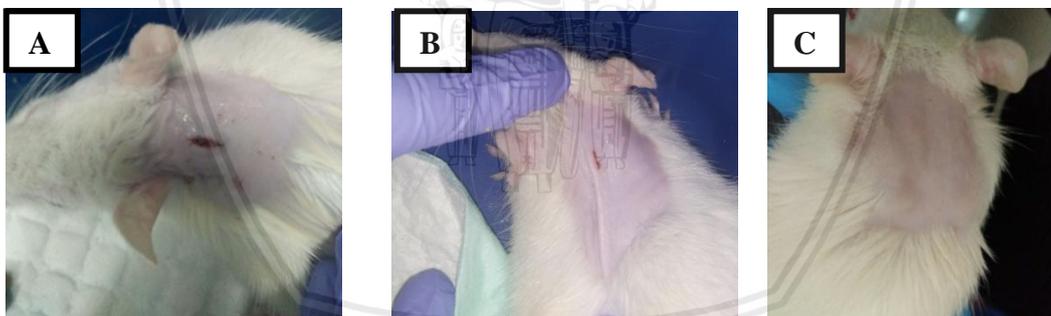
Gambaran makroskopis pada luka insisi kelompok perlakuan 1 (P1) menggunakan salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) dengan konsentrasi 2% menunjukkan perbedaan pada luas luka seperti **Gambar 5.2**. Pada kelompok P1 luka terlihat mulai tertutup pada hari ke 14 pasca terapi dan mulai ditumbuhi rambut di sekitar luka.



**Gambar 5.2** Tikus (*Rattus norvegicus*) Kelompok Perlakuan 1 (P1) Terapi Salep Ekstrak Belut (*Monopterus albus*) 2%

Keterangan : **A.** Hari ke 3 luka masih lebar dan masih tampak berwarna merah tanda luka masih berada dalam fase inflamasi **B.** Hari ke 7 luka tampak sudah mengecil dan sudah tidak berwarna kemerahan pertanda luka sudah memasuki fase proliferasi dan ditumbuhi oleh rambut. **C.** Hari ke 14 luka tampak mulai menutup

Gambaran makroskopis pada luka insisi kelompok perlakuan 2 (P2) menggunakan salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) dengan konsentrasi 5% menunjukkan perbedaan pada luas luka seperti **Gambar 5.3.**



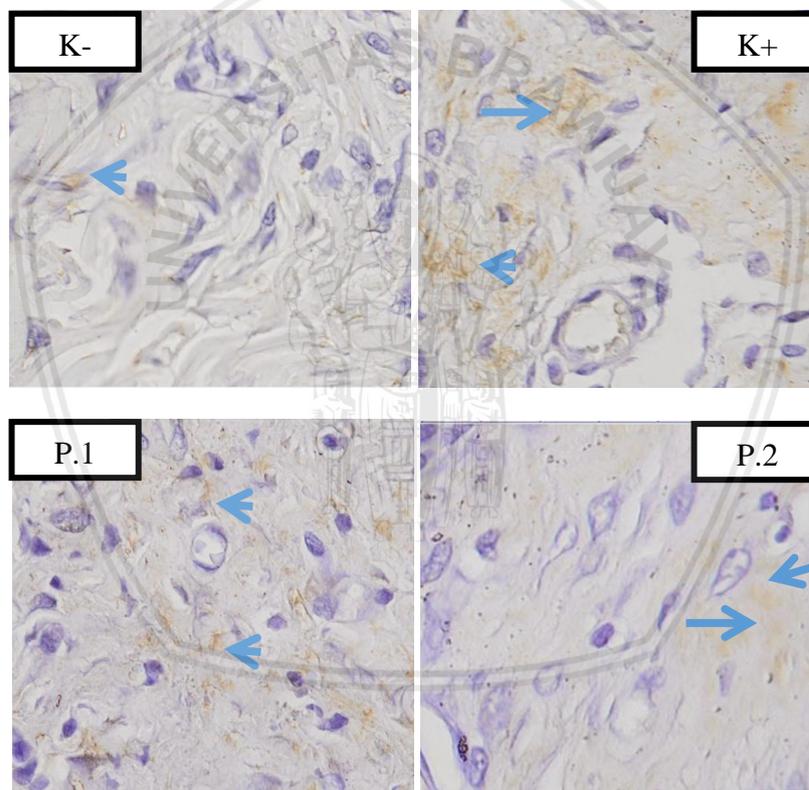
**Gambar 5.3** Tikus (*Rattus norvegicus*) Kelompok Perlakuan 2 (P2) Terapi Salep Ekstrak Belut (*Monopterus albus*) 5%

Keterangan : **A.** Hari ke 3 luka mulai menutup namun masih tampak berwarna merah tanda luka masih berada dalam fase inflamasi **B.** Hari ke 7 luka tampak sudah mengecil dan sudah tidak berwarna kemerahan pertanda luka sudah memasuki fase proliferasi dan ditumbuhi oleh rambut. **C.** Hari ke 14 luka tampak mulai menutup dan tampak ditumbuhi rambut

Luka yang terlihat paling cepat menutup adalah kelompok perlakuan 2 (P2). Kelompok perlakuan 2 (P2) diberikan terapi salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) 5% menunjukkan luka tertutup sempurna tanpa bekas luka pada hari ke 14.

## 5.2 Pengaruh Terapi Salep Ekstrak Belut (*Monopterus albus*) pada Luka Insisi pada Tikus (*Rattus norvegicus*) terhadap Jumlah *Interleukin 1* (IL-1) pada Kulit

Hasil ekspresi *Interleukin 1* (IL-1) pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi terapi salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) dengan teknik IHK ditunjukkan dengan ekspresi warna kecoklatan pada jaringan dermis yang dapat dilihat pada **Gambar 5.4**. Adanya warna coklat diakibatkan oleh adanya ikatan antara antigen dan antibodi.



**Gambar 5.4** Ekspresi IL-1 Jaringan Dermis Kulit Tikus (*Rattus norvegicus*) dengan Metode Imunohistokimia (IHK) (Perbesaran 400x)

Keterangan: K(-) kelompok tidak diinsisi, K(+) kelompok diinsisi dan tidak diberikan terapi, (P1) kelompok diinsisi dan diberi terapi salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) konsentrasi 2%, (P2) kelompok diinsisi dan diberi terapi salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) konsentrasi 5%. Tanda panah ↑ menunjukkan ekspresi IL-1

Sitokin IL-1 tersebar pada jaringan ikat di bagian dermis seperti yang terlihat pada **Gambar 5.4**. Hasil pewarnaan immunohistokimia pada tikus kontrol negatif (K-) menunjukkan warna coklat yang berarti terdapat IL-1 pada jaringan kulit. Pada kelompok kontrol negatif (K-), ekspresi IL-1 yang ada pada tikus kontrol negatif adalah normal karena secara alami sitokin IL-1 terdapat dalam tubuh dalam jumlah relatif sedikit sebagai komponen imunitas tubuh, dan hanya akan meningkat jika kulit tersebut mengalami luka atau suatu penyakit. Ekspresi IL-1 tertinggi ditunjukkan oleh kelompok tikus kontrol positif (K+) (**Gambar 5.4**), di mana kontrol positif (K+) merupakan kelompok dengan perlakuan tanpa diberikan terapi yang menunjukkan ekspresi IL-1 dengan warna coklat di sekitar makrofag. Hal tersebut dikarenakan proses kesembuhan luka belum memasuki fase proliferasi yang optimal, sehingga masih banyak terdapat IL-1 di kulit. Sitokin IL-1 akan terekspresi dari makrofag yang aktif karena mengenali antigen yang masuk ke kulit pada saat luka insisi. Meningkatnya ekspresi IL-1 pada kulit menunjukkan terjadinya inflamasi pada jaringan kulit akibat perlakuan insisi, sehingga menyebabkan aktivasi makrofag. Sedangkan pada **Gambar 5.4** (P.1) dan (P.2) menunjukkan adanya penurunan ekspresi IL-1 di kulit, dibandingkan **Gambar 5.4** (K+).

Hasil ekspresi IL-1 diukur menggunakan *software immunoratio*, kemudian dianalisa statistik dengan metode *one-way* ANOVA sehingga didapatkan nilai  $p < 0,05$ , kemudian dilanjutkan dengan uji Tukey  $\alpha = 0,05$  terhadap ekspresi IL-1 dapat dilihat pada **Tabel 5.1**

**Tabel 5.1** Hasil Analisis Statistika terhadap Ekspresi *Interleukin 1* (IL-1)

Kelompok	Rata-rata Area Ekspresi IL-1 (Rata-rata $\pm$ SD)	Penurunan terhadap K(+) (%)	Peningkatan terhadap K(-) (%)
Kontrol negatif (K-)	10,34 $\pm$ 1,52 <sup>a</sup>	-	-
Kontrol positif (K+) (Tanpa terapi)	44,15 $\pm$ 3,97 <sup>c</sup>	-	326,98%
Perlakuan 1 (P1) (Terapi 2%)	25,99 $\pm$ 2,52 <sup>b</sup>	41,13%	-
Perlakuan 2 (P2) (Terapi 5%)	11,83 $\pm$ 1,94 <sup>a</sup>	73,20%	-

Keterangan : Perbedaan notasi a,b,c menunjukkan adanya perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ ) antar kelompok.

Data hasil analisa statistik (**Tabel 5.1**) menunjukkan bahwa terapi salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) signifikan ( $p < 0,05$ ) menurunkan ekspresi IL-1 pada luka insisi yang ditunjukkan dengan notasi yang berbeda dan dosis efektif adalah terapi dosis 5% (P2). Pada kelompok (K+) menunjukkan adanya peningkatan IL-1, hal ini disebabkan karena adanya inflamasi pada jaringan kulit pasca insisi dan tidak diberi terapi apapun untuk membantu meredakan inflamasi. Pada kelompok terapi (P1 dan P2) menunjukkan adanya penurunan ekspresi IL-1. Hal ini karena ekstrak belut mengandung asam lemak yang bersifat anti inflamasi sehingga dapat mengurangi respon inflamasi pasca luka insisi.

Ekspresi IL-1 pada kelompok (K+) terjadi peningkatan karena terjadi inflamasi pada jaringan kulit akibat perlakuan insisi, sehingga menyebabkan makrofag teraktivasi. Makrofag memicu sekresi sitokin pro inflamasi seperti IL-1 yang berperan untuk merekrut sel radang dari sirkulasi darah menuju jaringan. Sel radang yang muncul pada awal fase inflamasi adalah neutrofil yang berfungsi dalam fagositosis sel (Butterfield *et al.*, 2004). Sitokin IL-1 diproduksi oleh makrofag sebagai mediator inflamasi untuk rekrutmen sel radang saat inflamasi

berlangsung. Sitokin pro inflamasi akan menandai inflamasi berlangsung dengan menginisiasi sel radang neutrofil dan monosit masuk ke dermis dari sel endotel untuk mengaktifkan sistem imun dengan fagositosis (Baratawidjaja, 2006). Sitokin IL-1 akan merangsang permeabilitas endotel sehingga leukosit dapat bermigrasi dari sirkulasi darah menuju jaringan yang luka. Sitokin IL-1 bekerja dengan cara merangsang reseptor pada permukaan endotel yang kemudian akan dikenali oleh leukosit sehingga neutrofil bergerak ke dinding pembuluh darah dan selanjutnya ke jaringan luka untuk memfagositosis (Baratawidjaja, 2009).

Ekspresi IL-1 pada kelompok perlakuan 1 (P1) dengan terapi salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) 2% menunjukkan penurunan ekspresi IL-1 dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (K+). Hal ini terjadi akibat kandungan asam lemak belut (omega 3) yaitu anti inflamasi yang dapat menghambat infiltrasi dari sel radang (neutrofil) dengan cara menghambat enzim siklooksigenase pada inflamasi, sehingga produksi prostaglandin dapat berkurang. Penekanan prostaglandin sebagai mediator inflamasi dapat menyebabkan berkurangnya nyeri dan pembengkakan, mengurangi vasodilatasi pembuluh darah dalam aliran darah lokal, sehingga migrasi sel radang akan menurun (Balqis, dkk., 2014). Penurunan sel radang akan menghentikan fase inflamasi dan makrofag akan berkerja dalam pembentukan *growth factor*. Saat fase inflamasi berakhir, akan terjadi penurunan sitokin IL-1 dan fase penyembuhan dapat dilanjutkan menuju fase proliferasi sehingga kemungkinan luka sembuh lebih besar.

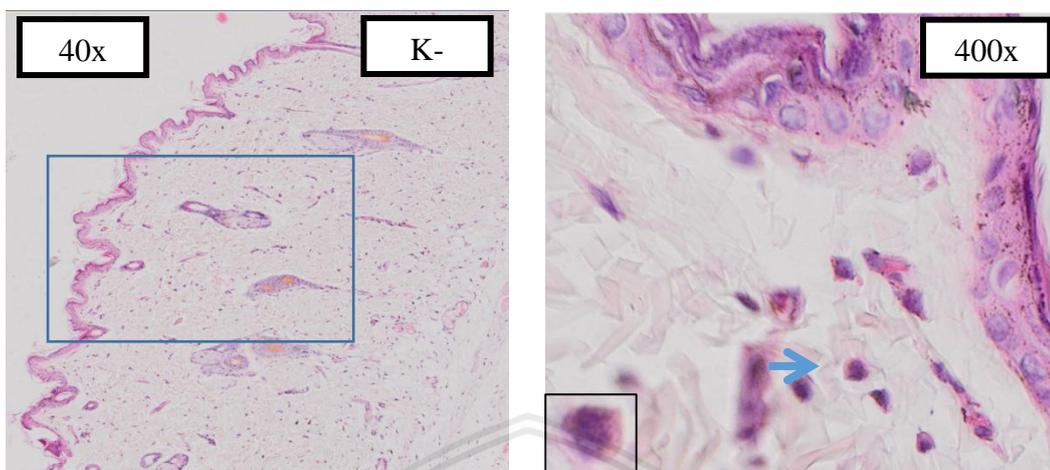
Ekspresi IL-1 pada kelompok perlakuan 2 (P2) yang diberi terapi salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) 5% menunjukkan ada penurunan ekspresi IL-1

dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (K+) dan kelompok perlakuan 1 (P1), serta menunjukkan penurunan ekspresi IL-1 mendekati kelompok kontrol negatif (K-). Hal ini disebabkan konsentrasi kandungan dari asam amino dan asam lemak yang tinggi pada terapi salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) 5%.

Pada penelitian ini, pemberian salep ekstrak belut 5% menunjukkan hasil yang signifikan karena hasil ekspresi IL-1 pada kelompok P2 (5%) tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif (K-). Sehingga dapat disimpulkan kelompok perlakuan 2 yang diberi dosis 5% merupakan kelompok dengan dosis terbaik dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lain.

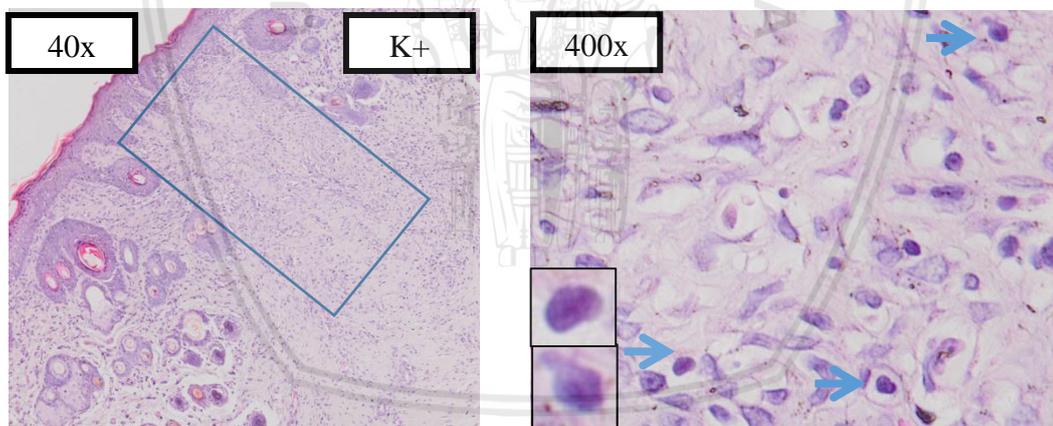
### **5.3 Pengaruh Terapi Salep Ekstrak Belut (*Monopterus albus*) terhadap Luka Insisi pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Berdasarkan Jumlah Sel Radang pada Kulit**

Hasil pemberian terapi salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) dilihat dari jumlah sel radang pada tikus (*Rattus norvegicus*) dilakukan dengan pewarnaan HE (*Hematoxyline-eosin*) Neutrofil merupakan sel radang polimorfonuklear, terlihat memiliki nukleus dengan 3-5 lobus yang dihubungkan dengan benang kromatin, dengan sitoplasma berwarna ungu. Makrofag merupakan sel radang mononuklear dan memiliki inti oval, seperti tapal kuda atau terlipat dengan warna sitoplasmanya biru keabu-abuan. Data dianalisa secara kuantitatif menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x pada lima lapang pandang.



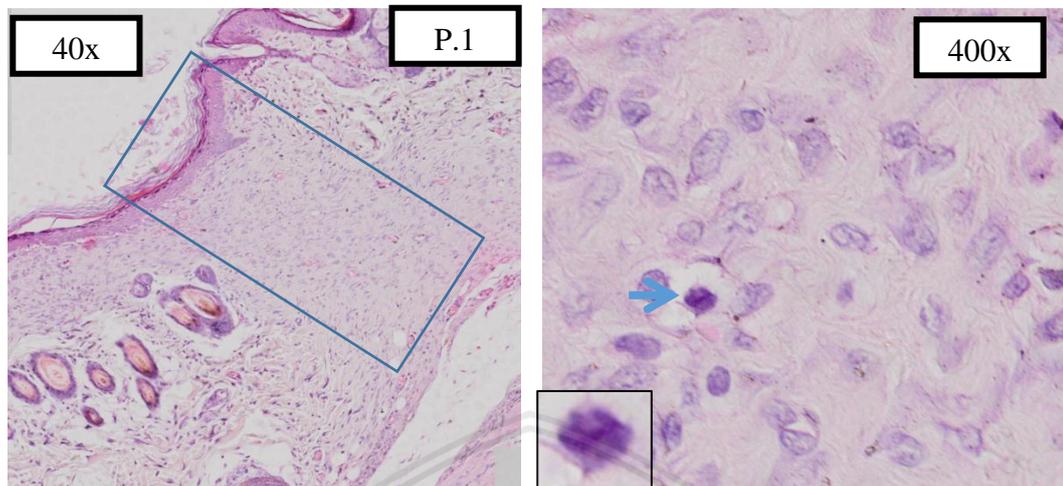
**Gambar 5.5** Gambaran histopatologi jaringan kulit tikus dengan pewarnaan HE kelompok kontrol negatif(K-) dengan perbesaran 40X (kiri) dan 400X (kanan)

Keterangan: ↑ : menunjukkan sel radang. □ : jaringan normal. Jaringan tidak mengalami kerusakan sehingga tidak ada bekas insisi. Jumlah sel radang sangat sedikit. Terdapat sel radang di daerah dermis berupa makrofag.



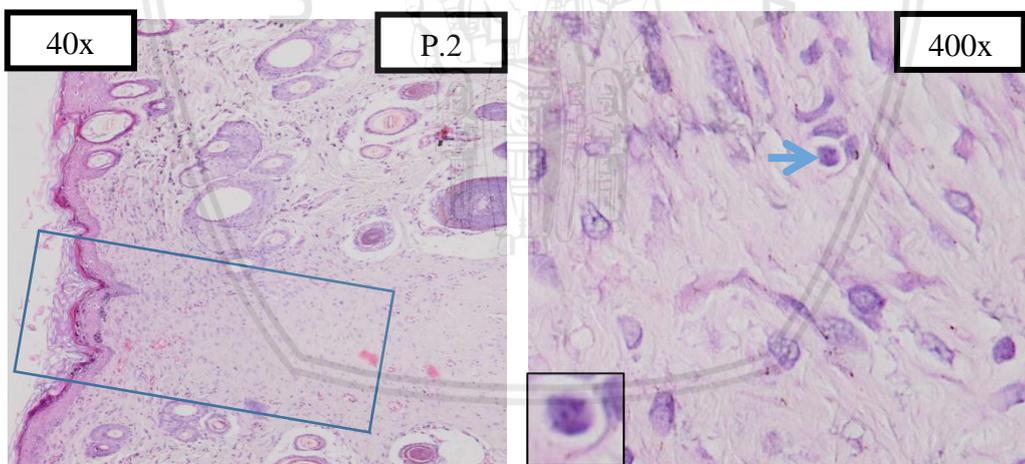
**Gambar 5.6** Gambaran histopatologi jaringan kulit tikus dengan pewarnaan HE kelompok kontrol positif (K+) dengan perbesaran 40X (kiri) dan 400X (kanan)

Keterangan: □ : menunjukkan area luka insisi yang diperbesar dan ↑ : menunjukkan sel radang. Terdapat sel radang di daerah dermis luka insisi berupa neutrofil dan makrofag



**Gambar 5.7** Gambaran histopatologi jaringan kulit tikus dengan pewarnaan HE kelompok terapi salep ekstrak belut 2% (P1) dengan perbesaran 40X (kiri) dan 400X (kanan)

Keterangan:  : menunjukkan area luka insisi yang diperbesar dan ↑ : menunjukkan sel radang. Terdapat sel radang di daerah dermis luka insisi berupa makrofag.



**Gambar 5.8** Gambaran histopatologi jaringan kulit tikus dengan pewarnaan HE kelompok terapi salep ekstrak belut 5% (P2) dengan perbesaran 40X (kiri) dan 400X (kanan)

Keterangan:  : menunjukkan area luka insisi yang diperbesar dan ↑ : menunjukkan sel radang. Terdapat sel radang di daerah dermis luka insisi berupa makrofag.

Hasil pengamatan histopatologi kulit menunjukkan adanya sel radang pada setiap kelompok perlakuan. Gambaran histopatologi kulit normal bagian dermis

terlihat ada sedikit sel radang pada kontrol negatif (K-) seperti pada **Gambar 5.5** Kelompok K- menggambarkan kondisi kulit yang normal dan tidak memiliki bekas insisi seperti kelompok lain sehingga dapat dijadikan pembandingan dengan kelompok terapi. Sel radang secara normal ada di dalam jaringan namun dalam jumlah sangat sedikit dan berfungsi untuk kepentingan imunitas. Pada **Gambar 5.6** kontrol positif (K+) merupakan kelompok dengan perlakuan tanpa diberikan terapi yang menunjukkan jumlah sel radang yang paling banyak dibandingkan dengan kontrol K-, kelompok P1 dan kelompok P2. Sedangkan kelompok P1 (**Gambar 5.7**) dan P2 (**Gambar 5.8**) merupakan kelompok terapi yang diberi perlakuan insisi dan terapi salep ekstrak belut masing masing 2% dan 5%. Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistika dengan metode *one-way* ANOVA sehingga didapatkan nilai  $p < 0,05$ , kemudian dilanjutkan dengan uji Tukey  $\alpha = 0,05$  terhadap jumlah sel radang dapat dilihat pada **Tabel 5.2**

**Tabel 5.2** Hasil Analisis Statistika terhadap Jumlah Sel Radang

Kelompok	Rata-rata Jumlah Sel Radang (Sel) (Rata-rata $\pm$ SD)	Penurunan terhadap K(+)(%)	Peningkatan terhadap K(-)(%)
Kontrol negatif (K-)	4,90 $\pm$ 0,74 <sup>a</sup>	-	-
Kontrol positif (K+) (Tanpa terapi)	18,20 $\pm$ 1,04 <sup>c</sup>	-	271,42
Perlakuan 1 (P1) (Terapi 2%)	13,70 $\pm$ 1,35 <sup>b</sup>	24,72	-
Perlakuan 2 (P2) (Terapi 5%)	5,80 $\pm$ 1,04 <sup>a</sup>	68,13	-

Keterangan : Perbedaan notasi a,b,c menunjukkan adanya perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ ) antar kelompok.

Data hasil analisa statistik menunjukkan (**Tabel 5.2**) menunjukkan bahwa terapi salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) secara signifikan ( $p < 0,05$ ) menurunkan jumlah sel radang yang ditunjukkan dengan notasi yang berbeda.

Pada kelompok (K-) jumlah sel radang paling sedikit. Sel radang berfungsi untuk fagositosis. Pada keadaan normal, sel radang ada pada kulit sebagai imunitas alami dari dalam tubuh dengan jumlah rendah. Hal ini dikarenakan sel radang seperti makrofag memiliki peran penting dalam homeostasis dan memperbaiki sel-sel yang mengalami apoptosis. Kelompok kontrol positif (K+) terjadi peningkatan jumlah sel radang karena adanya inflamasi pada jaringan kulit pasca insisi dan tidak diberi terapi apapun untuk membantu meredakan inflamasi. Pada kelompok terapi (P1 dan P2) menunjukkan adanya penurunan jumlah sel radang. Hal ini karena ekstrak belut mengandung asam lemak yang bersifat anti inflamasi sehingga dapat mengurangi respon inflamasi pasca luka insisi.

Pada kelompok kontrol positif (K+) terjadi peningkatan jumlah sel radang menunjukkan bahwa luka masih berada dalam tahap inflamasi, yang ditandai dengan infiltrasi sel radang di jaringan yang rusak. Hal ini disebabkan karena fase inflamasi K+ tidak dihambat dengan terapi apapun, sehingga proses peradangan tidak dapat ditekan atau dikurangi. Infiltrasi sel radang terutama neutrofil terjadi pada hari 2-4 pasca terjadinya luka, dan hal ini distimulasi oleh trombosit yang dilepaskan saat terjadi luka untuk menarik sel-sel radang tersebut ke daerah luka. Neutrofil berfungsi untuk membunuh atau memfagositosis bakteri serta kontaminan yang masuk ke daerah luka (Lostapa, dkk., 2016). Jumlah sel radang akan mengalami peningkatan seiring dengan kerusakan jaringan pada fase inflamasi, kemudian akan menurun apabila sudah tidak ada lagi yang perlu difagositosis, dan akan diakhiri fase inflamasi.

Pada kelompok terapi (P1) dengan konsentrasi 2% menunjukkan terjadi penurunan infiltrasi sel radang terhadap kontrol positif (K+). Hal ini menunjukkan bahwa adanya kandungan yang bersifat anti inflamasi pada ekstrak belut (*Monopterus albus*) dapat menurunkan jumlah sel radang. Kelompok terapi (P2) dengan konsentrasi 5% menunjukkan penurunan infiltrasi sel radang sebesar 68,13% terhadap kontrol positif. Penurunan jumlah sel radang ini membuktikan bahwa salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) 5% mampu menurunkan jumlah sel radang dengan efektif yang secara statistik tidak berbeda signifikan ( $p > 0,05$ ) dengan kelompok (K-). Hal ini disebabkan oleh kandungan asam lemak dalam ekstrak belut (*Monopterus albus*) dapat berfungsi sebagai anti inflamasi.

Fase inflamasi akan menyebabkan pelepasan beberapa substansi yang dapat menimbulkan perubahan sekunder dalam jaringan seperti bengkak, kemerahan, dan rasa nyeri. Asam lemak dalam ekstrak belut (*Monopterus albus*) akan menurunkan jumlah sel radang dengan cara menghambat enzim siklooksigenase pada inflamasi, sehingga produksi prostaglandin dapat berkurang. Penekanan prostaglandin sebagai mediator inflamasi dapat menyebabkan berkurangnya nyeri dan pembengkakan, mengurangi vasodilatasi pembuluh darah dalam aliran darah lokal, sehingga migrasi sel radang akan menurun (Balqis, dkk., 2014). Penurunan jumlah sel radang menunjukkan berakhirnya fase inflamasi dalam proses penyembuhan luka untuk kemudian berlanjut ke fase proliferasi. Selain itu belut (*Monopterus albus*) juga memiliki kandungan asam amino glisin dan proline yang ada sebagai penyusun serat kolagen. Hal ini dapat mempengaruhi fibroblas dalam pembentukan kolagen, kemudian fibroblast akan

memproduksi kolagen dalam jumlah besar sehingga akan mempertautkan tepi luka sehingga mampu memperbaiki jaringan yang rusak (Sugiaman, 2011).



## BAB 6 PENUTUP

### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) dapat menurunkan ekspresi IL-1 (*Interleukin 1*) pada luka insisi pada tikus (*Rattus norvegicus*).
2. Salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) dapat menurunkan jumlah sel radang pada luka insisi pada tikus (*Rattus norvegicus*).

### 6.2 Saran

Adapun saran untuk penelitian ini yaitu

1. Perlu dilakukan adanya penelitian lebih lanjut dengan pengamatan histopatologi beberapa interval waktu pada proses kesembuhan luka insisi yang mewakili fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase maturasi.

## DAFTAR PUSTAKA

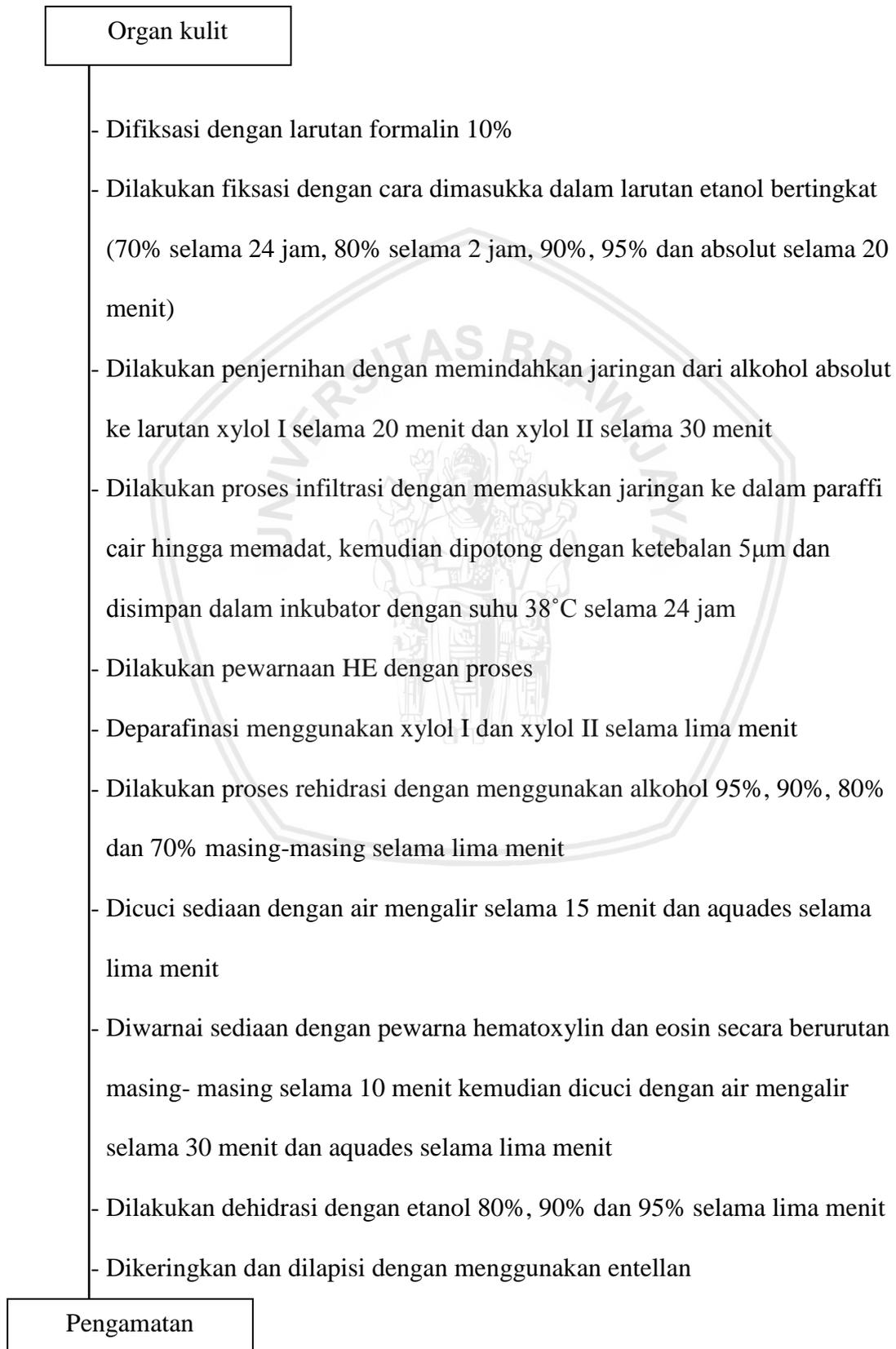
- Abbas, A.K., A.H. Lichtman, S. Pillai. 2007. *Cellular and Molecular Immunology, 6th ed.* Saunders Elsevier.
- Ahyar, Z. 2016. *Pengaruh Ketotifen Terhadap Infiltrasi Sel Mast Dan Luas Luka Incisi Tikus Wistar.* Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta. Surakarta.
- Akbar, B. 2013. *Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas.* Jakarta: Adabia Press.
- Andrie, M., dan D., Sihombing. 2017. *Efektivitas Sediaan Salep yang Mengandung Ekstrak Ikan Gabus (Channa striata) pada Proses Penyembuhan Luka Akut Stadium II Terbuka pada Tikus Jantan Galur Wistar The Effectiveness of Snakehead (Channa striata) Extract-Containing Ointment on Healing Proce. Pharm Sci Res ISSN Pharm Sci Res, 2407–2354 : 90.*
- Balqis, U., Rasmaidar, Marwiyah, 2014. *Gambaran Histopatologis Penyembuhan Luka Bakar Menggunakan Daun Kedondong (Spondias Dulcis F.) Dan Minyak Kelapa Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus).* *Jurnal Medika Veterinaria* Vol. 8 No. 1: 31-36
- Baratawidjaja, K. 2006. *Imunologi Dasar ed 7.* Penerbit FK UI. Jakarta.
- Bratawidjaya dan Rengganis. 2010. *Imunologi Dasar (Edisi ke 9).* Jakarta: FKUI. p. 226.
- Butterfield, T.A., M.B. Thomas, dan A. M. Mark, 2006. *The Dual Roles of Neutrophils and Macrophages In Inflammation. A Critical Balance Between Tissue Damage and Repair.* *Journal Of Athletic Training* 41(4):457-465.
- Contassot, E., H. Beer, L. E. French. 2012. *Interleukin-1, inflammasomes, autoinflammation and the skin.* *Swiss Med Wkly* 142: 1-10.
- Indriani, M. 2017. *Pengaruh Konsentrasi Ph Buffer Giemsa Terhadap Morfologi Leukosit Pada Preparat Sumsung Tulang.* Health Analyst DIV Major on Faculty of Nursing and Health Science University of Muhammadiyah Semarang. Semarang.
- Kalangi, S. J. 2013. *Histofisiologi Kulit.* *Jurnal Biomedik.* 5 (3) : S12-S20
- Kusriningrum, R. S. 2008. *Buku Ajar Perancangan Percobaan.* Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Dani Abadi: Surabaya
- Li, J., J. Chen and R. Kirsner. 2007. *Pathophysiology of Acute Wound Healing.* *Clinics in Dermatology.* 25 : 8-9.

- Liu, E., and F. Jianglin. 2018. *Fundamental of Laboratory Animal Science*. CRC Press., Florida, 140
- Lostapa, I W. F. W., Wardhita, A. A. G. J., Pemayun, I. G.A. G. P., Sudimartini, L. M., 2016. *Kecepatan Kesembuhan Luka Insisi Yang Diberi Amoksisilin Dan Asam Mefenamat Pada Tikus Putih*. Denpasar: Buletin Veteriner Udayana Vol. 8 No. 2: 172-179
- Muktiani. 2012. *Seri Peternakan Modern: Menggeluti Bisnis Belut*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- Mulyani, D., Febriyenti dan A. Almahdy. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Belut (*Monopterus albus*) pada Penyembuhan Luka Bakar Tikus Putih Jantan Sprague-Dawley. *Ikatan Apoteker Indonesia: Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 2(2), 191-194.
- Pacheco, M. M. 2018. *Atlas of Plant and Animal Histology*. Departement of Functional Biology and Health Sciences. Faculty of Biology University of Vigo. Spain
- Pavletic, M. M. 2010. *Atlas of Small Animal Wound Management and Reconstructive Surgery 3rd Edition*. Willey-Blackwell Saunders.
- Plumb, D. 2008. *Plumb's Veterinary Drug Handbook*. Blackwell Publishing.
- Priyambodo S, 2007. *Pengendalian Hama Tikus Terpadu*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Purnama, Handi. Sriwidodo, R. Soraya. 2017. *Review Sistemik: Proses Penyembuhan Dan Perawatan Luka*. Bandung: Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran.
- Rajan V, R. Murray. *The Duplicitous Nature Of Inflammation In Wound Repair*. *Wound Pract Res*. 2008;16(3):122-9
- Rukmana, R. 2003. *Budi Daya Belut*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sihombing, M., Raflizar. 2010. *Status Gizi dan Fungsi Hati Mencit (Galur CBS-SWISS) dan Tikus Putih (Galur Wistar) di Laboratorium Hewan Percobaan Puslitbang Biomedis dan Farmasi*. Media Litbang Kesehatan Volume XX Nomor 1.
- Sinambela, H. Y., P. Liza, S. Rafika. 2012. *Optimasi Formulasi Sediaan Salep Minyak Ikan Gabus (Channa Striata Bloch) Sebagai Obat Luka Sayat Dengan Metode Simplex Lattice Design*. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.
- Subowo. 2009. *Histologi Umum*. CV Sagung Seto. Jakarta
- Subowo. 2009. *Imunobiologi*. Edisi 2. Sagung Seto, Jakarta.
- Suckow, M.A., S. H. Weisbroth and C. L. Franklin. 2006. *The Laboratory Rat*. Elseiver Academic Press. London

- Sugiaman, V. K. 2011. Peningkatan Penyembuhan Luka di Mukosa Oral Melalui Pemberian Aloe Vera (Linn.) Secara Topikal. *JKM*, 11 (1), 70-79
- Sundoro, R. M. Sonson. 2008. *Belut: Budi Daya & Pemanfaatannya*. Jakarta: AgroMedia Pustaka.
- Susatyo, P. dkk. 2018. Reproduction Characteristics of Rice Field Eel (Monopterus albus Zuiew) on Several Functionally Changed Lands in Banyumas Regency. *The Journal of Tropical Life Science* 8 (2) : 177
- Suryadi, I. A., A. A. G. N. Asmarajaya dan S. Maliawan. 2016. *Proses Penyembuhan dan Penanganan Luka*. Bagian/ SMF Ilmu Penyakit Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. Bali.
- The Histology Guide. 2015. *White Blood Cell*. [http://www.histology.leeds.ac.uk/blood/blood\\_wbc.php](http://www.histology.leeds.ac.uk/blood/blood_wbc.php) [Diakses tanggal 21 Januari 2019]
- Tranggono, R. I. dan F. Latifah. 2007. *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Penerbit Pustaka Utama. Jakarta
- Wulaningsih, A. 2010. *Formulasi Sediaan Gel Minyak Atsiri Buah Jeruk Purut (Citrus hystrix DC.) dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Propionibacterium acne Secara In Vitro* [Skripsi S.Farm]. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Zayyan, A. B., M. Y. I. Nahzi dan I. Kustiyah. 2016. Pengaruh Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) Terhadap Jumlah Sel Limfosit Pada Inflamasi Pulpa. *Dentino (Jur. Ked. Gigi)* 1(2): 140-145.
- Zhao, R., H. Liang, E. Clarke, C. Jackson and M. Xue. 2016. *Inflammation in Chronic Wounds*. *Int. J. Mol. Sci.* 17, 2085



### Lampiran 1. Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit dengan Pewarnaan HE



**Lampiran 2 : Analisis Ekspresi IL 1 Dengan Metode Immunohistokimia****PREPARAT**

- Deparafinasi (xylol III, II, I) masing-masing selama 7-10 menit.
- Rehidrasi (alkohol absolute 95%, 90%, 85%, 80%, 70%) 7 menit.
- Dicuci dengan Aquades selama 5 menit (3x)
- Diberi peroksidase sebanyak 1 tetes, dimasukkan ke dalam chamber kemudian diinkubasi suhu ruang selama 40 menit.
- Dicuci dengan PBS selama 5 menit (3x).
- Dilakukan pemblokingan pada slide yang sudah dikeringkan bagian tepi jaringan dengan menggunakan Serum FBS dan Tritone X 100 sebanyak 30  $\mu$ L dan diinkubasi 4°C selama 1 malam.
- Dicuci dengan PBS selama 5 menit (3x).
- Diberi antibodi/Ab primer IL-1 sebanyak 30  $\mu$ L dan diinkubasi dalam refigator suhu 4°C selama 1 malam
- Dicuci lagi menggunakan PBS (100  $\mu$ L) selama 5 menit (3x).
- Diberi antibodi/Ab sekunder (universal antibodi sekunder) sebanyak 1 tetes per jaringan dalam slide dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit
- Dicuci dengan PBS selama 5 menit (3x), diberi SAHRP dan diinkubasi suhu 37°C selama 40 menit, kemudian dicuci menggunakan PBS selama 5 menit (2x) dan aquades 5 menit (1x)

- Diberi DAB (3,3- diaminobenzidine) sebanyak 10 mg dalam tris buffer (50 cc) yang dicampur dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (50 µL) selama maksimal 40 menit.
- Dicuci dalam Aquades selama 5 menit (3x) dan diwarnai dengan pewarnaan Mayer.

DIAMATI



**Lampiran 3.** Perhitungan Komposisi Salep Ekstrak Belut (*Monopterus albus*)**1. Formula**

- a. Masing-masing konsentrasi salep dibuat sebanyak 100 g. Pemakaian salep sebanyak 0,5 g dengan frekuensi pemakaian 2 kali sehari. Terapi dilakukan 10 hari untuk 5 ekor tikus
- b. Salep ekstrak Belut (*Monopterus albus*) dibuat dalam konsentrasi 2% dan 5%

**2. Perhitungan dosis**

- a. Salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) 2%

- Ekstraksi :  $2/100\% \times 100 \text{ g} = 2 \text{ g}$

- Basis :  $100 \text{ g} - 2 \text{ g} = 98 \text{ g}$

Terdiri dari \*PGA :  $1/5 \times 98 \text{ g} = 19,6 \text{ g}$

\*Vaselin :  $4/5 \times 98 \text{ g} = 78,4 \text{ g}$

- b. Salep ekstrak belut (*Monopterus albus*) 5%

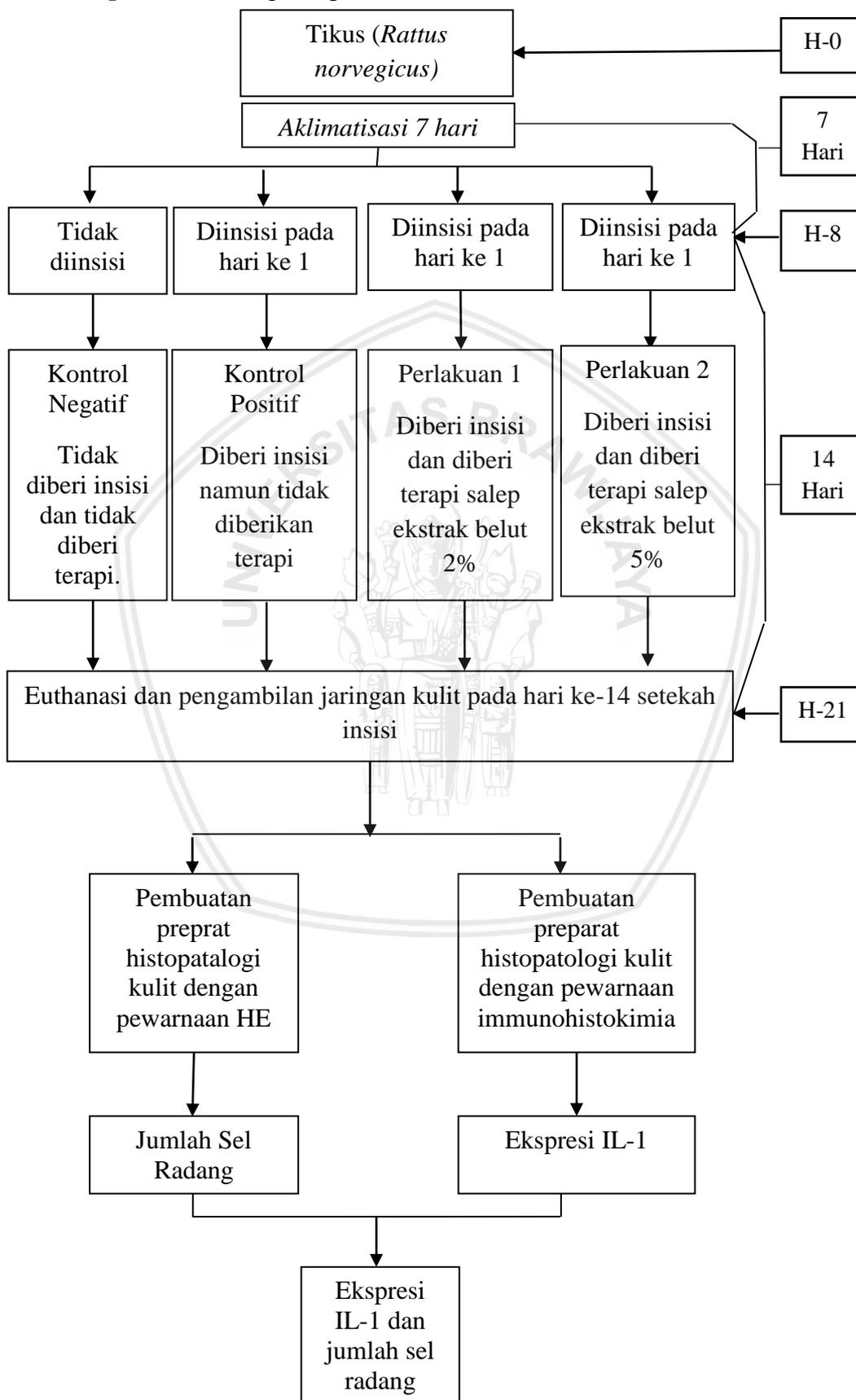
- Ekstraksi :  $5/100\% \times 100 \text{ g} = 5 \text{ g}$

- Basis :  $100 \text{ g} - 5 \text{ g} = 95 \text{ g}$

Terdiri dari \*PGA :  $1/5 \times 95 \text{ g} = 19 \text{ g}$

\*Vaselin :  $4/5 \times 95 \text{ g} = 76 \text{ g}$

#### Lampiran 4. Kerangka Operasional



**Lampiran 5. Keterangan Laik Etik**



**KOMISI ETIK PENELITIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
"ETHICAL CLEARANCE"**

No: 1066-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG  
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

**PENELITIAN BERJUDUL : PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAGING BELUT  
(*Monopterus albus*) TERHADAP KESEMBUHAN LUKA  
INSISI PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)  
BERDASARKAN EKSPRESI VASCULAR  
ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) DAN  
HISTOPATOLOGI KULIT**

**PENELITI : ARINDA FAUZIA ISLAMIATI**

**UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**DINYATAKAN : LAIK ETIK**

Malang, 12 November 2018  
Ketua Komisi Etik Penelitian  
Universitas Brawijaya



**Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.**  
NIP. 19600903 198802 2 001

**Lampiran 6.** Data Uji Statistika Ekspresi IL-1

Perlakuan	IL-1 (%)	Rata-rata
Kontrol negatif (normal) 1	12,46	10,34
Kontrol negatif (normal) 2	8,90	
Kontrol negatif (normal) 3	9,74	
Kontrol negatif (normal) 4	9,20	
Kontrol negatif (normal) 5	11,38	
Kontrol positif (luka) 1	46,20	44,15
Kontrol positif (luka) 2	39,14	
Kontrol positif (luka) 3	48,20	
Kontrol positif (luka) 4	40,70	
Kontrol positif (luka) 5	46,50	
Perlakuan 1 (konsentrasi 2%) 1	24,92	25,99
Perlakuan 1 (konsentrasi 2%) 2	29,54	
Perlakuan 1 (konsentrasi 2%) 3	27,18	
Perlakuan 1 (konsentrasi 2%) 4	22,80	
Perlakuan 1 (konsentrasi 2%) 5	25,50	
Perlakuan 2 (konsentrasi 5%) 1	11,94	11,83
Perlakuan 2 (konsentrasi 5%) 2	10,74	
Perlakuan 2 (konsentrasi 5%) 3	10,44	
Perlakuan 2 (konsentrasi 5%) 4	10,88	
Perlakuan 2 (konsentrasi 5%) 5	15,16	

**Uji Normalitas Data****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		perlakuan	IL
N		20	20
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	2,5000	23,0760
	Std. Deviation	1,14708	14,17812
Most Extreme Differences	Absolute	,169	,223
	Positive	,169	,223
	Negative	-,169	-,159
Test Statistic		,169	,223
Asymp. Sig. (2-tailed)		,139 <sup>c</sup>	,010 <sup>c</sup>

a. Test distribution is Normal.

## Uji Homogenitas Varian

### Test of Homogeneity of Variances

IL

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,712	3	16	,034

## Uji Deskriptif

### Descriptives

IL

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K-	5	10,3360	1,52554	,68224	8,4418	12,2302	8,90	12,46
K+	5	44,1480	3,97272	1,77666	39,2152	49,0808	39,14	48,20
P1	5	25,9880	2,52882	1,13092	22,8481	29,1279	22,80	29,54
P2	5	11,8320	1,94446	,86959	9,4176	14,2464	10,44	15,16
Total	20	23,0760	14,17812	3,17032	16,4404	29,7116	8,90	48,20

## Uji Anova

### ANOVA

IL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3706,220	3	1235,407	174,704	,000
Within Groups	113,143	16	7,071		
Total	3819,363	19			

## Uji Tukey

IL

Tukey HSD<sup>a</sup>

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
K-	5	10,3360		
P2	5	11,8320		
P1	5		25,9880	
K+	5			44,1480
Sig.		,810	1,000	1,000

**Lampiran 7.** Data Uji Statistika Jumlah Sel Radang

Perlakuan	Sel Radang	Rata-rata
Kontrol negatif (normal) 1	4,50	4,90
Kontrol negatif (normal) 2	6,00	
Kontrol negatif (normal) 3	4,00	
Kontrol negatif (normal) 4	5,00	
Kontrol negatif (normal) 5	5,00	
Kontrol positif (luka) 1	19,00	18,20
Kontrol positif (luka) 2	19,50	
Kontrol positif (luka) 3	18,00	
Kontrol positif (luka) 4	17,50	
Kontrol positif (luka) 5	17,00	
Perlakuan 1 (konsentrasi 2%) 1	13,50	13,70
Perlakuan 1 (konsentrasi 2%) 2	12,00	
Perlakuan 1 (konsentrasi 2%) 3	13,00	
Perlakuan 1 (konsentrasi 2%) 4	14,50	
Perlakuan 1 (konsentrasi 2%) 5	15,50	
Perlakuan 2 (konsentrasi 5%) 1	6,50	5,80
Perlakuan 2 (konsentrasi 5%) 2	6,00	
Perlakuan 2 (konsentrasi 5%) 3	4,50	
Perlakuan 2 (konsentrasi 5%) 4	5,00	
Perlakuan 2 (konsentrasi 5%) 5	7,00	

**Uji Normalitas Data****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Perlakuan	Sel radang
N		20	20
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	2,5000	10,6500
	Std. Deviation	1,14708	5,76993
	Most Extreme Differences		
	Absolute	,169	,236
	Positive	,169	,236
	Negative	-,169	-,125
Test Statistic		,169	,236
Asymp. Sig. (2-tailed)		,139 <sup>c</sup>	,056 <sup>c</sup>

Test distribution is Normal.

## Uji Homogenitas Varian

### Test of Homogeneity of Variances

sel radang

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,864	3	16	,480

### ANOVA

sel radang

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	614,450	3	204,817	181,053	,000
Within Groups	18,100	16	1,131		
Total	632,550	19			

## Uji Deskriptif

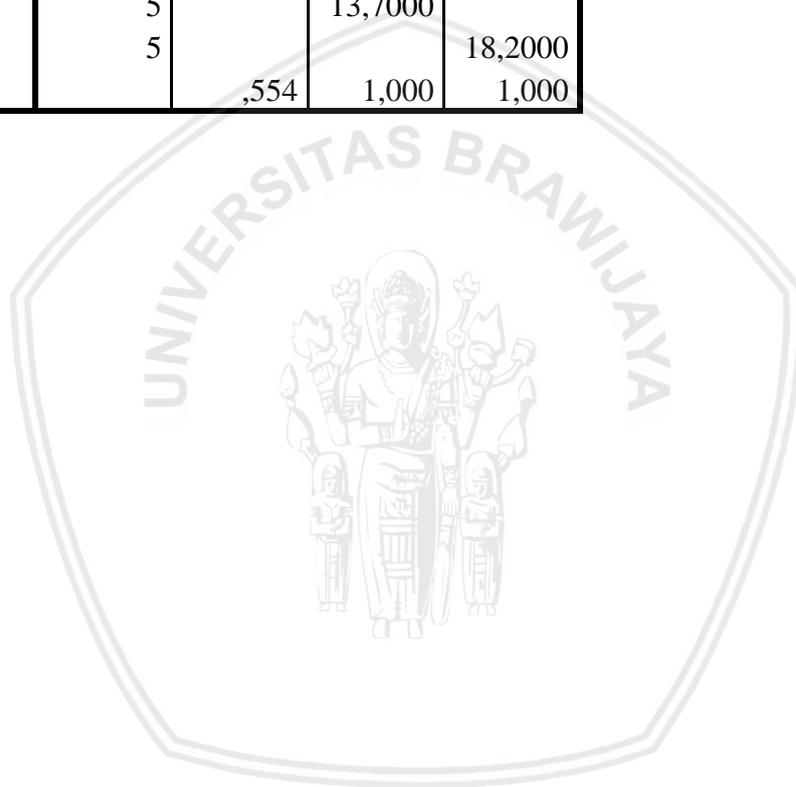
### Descriptives

sel

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
k(-)	5	4,9000	,74162	,33166	3,9792	5,8208	4,00	6,00
k(+)	5	18,2000	1,03682	,46368	16,9126	19,4874	17,00	19,50
p1	5	13,7000	1,35093	,60415	12,0226	15,3774	12,00	15,50
p2	5	5,8000	1,03682	,46368	4,5126	7,0874	4,50	7,00
Total	20	10,6500	5,76993	1,29020	7,9496	13,3504	4,00	19,50

**Uji Tukey****Sel Radang**Tukey HSD<sup>a</sup>

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
k(-)	5	4,9000		
p2	5	5,8000		
p1	5		13,7000	
k(+)	5			18,2000
Sig.		,554	1,000	1,000



**Lampiran 8.** Perhitungan Peningkatan dan Penurunan Ekspresi IL-1

$$\text{Kelompok kontrol} = \frac{\text{kontrol (+)} - \text{kontrol (-)}}{\text{kontrol (-)}} \times 100\%$$

$$= \frac{44,15 - 10,34}{10,34} \times 100\%$$

$$= 326,98\%$$

$$\text{Perlakuan 1 (2\%)} = \frac{\text{perlakuan 1} - \text{kontrol (+)}}{\text{kontrol (+)}} \times 100\%$$

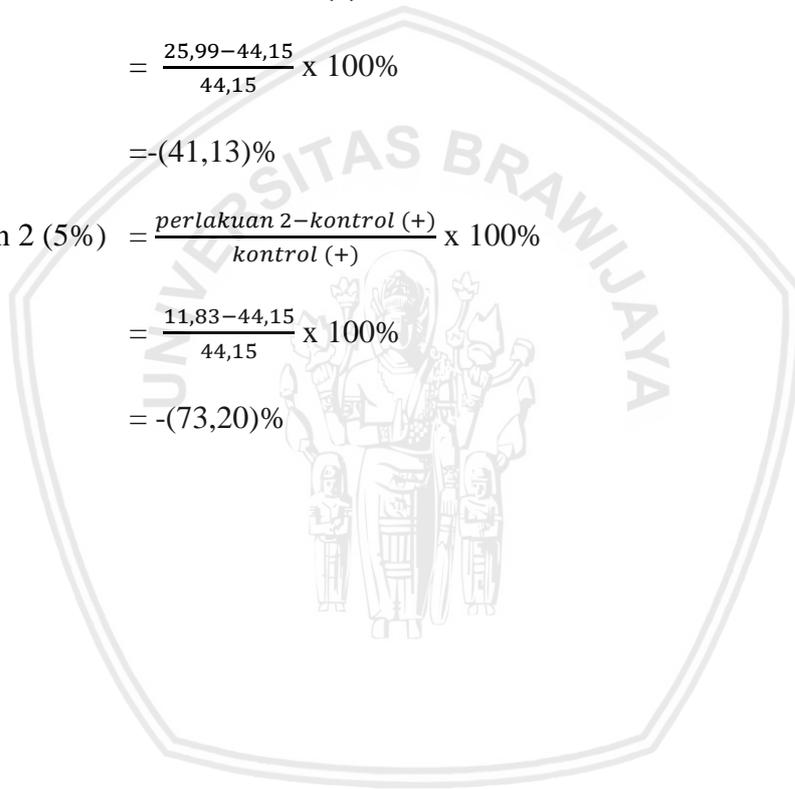
$$= \frac{25,99 - 44,15}{44,15} \times 100\%$$

$$= -(41,13)\%$$

$$\text{Perlakuan 2 (5\%)} = \frac{\text{perlakuan 2} - \text{kontrol (+)}}{\text{kontrol (+)}} \times 100\%$$

$$= \frac{11,83 - 44,15}{44,15} \times 100\%$$

$$= -(73,20)\%$$



**Lampiran 9.** Perhitungan Peningkatan dan Penurunan Jumlah Sel Radang

$$\text{Kelompok kontrol} = \frac{\text{kontrol (+)} - \text{kontrol (-)}}{\text{kontrol (-)}} \times 100\%$$

$$= \frac{18,20 - 4,90}{4,90} \times 100\%$$

$$= 271,42\%$$

$$\text{Perlakuan 1 (2\%)} = \frac{\text{perlakuan 1} - \text{kontrol (+)}}{\text{kontrol (+)}} \times 100\%$$

$$= \frac{13,70 - 18,20}{18,20} \times 100\%$$

$$= -(24,72)\%$$

$$\text{Perlakuan 2 (5\%)} = \frac{\text{perlakuan 2} - \text{kontrol (+)}}{\text{kontrol (+)}} \times 100\%$$

$$= \frac{5,80 - 18,20}{18,20} \times 100\%$$

$$= -(68,13)\%$$

