

repository.ub.ac.id

**PENGGUNAAN GETAH NANGKA (*Artocarpus heterophyllus*)
PADA MODEL ROBEK TENDON TIKUS PUTIH (*Rattus
norvegicus*) TERHADAP EKSPRESI VASCULAR
ENDOTHELIA GROWTH FACTOR (VEGF)
DAN KETEBALAN KOLAGEN**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:

AULIA DYASTI MAURENDA

155130107111047



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

2019

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**PENGUNAAN GETAH NANGKA (*Artocarpus heterophyllus*) PADA
MODEL ROBEK TENDON TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
TERHADAP EKSPRESI VASCULAR ENDOTHELIA
GROWTH FACTOR (VEGF) DAN
KETEBALAN KOLAGEN**

Oleh:

AULIA DYASTI MAURENDA

155130107111047

Pembimbing I

Pembimbing II

Edwin Widodo, S. Si, M. Sc., Ph. D

NIP. 19810504 200501 1 001

drh. Fajar Shodiq Permata, M.Biotech

NIP. 19870501 201504 1 001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

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

NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Aulia Dyasti Maurenda

NIM : 155130107111047

Program Studi : Kedokteran Hewan

Penulis Skripsi berjudul:

Penggunaan Getah Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) Pada Model Robek Tendon Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Terhadap Ekspresi *Vascular Endothelia Growth Factor* (VEGF) Dan Ketebalan Kolagen

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, 30 Januari 2019
Yang menyatakan,

Aulia Dyasti Maurenda
NIM. 155130107111047

**PENGUNAAN GETAH NANGKA (*Artocarpus heterophyllus*) PADA
MODEL ROBEK TENDON TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
TERHADAP EKSPRESI VASCULAR ENDOTHELIA
GROWTH FACTOR (VEGF) DAN
KETEBALAN KOLAGEN**

ABSTRAK

Robek tendon merupakan masalah kesehatan yang paling sering terjadi pada mamalia salah satunya yaitu kuda. Gejala klinis yang timbul akibat robek tendon yaitu rasa nyeri apabila disentuh, inflamasi disertai perdarahan, dan edema serta akumulasi fibrin diantara dan disekitar tendon yang menyebabkan pembengkakan lokal. Getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) merupakan salah satu bahan alternatif alami yang mengandung pektin dan selulosa yang berfungsi sebagai perekat dan menjaga kestabilan jaringan dan sel. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh penggunaan getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) sebagai Lem Biosealant pada tikus (*Rattus norvegicus*) model robek tendon terhadap ekspresi VEGF (*Vascular Endothelia Growth Factor*) dan tebal kolagen. Dalam penelitian ini digunakan hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar jantan dengan berat badan 100-200 gram dan berumur 2-3 bulan yang dibagi menjadi 4 kelompok dan masing – masing kelompok berisi 5 ekor. Kelompok K- merupakan kelompok tikus kontrol negatif, Kelompok K+ tikus robek tendon tanpa terapi, kelompok P1 tikus robek tendon dengan terapi Asam Mefenamat dosis 50 mg/kg BB selama 5 hari dan kelompok P2 kelompok tikus robek tendon dengan terapi Asam Mefenamat dosis 50 mg/kg BB selama 5 hari dan Lem Biosealant secara topikal dengan dosis 10 mg/ekor. Robek tendon dilakukan dengan cara menginsisi daerah tendon achilles kaki kiri sepanjang 0,5 cm dengan menggunakan blade bedah. Terapi ini dilakukan selama 14 hari dan tikus akan dieuthanasi pada hari yang sama. Ekspresi VEGF pada jaringan tendon dianalisis dengan menggunakan pewarnaan Imunohistokimia dan pengukuran ketebalan kolagen dengan pewarnaan *Masson's Trichome*. VEGF dan ketebalan kolagen dianalisis data secara kuantitatif dengan menggunakan software immunoratio, kemudian menggunakan SPSS dengan analisis statistik ragam one-way ANOVA dengan uji lanjutan Tukey $\alpha=0,05$. Hasil analisa statistik VEGF dan ketebalan kolagen menunjukkan bahwa kelompok perlakuan P2 yaitu terapi dengan Asam Mefenamat dosis 50 mg/kg BB selama 5 hari dan Lem Biosealant secara topikal dengan dosis 10 mg/ekor memiliki perbedaan tidak nyata dengan kelompok tikus sehat ($p>0,05$). Dapat disimpulkan bahwa pemberian terapi Biosealant getah nangka secara topikal dengan dosis 10 mg/ekor dapat meningkatkan ekspresi VEGF dan meningkatkan ketebalan kolagen dalam penyembuhan robek tendon.

Kata kunci : Robek Tendon, Getah Nangka, VEGF, Ketebalan Kolagen

**THE USE OF SAP JACKFRUIT (*Artocarpus heterophyllus*) ON THE
MODEL OF TORN TENDON IN WHITE RATS (*Rattus norvegicus*)
AGAINST EXPRESSION OF VASCULAR ENDOTHELIA
GROWTH FACTOR (VEGF) AND
THICKNESS COLAGEN**

ABSTRACT

The torn of tendon is the most common health problems that often occur in mammals, one of that is horses. The clinical symptoms that appear from torn in tendon is pain when touched, inflammation accompanied by bleeding, also edema and fibrin accumulation between and around the tendon which causes local swelling. Jackfruit sap (*Artocarpus heterophyllus*) is one of the natural alternative ingredients that contain pectin and cellulose which serve as an adhesive and maintain the stability of tissues and cells. The purpose of this study was to determine the effect of the use of jackfruit sap (*Artocarpus heterophyllus*) as a Biosealant Glue on rats (*Rattus norvegicus*) model of tendon tearing on the expression of VEGF (*Vascular Endothelia Growth Factor*) and thick collagen. The male rats (*Rattus norvegicus*) wistar strains were used in this research, that have a body weight of 100-200 grams and 2-3 months old, it divided into 4 groups and each group contained 5 rats. The male rats (*Rattus norvegicus*) wistar strains were used in this research, which have a body weight of 100-200 grams and 2-3 months old, it divided into 4 groups and each group contained 5 rats. K-group was a group of negative control of rats, K+ group without therapy, group P1 was a group of rats which had torn in tendon with 50 mg / kg BB Mefenamic acid therapy for 5 days and group P2 was a group of rats which had torn in tendon with 50 mg/kg BB Mefenamic Acid therapy for 5 days and topical Biosealant Glue at a dose of 10mg/rat. The step for getting the torn in tendon were done by incisioning the achilles tendon of the left foot using a surgical blade in a depth 0.5 cm. This therapy were done for 14 days and rats will be euthanized on the same day. VEGF expression on tendon tissue would be analyzed with Immunohistochemistry method and measurement of collagen thickness with Trichome Masson Staining was quantitative data which was analyzed using one-way ANOVA with Tukey $\alpha=0.05$. The results of statistical analysis of VEGF and collagen thickness showed that the treatment group P2 which was treatment with Mefenamic Acid dose of 50 mg/kg BB for 5 days and topical Biosealant glue with a dose of 10 mg/rat had no significant difference with the healthy rat group ($p>0,05$). It could be concluded that topical administration of jackfruit sap biosealant at a dose of 10 mg /rat can increase VEGF expression and increase the thickness of collagen in healing of tendons.

Keyword : *Torn Tendon, Jackfruit Sap, VEGF, Collagen Thickness*

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan yang Maha Esa atas berkat dan anugerah-Nya penulis menyusun penelitian dengan judul **“Penggunaan Getah Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) pada Model Robek Tendon Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) terhadap Ekspresi *Vascular Endothelia Growth Factor* (VEGF) dan Ketebalan Kolagen”** sebagai tugas akhir/skripsi sebagai syarat kelulusan menjadi Sarjana Kedokteran Hewan.

Skripsi ini disusun berdasarkan diskusi dengan berbagai pihak serta literatur yang penulis baca dari beberapa referensi. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

- 1 Edwin Widodo, S. Si, M. Sc., Ph. D dan drh. Fajar Shodiq Permata, M. Biotech selaku dosen pembimbing yang telah menyisihkan waktunya untuk membimbing penulis pada saat penulisan proposal ini.
- 2 drh.Ajeng Aeka, M. Sc., dan Dhita Evi Aryani, S. Farm, M. Farm. Klin., Apt. selaku dosen penguji atas segala ilmu, dukungan, serta saran dan masukan dalam penyempurnaan penulisan tugas akhir ini.
- 3 Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang.
- 4 DIKTI atas dana penelitian yang telah diberikan.
- 5 Ayah, Ibu, Kakak dan keluarga besar tercinta yang selalu memberi kasih sayang, dorongan, dukungan dan doa untuk menyelesaikan studi penulis serta perhatiannya akan kebutuhan penulis baik secara moril maupun materi.

- 6 Rekan seperjuangan Biorodon untuk waktu dan inspirasi yang diberikan untuk penulis.
- 7 Seluruh dosen dan civitas akademika yang telah membimbing, memberikan ilmu, dan mewadahi penulis selama menjalankan studi di Program Studi Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
- 8 Seluruh kolegium Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya, khususnya kepada teman-teman Utomo Family, dan Decode 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, 30 Januari 2019

Penulis

DAFTAR ISI

JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tanaman Nangka (<i>Artocarpus heterophyllus</i>)	6
2.2 Tendon dan Rupture Tendon	8
2.2.1 Definisi Tendon	8
2.2.2 Rupture Tendon	9
2.2.3 Proses Penyembuhan Tendon	10
2.3 Hewan Coba Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	12
2.4 VEGF	14
2.5 Tebal Kolagen	15
BAB 3 KERANGKA KONSEP	17
3.1 Kerangka Konseptual	17
3.2 Hipotesa Penelitian	19
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN	20
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	20
4.2 Alat dan Bahan	20



4.3.	Sampel Penelitian.....	21
4.4.	Rancangan Penelitian.....	21
4.5.	Variabel Penelitian.....	22
4.6.	Prosedur Kerja	23
4.6.1	Persiapan Hewan Coba	23
4.6.2	Pembuatan Biosealant Getah Nangka	23
4.6.3	Pembuatan Insisi Robek Tendon Pada Hewan Coba	23
4.6.4	Pemberian Perlakuan.....	24
4.6.5	Pengambilan Sampel Organ Tendon.....	25
4.6.6	Pembuatan Preparat Histopatologi	25
4.6.7	Pengukuran Tebal Kolagen dengan Pewarnaan Masson's Trichome	26
4.6.8	Analisis Ekspresi VEGF pada Jaringan Tendon dengan Metode Immunohistokimia	27
4.6.9	Analisis Data.....	29
BAB 5	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	30
5.1	Ekspresi VEGF pada Robek Tendon	30
5.2	Ketebalan Kolagen pada Robek Tendon.....	35
BAB 6	PENUTUP	41
6.1	Kesimpulan	41
6.2	Saran	41
DAFTAR PUSTAKA.....		42
LAMPIRAN.....		47

DAFTAR GAMBAR

2.1	Tanaman Nangka	6
2.2	Gambaran Histologi Tendon Pewarnaan HE dan Masson's Trichome.....	9
2.2	Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	12
2.3	Serabut Kolagen pada Tendon.....	15
4.1	Simulasi Pengukuran Kolagen Pewarnaan Masson's Trichome.....	27
5.1	Ekspresi VEGF Tendon Tikus dengan Metode Immunohistokimia.....	30
5.3	Histopatologi Kolagen Tendon Tikus Putih Pewarnaan Masson's Trichome.....	35



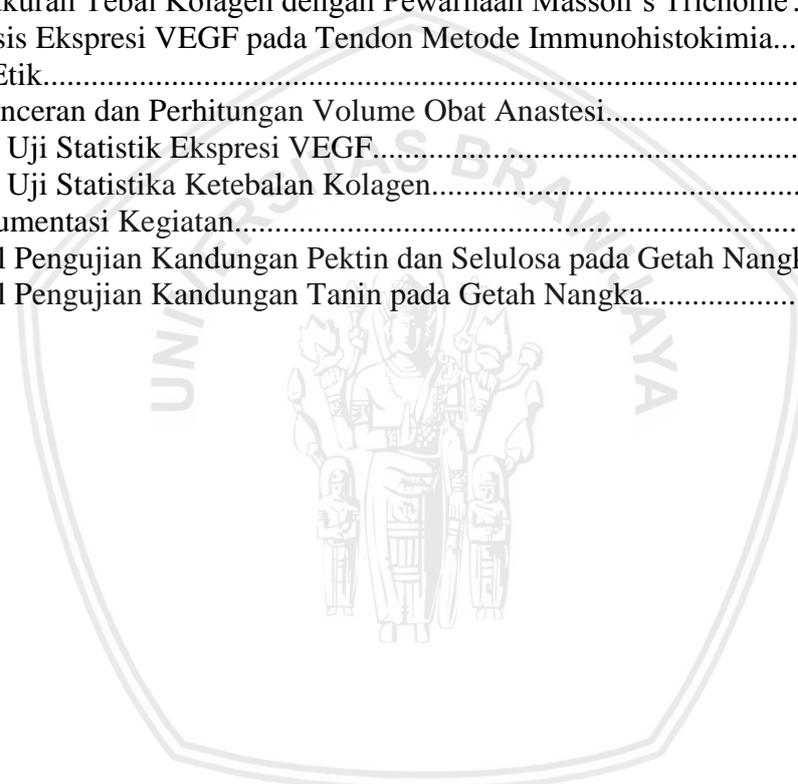
DAFTAR TABEL

5.1 Hasil Uji Tukey terhadap Ekspresi VEGF	31
5.2 Hasil Uji Tukey terhadap Ketebalan Kolagen	36



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Kerangka Operasional Perlakuan	45
2. Pembuatan Biosealant Getah Nangka	46
3. Pembuatan Insisi Robek Tendon Pada Hewan Coba	47
4. Pengambilan Sampel Organ Tendon.....	48
5. Pembuatan Preparat Histologi.....	48
6. Pengukuran Tebal Kolagen dengan Pewarnaan Masson's Trichome	49
7. Analisis Ekspresi VEGF pada Tendon Metode Immunohistokimia.....	50
8. Laik Etik.....	52
9. Pengenceran dan Perhitungan Volume Obat Anastesi.....	53
10. Data Uji Statistik Ekspresi VEGF.....	54
11. Data Uji Statistika Ketebalan Kolagen.....	56
12. Dokumentasi Kegiatan.....	58
13. Hasil Pengujian Kandungan Pektin dan Selulosa pada Getah Nangka.....	64
14. Hasil Pengujian Kandungan Tanin pada Getah Nangka.....	65



DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

<u>Simbol/singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
%	Persen
°C	Derajat Celcius
BB	Berat Badan
BNJ	Beda Nyata Jujur
cm	Centimeter
IHK	Immunohistokimia
G	Gram
HE	<i>Hematoxyline-eosin</i>
HIF	<i>Induce hipoksia factor</i>
IL-1	Interleukin 1
DAB	<i>Diamono Benzidine</i>
IM	Intramuscular
Kg	Kilogram
ml	Mililiter
NaCl	Natrium klorida
PBS	<i>Phosphate-buffered saline</i>
PDGF	<i>Platelet-derived growth factor</i>
TGF β	<i>Transforming growth factor beta</i>
SAHRP	<i>Strep Avidin Horse Radish Peroxidase</i>
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Minat beberapa masyarakat terhadap kuda pacu belakangan ini semakin meningkat. Biayanya yang tidak murah dan berbagai macam penyakit yang dapat menyerang kuda adalah alasan pemeliharaan kuda pacu terbilang tidak mudah. Masalah kesehatan yang paling sering terjadi pada kuda pacu adalah robek tendon. Robek tendon terjadi pada saat kuda pacu melakukan latihan. Menurut Gilis (2006), gejala klinis yang timbul pada kuda yang mengalami robek tendon yaitu rasa nyeri apabila disentuh, inflamasi disertai perdarahan, dan edema serta akumulasi fibrin diantara dan disekitar tendon yang menyebabkan pembengkakan lokal. Diagnosa dapat dilakukan melalui pengamatan gejala klinis, dan dengan menggunakan ultrasonografi untuk mendapatkan hasil diagnosa yang paling tepat. Dengan ultrasonografi dapat dilihat pola serat jaringan sehingga dapat diketahui bagian mana yang mengalami luka. Menurut Casey (2011), kasus robek tendon memerlukan waktu yang sangat lama dalam pemulihan, yaitu sekitar 10 sampai 12 bulan dan dengan kemungkinan besar robek tendon untuk terjadi kembali.

Pengobatan pada kasus robek tendon bertujuan untuk mengurangi inflamasi, memelihara aliran darah serta mencegah terbentuknya jaringan parut diantara tendon yang terluka. Kebanyakan metode pengobatan yang dilakukan bertujuan untuk mengurangi terjadinya inflamasi baik dengan cara tradisional ataupun dengan pemberian antiinflamasi. Menurut Gilis (2006), salah satu metode pengobatan untuk membentuk kembali tendon adalah terapi stem sel. Namun

proses pengobatan dengan menggunakan terapi stem sel ini tergolong sulit dilaksanakan dan mahal. Menurut Solaglu *et al* (2010), metode pengobatan lain yang dapat dilakukan yaitu dengan operatif (pembedahan). Pengobatan dengan teknik pembedahan memiliki resiko terhadap adanya inflamasi yang dapat memperlambat proses penyembuhan. Sebagai alternatif untuk penyembuhan dengan metode tersebut dapat digunakan biosealant sebagai salah satu jenis lem pengganti teknik pembedahan tersebut. Lem biosealant selain sebagai perekat untuk robek tendon, juga berperan dalam hemostasis penyembuhan robek tendon.

Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) merupakan salah satu growth factor yang berperan dalam fase penyembuhan robek tendon. Munculnya VEGF menandakan adanya kesembuhan dari fase inflamasi menuju proliferasi. VEGF merupakan faktor angiogenesis yang berfungsi untuk membentuk pembuluh darah baru. Faktor lain yang mempengaruhi kesembuhan robek tendon adalah kolagen yang berperan dalam ketebalan dan kekuatan tendon. Kolagen akan meningkat karena adanya peningkatan fibroblas. Peningkatan fibroblas berbanding lurus dengan peningkatan VEGF karena fibroblas dan VEGF diaktifasi oleh makrofag. Kolagen memiliki daya renggang yang sangat tinggi, tetapi elastisitasnya rendah sehingga kolagen tahan terhadap tarikan dan dorongan antara tulang dan otot. Ketika terjadi robek tendon maka ketebalan dan kekuatan tendon akan berkurang. Deposisi kolagen dapat meningkatkan kekuatan jaringan baru robek tendon. Keseimbangan sintesis kolagen dan degradasinya memiliki peran penting dalam komponen penyusun penyembuhan (Sabirin, 2013).

Berdasarkan uraian di atas, dibutuhkan adanya bahan alternatif alami dalam bentuk lem biosealant yang dapat membantu proses pengobatan pada kasus robek tendon. Salah satu bahan alami yang terkandung dalam getah nangka yaitu senyawa pektin dan selulosa. Pektin dan selulosa berfungsi sebagai elemen struktural pada pertumbuhan jaringan dan komponen utama dari lamella tengah pada tanaman, selain itu pektin dan selulosa juga berperan sebagai perekat dan menjaga stabilitas jaringan dan sel (Tuhuloula et al, 2013). Getah nangka yang selama ini dibuang kemungkinan memiliki potensi dalam membantu penyembuhan dalam kasus robek tendon. Oleh sebab itu diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efektifitas getah nangka sebagai lem biosealant dalam membantu pengobatan pada kasus robek tendon.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Apakah pemberian Biosealant getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) berpengaruh terhadap penyembuhan robek tendon pada tikus (*Rattus norvegicus*) ditinjau dari ekspresi VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)?
2. Apakah pemberian Biosealant getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) berpengaruh terhadap penyembuhan robek tendon pada tikus (*Rattus norvegicus*) ditinjau dari ketebalan kolagen?

1.3. Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang diuraikan maka penelitian ini dibatasi pada :

1. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dengan berat badan berkisar 100-200 gram dengan usia 2-3 bulan. Telah mendapatkan sertifikat Laik Etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya Malang No: 933-KEP-UB (Lampiran 8).
2. Luka insisi dibuat dengan menginsisi pada daerah tendon achilles yang sepanjang 0.5 cm dengan menggunakan blade bedah.
3. Pemberian terapi Biosealant getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) dilakukan secara topikal sebanyak 10 mg, pemberian dilakukan setelah dilakukan insisi pada tendon dan dioleskan menyeluruh pada daerah insisi.
4. Pengukuran ketebalan kolagen dilakukan dengan pewarnaan Masson's Trichome, menggunakan pengukur micrometer dan diukur di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x pada lima lapang pandang.
5. Ekspresi VEGF dengan metode Immunohistokimia dianalisis data secara kuantitatif dengan menggunakan software immunoratio.
6. Ekspresi VEGF dan tebal kolagen dianalisis statistik menggunakan one-way ANOVA dengan uji lanjutan Tukey $\alpha=0,05$.

1.4. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui pengaruh pemberian Biosealant getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) terhadap penyembuhan robek tendon ditinjau dari ekspresi VEGF pada tendon tikus (*Rattus norvegicus*).
2. Mengetahui pengaruh pemberian Biosealant getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) terhadap penyembuhan robek tendon ditinjau dari ketebalan kolagen tendon pada tikus (*Rattus norvegicus*).

1.5. Manfaat Penelitian

Memberikan informasi mengenai pengaruh pemberian Biosealant getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) terhadap kesembuhan robek tendon pada tikus (*Rattus norvegicus*) berdasarkan ekspresi VEGF dan ketebalan kolagen tendon. Pemanfaatan pemberian terapi Biosealant getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) dapat digunakan sebagai terapi pada penyembuhan robek tendon yang mudah dan murah.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Nangka (*Artocarpus heterophyllus*)

Menurut Rukmana (2008), klasifikasi untuk tanaman *A. heterophyllus* sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub-divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Ordo : Morales

Famili : Moraceae

Genus : *Artocarpus*

Spesies : *Artocarpus heterophyllus*



Gambar 2.1 Tanaman Nangka (Syamsuhidayat, 1991)

Manner dan Elvich (2006), mendeskripsikan tanaman nangka (*Artocarpus heterophyllus*) memiliki ukuran pohon sedang dengan tinggi 8-25 m. Tanaman nangka merupakan salah satu jenis tanaman buah tropis yang multifungsi dan dapat ditanam di daerah tropis dengan ketinggian kurang dari 1.000 meter di atas

permukaan laut yang berasal dari India Selatan. Menurut Sunarjono (2008), ada dua macam nangka yaitu *Artocarpus heterophyllus Lamk* yang sering disebut nangka dan *Artocarpus champeden Stokes* yang sering disebut cempedak. Menurut Wulandari (2015) nangka dapat tumbuh dengan baik di iklim tropis sampai dengan lintang 25 utara maupun selatan dengan ciri-ciri biji bulat lonjong hingga jorong agak gepeng, panjang 2-4 cm. Daging buah berwarna kuning keemasan apabila masak, berbau harum manis yang keras, dan berdaging dengan isi cairan (nectar) yang manis.

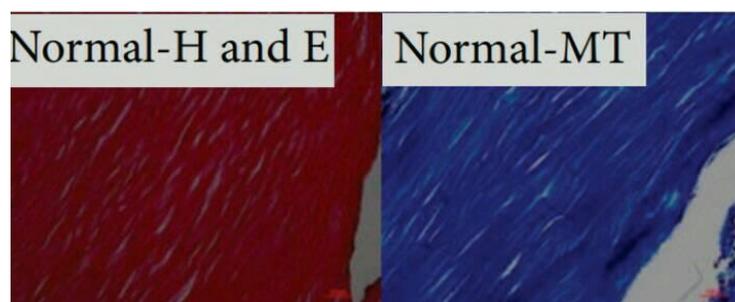
Beberapa bagian tanaman dan buah nangka yang dapat dimanfaatkan yaitu akar yang dapat digunakan sebagai obat diare, batang yang dapat digunakan sebagai bahan kerajinan, dan getah berwarna putih yang sangat lekat yang sering digunakan sebagai obat abses. Genus *Artocarpus* umumnya mengandung senyawa fenolik terutama dari golongan flavonoid terisoprenilasi (Hakim, 2006). Getah kulit kayu digunakan sebagai obat demam, obat cacing, dan antiinflamasi. Kandungan kimia dalam kayu adalah morin, flavon, dan tanin. Senyawa flavon yang berasal dari *Artocarpus* memperlihatkan bioaktivitas sebagai antitumor. Senyawa tanin memiliki sifat bakteristatik dan fungistatik, serta senyawa morin memiliki sifat antikanker dan antiinflamasi (Suhartati, 2001). Bagian kulit kayu nangka juga terdapat senyawa flavonoid yang baru, yakni morusin, artokarpin, artonin E, sikloartobilosanton dan artonol B. Kandungan artokarpin dan artonin E yang merupakan senyawa turunan flavonoid dari tumbuhan sukun atau kluwih yang terdapat pula pada nangka, telah dilaporkan sangat aktif pada uji sitotoksik terhadap beberapa sel kanker. Artokarpin hasil isolasi kayu pada nangka memiliki

aktivitas yang poten sebagai *whitening agent* dan antikanker kulit (Arung *et al.*, 2008). Bioaktivitas senyawa flavonoid tersebut terbukti secara empirik sebagai antikanker, antivirus, antiinflamasi, diuretik, antihipertensi, dan antibakteri (Ersam, 2001). Kandungan bahan alami lain yang terdapat didalam getah nangka, diantaranya adalah pektin dan selulosa. Selain sebagai elemen struktural pada pertumbuhan jaringan dan komponen utama dari lamella tengah pada tanaman, pektin dan selulosa juga berperan sebagai perekat dan menjaga stabilitas jaringan dan sel (Tuhuloula *et al.*, 2013).

2.2 Tendon dan Rupture Tendon

2.2.1. Definisi Tendon

Tendon merupakan bagian dari jaringan lunak, sebagai kelanjutan otot, baik mulai maupun bertaut pada tulang (*origo* dan *insertio*). Tendon adalah struktur dalam tubuh yang menghubungkan otot ke tulang. Otot rangka dalam tubuh bertanggung jawab untuk menggerakkan tulang, sehingga memungkinkan untuk berjalan, melompat, mengangkat dan bergerak dalam banyak cara. Ketika otot kontraksi, tendon menarik tulang dan menyebabkan terjadinya gerakan. Tendon dapat berukuran panjang atau pendek tergantung dari fungsinya. Tendon diliputi oleh serabut sinovial yang panjang diliputi oleh selaput yang merupakan “sarung” (*synovial sheath*) tempat tendon meluncur. Misalnya pada jari – jari dimana tendon melewati beberapa persendian (Sjamsuhidajat,2004).



Gambar 2.2 Gambaran Histologi Tendon Pewarnaan HE dan Masson's Trichome (Tsai Yun-Pu dkk, 2013)

Tendon terdiri dari jaringan padat dan jaringan ikat fibrosa yang tersusun secara paralel. Endotendon mengelilingi jaringan tendon dan epitendon mengelilingi unit tendon keseluruhan. Kedua selubung tendon tersebut membawa suplai darah intrinsik ke struktur internal tendon. Selubung tendon terdapat di atas tempat tendon melintasi sendi. Selubung tendon terdiri dari dua lapisan, yaitu lapisan parietal yang berada di bagian luar dan lapisan visceral di bagian dalam. Tendon Achilles tidak memiliki selubung sinovial sejati, namun tendon ini dibungkus oleh paratendon yang bertanggungjawab terhadap suplai darah ekstrinsik tendon. Tendon berfungsi sebagai kekuatan untuk tarikan otot ke tulang. Kontraksi otot menarik tendon yang kemudian menarik tulang, sehingga terjadi gerakan. Tulang – tulang berhubungan pada sendi oleh ligament dan jaringan ikat lainnya, sehingga kontraksi tendon menghasilkan gerakan – gerakan tertentu, tergantung pada otot dan sendi yang terlibat (Sjamsuhidajat,2004).

2.2.2 Rupture Tendon

Ruptur adalah robek atau koyaknya jaringan secara paksa. Ruptur tendon adalah robek atau terputusnya tendon yang diakibatkan karena tarikan yang melebihi kekuatan tendon. Penyebab paling sering pada ruptur tendon adalah

cedera yang timbul dalam kegiatan aktivitas yang membutuhkan beban otot ekstra. Trauma benda tajam atau tumpul menjadi penyebab kedua yang dapat menyebabkan rusaknya otot atau tendon pada lokasi yang terkena trauma. Penyakit tertentu, seperti arthritis dan diabetes juga dapat menjadi penyebab lemahnya otot ataupun integritas dari tendon itu sendiri. Secara sistemik, terjadi gangguan pembentukan dan perusakan dari myosit tersebut, sehingga bila terkena penyebab mekanik yang ringan dan tidak memiliki momentum yang cukup untuk merobek, tendon tersebut akan mudah rusak. Gejala-gejala yang timbul pada ruptur tendon adalah nyeri. Dengan adanya ruptur, akan terlihat adanya memar karena iritasi atau respon stress yang ditimbulkan tendon tersebut. Tanpa adanya integritas dari keseluruhan tendon, maka otot tersebut akan mengalami penurunan daya kontraksi (Geert, 2004).

2.2.3 Proses Penyembuhan Tendon

Penyembuhan tendon terjadi secara intrinsik maupun ekstrinsik. Penyembuhan intrinsik yang memasok kira-kira seperempat dari volume tendon. Penyembuhan ekstrinsik adalah hasil dari stimulasi jaringan peritendinous untuk berproliferasi dan memasok kebutuhan sel dan kapiler yang dibutuhkan untuk proses penyembuhan. Proses ini bertanggung jawab untuk pembentukan adhesi tendon untuk semua struktur yang berdekatan dari luka menjadi satu dan terbentuk scar. Telah terbukti secara eksperimental bahwa suplai darah intrinsik tidak cukup untuk mendukung penyembuhan utama tendon dalam banyak kasus. Penyembuhan tendon di dalam selubung lebih lama dibandingkan penyembuhan bagian tendon di luar selubung (Saladin, 2003).

Tiga tahap penyembuhan tendon :

1. Fase Inflamasi

Pada tahap inflamasi, banyak hormon maupun molekul yang ikut berperan. Fase ini dapat berlangsung 72 jam hingga sekitar satu minggu setelah cedera. Cedera yang terjadi pada tendon dapat memicu pelepasan mediator inflamasi serta terbentuknya radikal bebas seperti hidrogen peroxide yang ditandai dengan munculnya keluhan nyeri, pembengkakan, kemerahan dan peningkatan suhu lokal cedera. Sel inflamasi seperti neutrofil dibawa menuju lokasi cedera bersama dengan eritrosit untuk membentuk bekuan darah di tempat cedera. Monosit dan makrofag kemudian muncul dalam 24 jam pertama, mengubah bekuan darah menjadi jaringan granulasi dan memfagositosis materi nekrotik di lokasi cedera (Bauge *et al*, 2015).

2. Fase Proliferasi

Fase proliferasi dimulai dan berlangsung 48 jam sampai lebih dari 6 minggu. Pada fase ini terjadi angiogenesis dan proliferasi tenosit dan fibroblas. Sel tenosit dan fibroblas bergerak menuju lokasi dan mulai mengekspresikan matriks ekstraseluler dan mensintesis kolagen III yang tersusun paralel dan kontinyu menggantikan jaringan granulasi. Pada rupture tendon, terjadi infiltrasi tenosit dan makrofag sehingga terjadi reorganisasi ekstensif kolagen yang terbentuk.

3. Fase Pematangan / Pematangan

Setelah 6 minggu, fase remodeling dimulai. Bagian utama dari fase ini yaitu konsolidasi, yang berjalan selama 6 sampai 10 minggu setelah cedera.

Selama waktu ini, sintesis dari kolagen dan GAG menurun, dan selularitas juga menurun seiring dengan jaringan menjadi lebih fibrous akibat dari meningkatnya produksi kolagen I dan fibril tersusun sesuai arah stress mekanik. Fase maturasi akhir muncul setelah 10 minggu dan terdapat peningkatan crosslinking fibril kolagen yang menyebabkan jaringan menjadi lebih keras (Saladin, 2003).

2.3 Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Klasifikasi tikus putih menurut Sirois (2005) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia

Sub Ordo : Myomorpha

Famili : Muridae

Sub Famili : Murinae

Genus : Rattus

Spesies : *Rattus norvegicus*



Gambar 2.3 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Akbar, 2010).

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan salah satu jenis hewan model percobaan dalam berbagai macam penelitian karena sifat tikus putih lebih mudah berkembang biak, mudah dipelihara, memiliki kondisi seragam serta mudah beradaptasi dari suatu kondisi. Tikus putih ini memiliki ciri-ciri rambut berwarna putih, mata merah, panjang tubuh total 440 mm, panjang ekor 205 mm. Berat badan umumnya pada umur 4 minggu berat tikus mencapai 35-40 gram dan berat dewasa rata-rata 200-250 gram (O'Malley, 2005). Tikus termasuk hewan mamalia, oleh sebab itu dampaknya terhadap suatu perlakuan mungkin tidak jauh berbeda dibanding dengan mamalia lainnya. Tikus sering digunakan pada berbagai penelitian karena murah dan mudah untuk mendapatkannya (Maula,2014).

Tikus putih merupakan strain albino dari *Rattus norvegicus*. Tikus putih memiliki beberapa galur yang merupakan hasil pembiakan sesama jenis atau persilangan seperti Wistar, Sprague Dawley, Madison, Wicoustin dan Long Evans. Tikus putih termasuk ke dalam hewan mamalia yang memiliki ekor panjang. Tikus *Rattus norvegicus* digunakan dalam setiap penelitian karena memiliki keunggulan beberapa asam amino, sistem metabolisme dan organnya hampir sama dengan manusia sehingga memudahkan dalam penelitian, perkembangannya cepat dan mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak (Akbar, 2010). Penggunaan tikus jantan lebih banyak digunakan dalam penelitian daripada tikus betina, terkecuali dalam penelitian spesifik yang mengharuskan menggunakan tikus betina. Hal tersebut dikarenakan dari segi hormonal tikus jantan lebih bersifat stabil dan pemeliharaan tikus jantan lebih mudah dari tikus

betina dikarenakan tikus betina lebih mudah mengalami stress dari tikus jantan (O'Malley,2005).

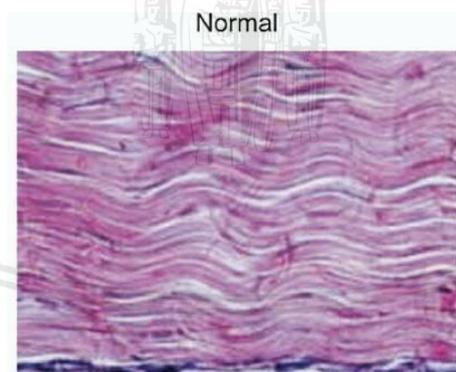
2.4 VEGF

Vaskulogenesis adalah perkembangan pembuluh darah pada awal perkembangan embrio. Angiogenesis adalah pembentukan, remodeling, dan ekspansi pembuluh darah menjadi arteri, vena, dan kapiler pada saat postnatal. VEGF adalah protein homodimer 40kD, yang termasuk keluarga glikoprotein, yang berperan dalam vaskulogenesis dan angiogenesis (Jussila and Alitalo, 2002).

VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) merupakan sinyal protein yang dihasilkan oleh sel yang berfungsi untuk menstimulasi vaskulogenesis dan angiogenesis. VEGF secara normal terdapat pada pertumbuhan embrio, pertumbuhan vaskuler baru pasca cedera, pada otot pasca latihan, dan pembentukan vaskuler baru untuk kolateral karena pembuluh darah utama yang tersumbat. VEGF juga merupakan salah satu faktor pertumbuhan yang berperan penting dalam penyembuhan robek tendon. VEGF juga memerankan peran sebagai faktor angiogenik pada berbagai kondisi patologis seperti iskemia, inflamasi, infeksi dan kelainan imun. VEGF merupakan faktor angiogenik yang bertugas menstimulasi sel endothelial untuk proliferasi, migrasi, dan survival pada kondisi yang jelek. VEGF yang dihasilkan oleh sel-sel inflamasi akan merangsang proliferasi dan diferensiasi menjadi fibroblast, dimana VEGF akan berpengaruh terhadap fibroblast dengan peningkatan produksi kolagen (Sipola, 2009).

2.5 Tebal Kolagen

Kolagen adalah protein utama yang menyusun komponen matriks ekstraseluler dan merupakan protein yang paling banyak ditemukan di dalam tubuh. Kolagen tersusun atas triple helix dari 3 rantai α polipeptida. Kolagen memegang peranan penting pada setiap proses penyembuhan. Kolagen memiliki kemampuan antara lain homeostasis, interaksi dengan trombosit, interaksi dengan fibronektin, meningkatkan eksudasi cairan, meningkatkan komponen seluler, meningkatkan faktor pertumbuhan dan mendorong proses fibroplasia dan terkadang pada proliferasi. Masa kolagen yang relatif avaskuler dan aseluler ini berfungsi untuk mengembalikan kontinuitas, kekuatan, dan fungsi jaringan. Abnormalitas pada proses penyembuhan dapat menyebabkan pembentukan jaringan parut abnormal (Triyono, 2005).



Gambar 2.4 Serabut Kolagen pada Tendon (Huang, 2017).

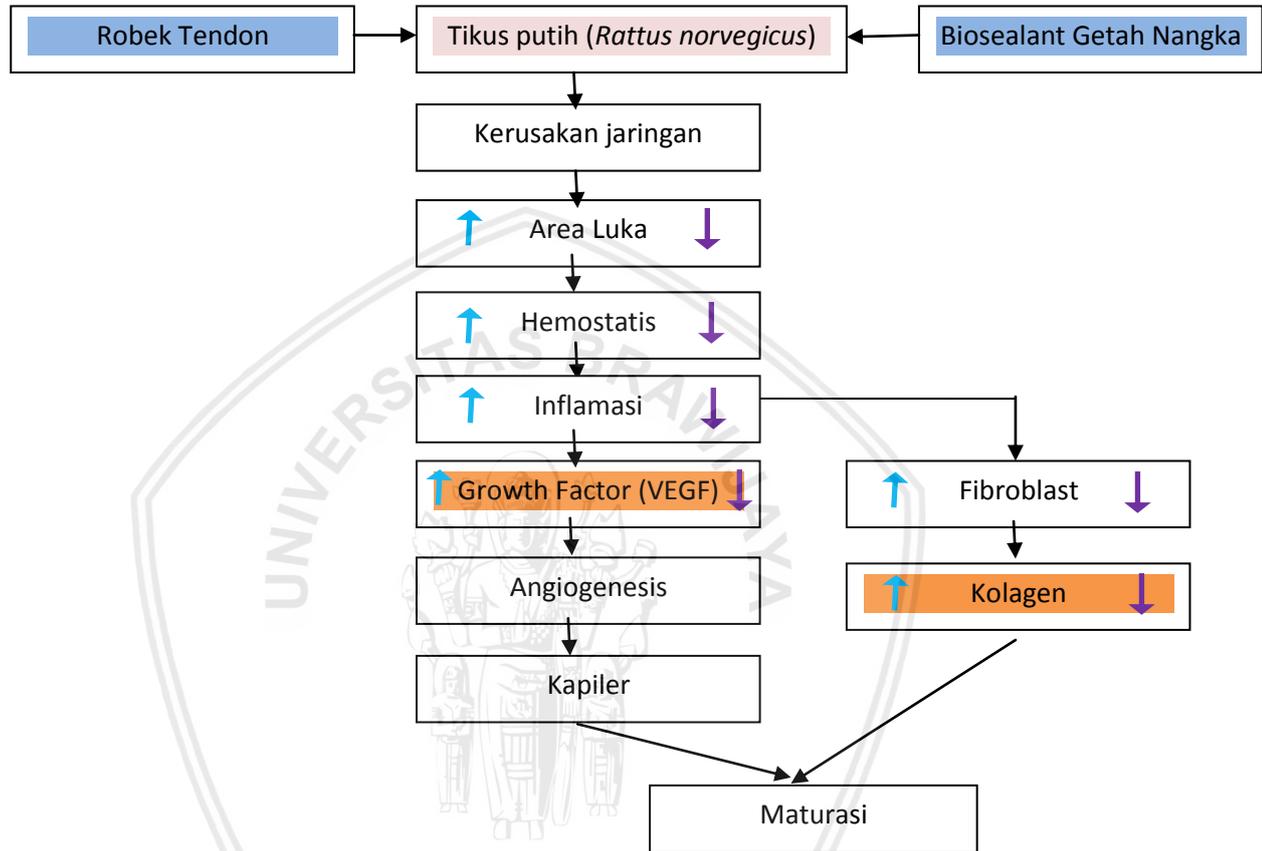
Serabut kolagen pada jaringan segar (fascia, tendon) beraspek putih, karenanya disebut white fiber atau serabut putih dan jumlahnya paling banyak. Sifat umum dari serabut kolagen yaitu lentur (flexible), tetapi susah diregang. Bangun histologik serabut kolagen berbentuk berkas, panjangnya tidak menentu, memiliki ketebalan atau diameter antara 10 sampai 100 mikrometer. Diameter

atau tebal serabut tunggal pada sediaan rutin bervariasi antara 1 sampai 12 mikrometer. Serabut kolagen merupakan gabungan sejumlah fibril, dengan diameter 0,2 sampai 0,5 mikrometer. Pewarnaan rutin serabut kolagen dengan HE memberikan warna merah jambu dengan metode khusus Mallory's triple stain yang mengandung anilin biru (Hernawati, 2008).



BAB 3 KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konseptual



Keterangan :

- = Variabel bebas
- = Variabel terikat
- = Variabel kontrol
- = Efek pemberian terapi (mempercepat)
- = Penyembuhan luka normal

Hewan model tikus putih (*Rattus norvegicus*) diberikan perlakuan insisi pada tendon sehingga menyebabkan kerusakan jaringan. Rusaknya jaringan karena adanya robek tendon menyebabkan terbentuknya area luka dan menyebabkan terjadinya hemostatis yang ditandai dengan aktivasi platelet,

vasokonstriksi, dan pembentukan *fibrin plug*. Platelet yang teragregasi akan memicu fase inflamasi yang ditandai aktifnya *growth factor* yaitu *platelet-derived growth factor* (PDGF) dan *transforming growth factor beta* (TGF β) dimana keduanya akan menginsiasi respon inflamasi dengan menarik sel inflamasi (neutrofil dan makrofag) ke sekitar tempat terjadinya robek tendon. Lamanya fase inflamasi akan memperlambat fase proliferasi yaitu aktivasi *growth factor* (IGF, EGF, VEGF) dan memperlambat terjadinya proliferasi fibroblast. Biosealant getah nangka ini berperan mempercepat pengecilan area luka, dan penurunan hemostatis karena adanya kandungan pektin dan selulosa yang memiliki sifat sebagai perekat dan menjaga stabilitas jaringan dan sel. Biosealant getah nangka juga mengandung tanin yang memiliki sifat antioksidan, antibakteri dan antiinflamasi, sehingga dapat menurunkan respon inflamasi yang menyebabkan fase inflamasi akan berlangsung lebih singkat dan masuk kedalam fase proliferasi. Pada fase ini makrofag bekerja dalam merangsang aktivasi *growth factor*. Salah satu *growth factor* yang berperan dalam proses kesembuhan robek tendon adalah VEGF yang berfungsi merangsang sel endotel mitogenesis dan migrasi sel. VEGF akan terlibat pada tahapan angiogenesis yang akan meningkatkan proliferasi dan migrasi sel endotel serta membentuk pembuluh darah baru. Terbentuknya pembuluh darah baru akan menutrisi kembali jaringan yang rusak. Disamping itu, makrofag juga berperan dalam migrasi dan proliferasi fibroblas yang mengarah ke area robek tendon. Terjadinya peningkatan proliferasi fibroblas akibat efek pemberian biosealant getah nangka berperan dalam memproduksi matriks kolagen satu arah dalam jumlah yang besar sehingga akan memperbaiki jaringan tendon

yang rusak. Proses kesembuhan robek tendon memasuki fase maturasi yang diikuti dengan terbentuknya pembuluh darah baru dan penataan serat kolagen satu arah sepanjang area robek tendon untuk meningkatkan kekuatan jaringan tendon baru.

3.2 Hipotesa Penelitian

1. Pemberian Biosealant getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) dapat meningkatkan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) pada robek tendon tikus putih (*Rattus norvegicus*) sehingga mempercepat proses remodeling robek tendon.
2. Pemberian Biosealant getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) dapat mempengaruhi tebal kolagen pada tendon tikus putih (*Rattus norvegicus*).

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan selama empat bulan, dimulai dari bulan Februari 2018. Penelitian ini dilakukan di beberapa laboratorium yaitu Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Islam Maulana Malik Negeri Malang, Laboratorium Histologi Veteriner Universitas Brawijaya, Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.2. Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain; kandang pemeliharaan tikus putih, pisau, wadah penampung getah nangka, nipple minum, scalpel, hot plate, mikrotom, spatula, pot sampel, cetakan paraffin, kawat, incubator, alat bedah, timbangan, alat cukur, seperangkat alat jahit, dan lampu UV.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain; getah nangka, bahan untuk membuat preparat histopatologi yang meliputi formalin, alkohol (70%, 80%, 90%, 95%), ethanol absolut, xylol, parafin, ewit, pewarna hematoxilin-eosin, pewarna immunohistokimia, antibodi VEGF, poly lysine, alkohol asam, balsam kanada, objek glass dan cover glass, tikus putih (*Rattus novergicus*), pakan dan minum tikus, serta underpad sebagai alas kandang.

4.3. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian yaitu hewan coba berupa tikus putih (*Rattus novergicus*), berat badan 100-200 gram berumur 2-3 bulan yang didapatkan dari Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Islam Maulana Malik Negeri. Hewan coba diadaptasikan selama tujuh hari untuk menyesuaikan kondisi di sekitar Laboratorium. Jumlah hewan coba yang digunakan sebagai sampel dihitung dengan rumus berikut (Kusriningrum, 2008):

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

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4.5$$

Keterangan:

t: jumlah perlakuan

n: jumlah ulangan yang diperlukan

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

4.4. 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 hewan coba pada penelitian ini adalah:

Tabel 1.1 Kelompok Hewan Coba

Kelompok	Perlakuan
Kontrol Negatif	Kelompok hewan coba yang tidak diberi insisi pada tendo Achilles kaki kiri dan tidak diberi terapi.
Kontrol Positif	Kelompok hewan coba yang diberi insisi pada tendo Achilles kaki kiri tanpa diberi perlakuan tambahan.
Perlakuan 1 (P1)	Kelompok hewan coba yang diberi insisi pada tendo Achilles kaki kiri dan diberi minum analgesic asam mefenamat dengan dosis 50 mg/kg BB selama 5 hari.
Perlakuan 2 (P2)	Kelompok hewan coba yang diberi insisi pada tendo Achilles diberi minum analgesik asam mefenamat dengan dosis 50 mg/kg BB selama 5 hari dan lem biosealant getah nangka sebanyak 10 mg kemudian diberi pancaran sinar UV 1 menit sebanyak satu kali untuk membantu pengerasan biosealant dan untuk mensterilkan luka.

4.5. Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

- a) Variabel bebas: Terapi lem biosealant getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*), robek tendon
- b) Variabel terikat : Ekspresi VEGF dan Tebal Kolagen
- c) Variabel kontrol :
 1. Homogenitas tikus (galur, jenis kelamin, berat badan, usia, suhu pemeliharaan, jenis pakan dan kandang).
 2. Pengecekan jahitan dan penggantian under pad
 3. Intensitas pemberian terapi

4.6. Prosedur Kerja

4.6.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dengan berat badan berkisar 100-200 gram dengan usia 2-3 bulan. Hewan coba tersebut dibagi menjadi 4 kelompok, masing-masing kelompok berisikan 5 ekor hewan coba. Hewan coba dirawat di Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Islam Maulana Malik Negeri Malang. Hewan coba dipelihara di dalam kandang balok plastik berukuran 17.5 x 23.75 x 17.5 cm yang diberi penutup dari kawat. Kandang tikus ditempatkan pada tempat yang nyaman.

4.6.2 Pembuatan Biosealant Getah Nangka

Pembuatan biosealant dilakukan di Laboratorium Histologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. Getah nangka didapatkan dengan cara memotong pada bagian pangkal buah nangka hingga getah keluar. Setelah itu getah ditampung didalam wadah plastik dan dibuang cairannya sehingga hanya diambil getahnya saja. Kemudian getah dipindahkan ke cawan petri dan disterilkan menggunakan sinar UV selama 1 menit sebanyak dua kali. Kemudian getah dipanaskan di atas kompor listrik dengan suhu 60°C selama 1 menit agar tidak menggumpal.

4.6.3 Pembuatan Insisi Robek Tendon Pada Hewan Coba

Hewan coba tikus diadaptasikan pada kondisi laboratorium selama 7 hari. Tikus kemudian dikelompokkan menjadi empat kelompok, masing-masing terdiri dari lima ekor tikus. Tikus tersebut diberi tanda pada bagian ekor dengan spidol *waterproof*. Lokasi insisi dibersihkan dari rambut hingga bersih, kemudian dioles

kapas beralkohol 70% untuk sterilisasi dan dilakukan injeksi anastesi menggunakan ketamine dan xylazine secara IM untuk mempermudah peneliti dalam memberi perlakuan insisi pada hewan coba. Kemudian dilakukan insisi pada kulit bagian belakang tungkai bawah ekstremitas caudal sebelah kanan. Selanjutnya, tendon Achilles dikuakkan dan dilakukan insisi pada tendon Achilles untuk membuat luka robek sepanjang 0.5 cm.

Luka robek tendon pada tikus diberi terapi biosealant getah nangka sekali pemberian dengan cara dioleskan ke seluruh bagian permukaan tendon yang robek. Kemudian diberi pancaran sinar UV selama 1 menit sebanyak satu kali untuk membantu pengerasan biosealant dan untuk mensterilkan luka, lalu dilakukan penjahitan pada kulit yang diinsisi. Pemberian pakan dan air minum dilakukan secara *ad libitum*, untuk perlakuan 1 dan perlakuan 2 pada air minum dicampur dengan asam mefenamat. Luka tidak difiksasi dan pemberian asam mefenamat dicampur dengan air minum bertujuan agar tikus tidak memberikan gerakan ekstra pada saat dilakukan handling yang dapat menyebabkan lem biosealant yang belum kering terkoyak dan lepas. Tikus diusahakan ada pada posisi yang nyaman serta leluasa untuk bergerak. Kandang juga dibersihkan secara rutin. Kandang yang digunakan adalah kandang individu dengan menggunakan alas under pad.

4.6.4 Pemberian Perlakuan

Masing-masing hewan coba diberi sekali pemberian terapi. Biosealant getah nangka diberikan secara topikal sebanyak 10 mg, yaitu dengan cara mengoleskan tipis pada lokasi robek tendon. Biosealant getah nangka diberikan

setidaknya setipis mungkin dan menutupi seluruh bagian permukaan tendon yang robek. Untuk kelompok K(+) dilakukan insisi tanpa diberi terapi apapun. Kelompok P1 dilakukan insisi dan diberi minum Asam Mefenamat dosis 50 mg/kg BB selama 5 hari. Kelompok P2 dilakukan insisi, diberi terapi biosealant getah nangka sebanyak 10 mg dan diberi minum Asam Mefenamat dosis 50 mg/kg BB selama 5 hari (Mercya, 2017). Kelompok K- tidak diinsisi dan tidak diberi terapi apapun. Setelah dioleskan biosealant getah nangka, kulit segera ditutup dengan dilakukan penjahitan dan diberi pancaran sinar UV selama 1 menit sebanyak satu kali. Lama terapi yang diberikan adalah 14 hari.

4.6.5 Pengambilan Sampel Organ Tendon

Pengambilan jaringan tendon hewan coba dilakukan 14 hari setelah insisi. Sebelum di ambil jaringan, dilakukan euthanasia dengan cara *dislokasio os cervicalis*, kemudian dilakukan pelepasan jahitan pada kulit untuk mendapatkan tendon. Tendon dipotong secara keseluruhan kemudian dimasukkan pada larutan formalin 10% sebelum dilakukan pembuatan preparat histopatologi (Irawan dkk, 2012).

4.6.6 Pembuatan Preparat Histopatologi

Setelah hewan dinekropsi kemudian organ tendon diambil dan direndam dalam formalin 10% selama kurang lebih 18-24 jam. Setelah tendon terfiksasi, larutan diganti dengan alkohol 70% yang dikenal sebagai “*stopping point*” dengan pengertian jaringan dapat disimpan lama pada larutan ini. Tahap selanjutnya adalah dehidrasi dengan menggunakan larutan alkohol dengan konsentrasi bertingkat mulai 80% (20 bagian akuades + 80 alkohol absolut), 90% (10 bagian

akuades + 90 alkohol absolut), 100% masing- masing selama 1 jam, dijernihkan dengan xylol I sampai III (*clearing*) masing-masing 20 menit, kemudian sampel tendon dimasukkan ke dalam parafin cair I, II, III pada incubator parafin suhu 58-60°C (infiltrasi parafin), dan sampel tendon ditutup menggunakan *tissue cassette* (*embedding*). Potongan jaringan yang telah dimasukkan pada parafin cair ditunggu hingga memadat. Jaringan dalam paraffin tersebut dipotong dengan ketebalan 5 mikron, kemudian dilekatkan pada objek glass yang telah dilapisi poly lysin. Jaringan yang telah ada pada *object glass* tersebut disimpan dalam inkubator bersuhu 40°C. Sediaan dibagi 2 kemudian salah satu diwarnai secara IHK VEGF dan Masson's Trichome (Samson and Unity,2014).

4.6.7 Pengukuran Tebal Kolagen dengan Pewarnaan Masson's Trichome

Pewarnaan Masson's Trichome merupakan pewarnaan khusus untuk serat elastin dan retikulin. Serat retikulin adalah serat kolagen yang kaya akan selubung glikoprotein yang akan terlihat berwarna biru dalam pewarnaan ini (Cotran, 2003).

Preparat dipanaskan pada oven selama 10 menit sebelum dilakukan deparafinisasi. Ditetaskan larutan Neutral Red 0,5% selama 5 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 5 menit selanjutnya dibilas dengan aquadest. Ditetaskan dengan larutan Acid Fuchsin selama 5 menit, yang kemudian dicuci dengan aquadest selama 5 menit. Selanjutnya ditetaskan Posphosphomolybdic Acid selama 5 menit larutan yang tersisa dibuang. Ditetaskan larutan Methyl Blue selama 2 sampai 5 menit yang kemudian dibilas dengan aquadest selama 5 menit. Ditetaskan larutan Acetic Acid 1% selama 2 menit setelahnya dilakukan dehidrasi

menggunakan alkohol 95% dan 100%. Dibersihkan menggunakan Xylene sebanyak 2 kali yang selanjutnya dilakukan mounting dengan balsam kanada dan ditutup dengan cover glass. Pengukuran ketebalan kolagen dilakukan dengan menggunakan mikroskop Olympus seri EX51 dengan perbesaran 400x pada satu lapang pandang (Novriansyah, 2008).



Gambar 4.1 Simulasi Pengukuran Kolagen Pewarnaan Masson's Trichome (Tsai Yun-Pu dkk, 2013)

4.6.8 Analisis Ekspresi VEGF pada Jaringan Tendon dengan Metode Immunohistokimia

Menurut Samson and Unitily (2014), pewarnaan imunohistokimia memiliki 3 tahapan yang harus dilakukan, yaitu preparasi gelas obyek yang digunakan untuk penempelan preparat atau sediaan histologis, pembuatan neufren (agen penempel) untuk membantu proses afixing preparat ke gelas obyek dan prosedur pewarnaan imunohistokimia itu sendiri. Pewarnaan imunohistokimia meliputi beberapa tahap preparasi, antara lain preparasi gelas obyek, pelapisan (*coating*) gelas obyek dengan neufren (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 μ L dan diinkubasi pada suhu 4°C selama 1 malam. Selanjutnya slide dicuci dengan PBS selama 5 menit (3x). Slide diberi antibodi/Ab primer VEGF Mouse monoclonal (Santa Cruz, cat. no. sc-7269) sebanyak 30 μ L dan slide diletakkan di dalam 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 berlabel biotin (Scytek) 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 H₂O₂ (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, direkam dengan menggunakan scanning digital sebanyak 5x lapang pandang menggunakan perbesaran 400x.

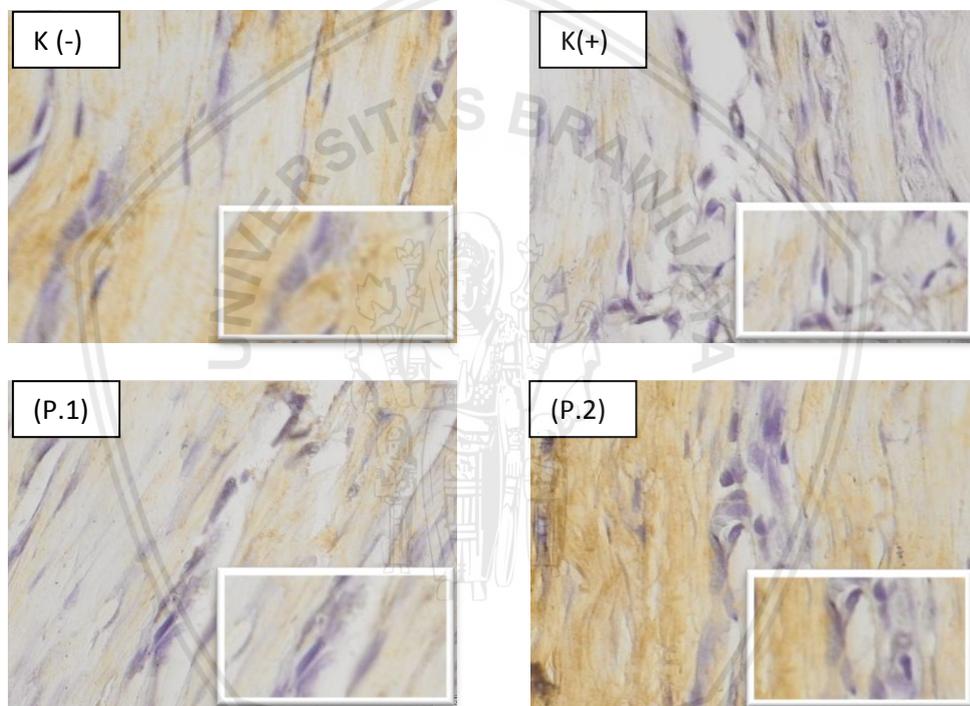
4.6.9 Analisis Data

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekspresi VEGF dan ketebalan kolagen dengan dianalisis data secara kuantitatif dengan menggunakan software immunoratio, kemudian menggunakan microsoft excel dan SPSS for windows 24 dengan analisis statistik ragam one-way ANOVA dengan uji lanjutan Tukey $\alpha=0,05$ (Kusriningrum, 2008).

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Ekspresi VEGF pada Robek Tendon

Hasil ekspresi VEGF pada model robek tendon tikus putih dengan teknik imunohistokimia ditunjukkan dengan adanya ekspresi warna kecoklatan pada tendon yang dapat dilihat pada **Gambar 5.1**



Gambar 5.1. Ekspresi VEGF Tendon Tikus (*Rattus norvegicus*) dengan Metode Imunohistokimia (Perbesaran 400x).

Keterangan: K(-) Tikus sehat, K(+) Tikus dengan perlakuan robek tendon tanpa diberi perlakuan tambahan, (P.1) Tikus dengan perlakuan robek tendon dan diberi analgesik asam mefenamat dengan dosis 50 mg/kgBB, (P.2) Tikus dengan perlakuan robek tendon dan diberi analgesik asam mefenamat dosis 50 mg/kgBB serta diberi lem biosealant getah nangka sebanyak 10 mg.

Berdasarkan hasil ekspresi VEGF yang terlihat pada **Gambar 5.1 (K-)** menunjukkan adanya warna coklat yang berarti terdapatnya VEGF pada jaringan

tersebut. Pada **Gambar 5.1 K(+)** tikus dengan perlakuan robek tendon tanpa diberikan terapi tambahan menunjukkan ekspresi VEGF dengan warna cokelat yang lebih rendah dibandingkan kelompok K(-). Hal tersebut dikarenakan proses kesembuhan robek tendon belum memasuki fase proliferasi yang optimal sehingga VEGF belum terekspresi sepenuhnya. Pada kelompok perlakuan **Gambar 5.1 (P.2)** memiliki ekspresi VEGF dengan warna cokelat yang lebih tinggi dibandingkan **Gambar 5.1 (P.1)**.

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

Tabel 5.1. Hasil Uji Tukey terhadap ekspresi VEGF

Kelompok	Rata-rata Area Ekspresi VEGF (%) (Rata-rata \pm SD)	Peningkatan terhadap K(+) (%)	Penurunan terhadap K(-) (%)
Kontrol (-)	95.76 \pm 0.69% ^a	-	-
Kontrol (+) (Tanpa terapi tambahan)	64.03 \pm 4.72% ^c	-	33.14%
Perlakuan 1 (Asam mefenamat)	83.16 \pm 3.08% ^b	23%	-
Perlakuan 2 (Asam mefenamat + lem biosealant)	92.16 \pm 0.88% ^a	30.52%	-

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

Hasil uji tukey terhadap ekspresi VEGF hari ke-14 pada kelompok kontrol (-) memiliki rata-rata 95.76 \pm 0.69 yang digunakan sebagai standar untuk menentukan penurunan ekspresi VEGF terhadap kelompok K(+) dan peningkatan ekspresi VEGF yang terjadi pada kelompok terapi. Kelompok K(+) memiliki rata-rata 64.03 \pm 4.72 dengan nilai presentasi penurunan terhadap kelompok kontrol (-)

33.14%. Kelompok tikus robek tendon dengan terapi analgesik asam mefenamat dosis 50 mg/kgBB menunjukkan peningkatan 23% dengan rata-rata sebesar 83.16 ± 3.08 . Kelompok tikus robek tendon dengan terapi analgesik asam mefenamat dosis 50 mg/kgBB serta lem biosealant getah nangka 10 mg menunjukkan peningkatan 30.52% dengan rata-rata sebesar 92.16 ± 0.88 .

Ekspresi VEGF pada kelompok tikus sehat K(-) memiliki rata-rata area ekspresi tertinggi dimana secara normal jaringan akan meregenerasi sel-sel yang mengalami kematian secara terprogram atau apoptosis sehingga dibutuhkan *growth factor* sebagai mitogen dalam proses regenerasi sel. VEGF merupakan salah satu mitogen spesifik tertinggi dalam sel endotel yang tidak hanya terekspresi pada endotel dinding pembuluh darah baru, tetapi juga terekspresi pada dinding pembuluh darah lama pada tendon yang berfungsi untuk menyuplai darah dan menutrisi tendon (Hoeben et al, 2004).

Ekspresi VEGF pada kelompok tikus tanpa perlakuan tambahan K(+) menunjukkan ekspresi VEGF dengan warna cokelat dan rata-rata area ekspresi VEGF yang lebih rendah dibandingkan kelompok K(-). Hal tersebut dikarenakan proses kesembuhan kelompok robek tendon tanpa perlakuan tambahan K(-), berada pada fase inflamasi dan belum memasuki fase proliferasi yang optimal, sehingga VEGF belum terekspresi sepenuhnya dan pertumbuhan pembuluh darah baru belum optimal. Jaringan tendon memiliki suplai aliran darah yang relatif rendah dan relatif sedikit sel, sehingga penyembuhan dan perbaikan tendon relatif lebih lama (Kim et al, 2016).

Ekspresi VEGF pada kelompok tikus (P.1) dengan terapi analgesik asam mefenamat menunjukkan adanya peningkatan ekspresi VEGF dibandingkan dengan kelompok tikus tanpa perlakuan tambahan K(+), tetapi peningkatan belum mendekati kelompok tikus sehat (K-). Hal ini dikarenakan asam mefenamat mempunyai sifat antiinflamasi, antipiretik dan analgesik. Mekanisme kerja dari asam mefenamat yaitu menghambat enzim siklo-oksigenase, dimana enzim siklooksigenase berfungsi membantu tubuh dalam memproduksi bahan kimia yaitu prostaglandin. Prostaglandin adalah salah satu faktor kimia yang dihasilkan dari adanya proses inflamasi yang berperan sebagai mediator peradangan dan nyeri (Brunton *et al.*, 2008). Penghambatan siklo-oksigenase dapat membantu reaksi inflamasi berlangsung lebih singkat dan segera masuk ke fase proliferasi, sehingga pada fase proliferasi makrofag mulai bekerja dalam mengaktifasi VEGF yang terlibat pada tahapan angiogenesis dan pembentukan pembuluh darah baru. Meningkatnya ekspresi VEGF pada kelompok tikus (P.1) dibandingkan dengan ekspresi VEGF kelompok tikus tanpa perlakuan tambahan K(+), menjelaskan bahwa asam mefenamat yang merupakan golongan NSAID terbukti berkhasiat sebagai antiinflamasi dan analgetika dengan mekanisme menghambat prostaglandin melalui penghambatan enzim siklooksigenase sehingga dapat digunakan sebagai obat perbandingan (Wilmana, 2007).

Ekspresi VEGF pada kelompok tikus (P.2) dengan pemberian terapi analgesik asam mefenamat serta lem biosealant getah nangka menunjukkan adanya peningkatan ekspresi VEGF dibandingkan dengan kelompok tikus K(+) dan (P.1), serta menunjukkan peningkatan ekspresi VEGF mendekati kelompok

tikus sehat K(-). Hal ini dikarenakan selain adanya sifat antiinflamasi dari asam mefenamat, pada getah nangka juga memiliki kandungan utama yang dapat membantu penyembuhan robek tendon yaitu pektin dan selulosa. Pektin memiliki kemampuan menstimulasi sel darah putih (leukosit) untuk melakukan kemotaksis ke dalam area yang terluka (Chansiripornchai *et al.*, 2005). Paparan sel darah putih yang semakin banyak ke dalam area yang terluka akan semakin cepat memfagositosis kuman-kuman atau bakteri didalam area robek pada tendon, sehingga proses pembersihan area luka pada tendon semakin cepat dan tendon tidak mengalami kerusakan yang bertambah parah. Pektin juga berperan sebagai antibakteri yang memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri yang dapat menyebabkan infeksi. Kandungan selulosa berperan sebagai perekat untuk menyatukan dan memfiksasi kedua sisi tendon yang robek. Menurut Arung *et al* (2008) selain pektin, getah nangka juga mengandung tanin yang bersifat sebagai antioksidan, antibakteri, dan antiinflamasi yang dapat membantu mempercepat proses penyembuhan, sehingga fase inflamasi dapat berlangsung lebih singkat dan segera masuk ke fase proliferasi. Pada fase proliferasi, makrofag bekerja dalam merangsang aktifitas *growth factor* yaitu VEGF yang berfungsi dalam menstimulasi angiogenesis serta membentuk pembuluh darah baru sehingga dapat menutrisi kembali jaringan tendon yang rusak. Menurut Khanbabaee *et al* (2001), kandungan tanin mampu mempercepat penyembuhan dengan beberapa mekanisme seluler yaitu mencegah radikal bebas, meningkatkan penutupan luka pada tendon, serta meningkatkan

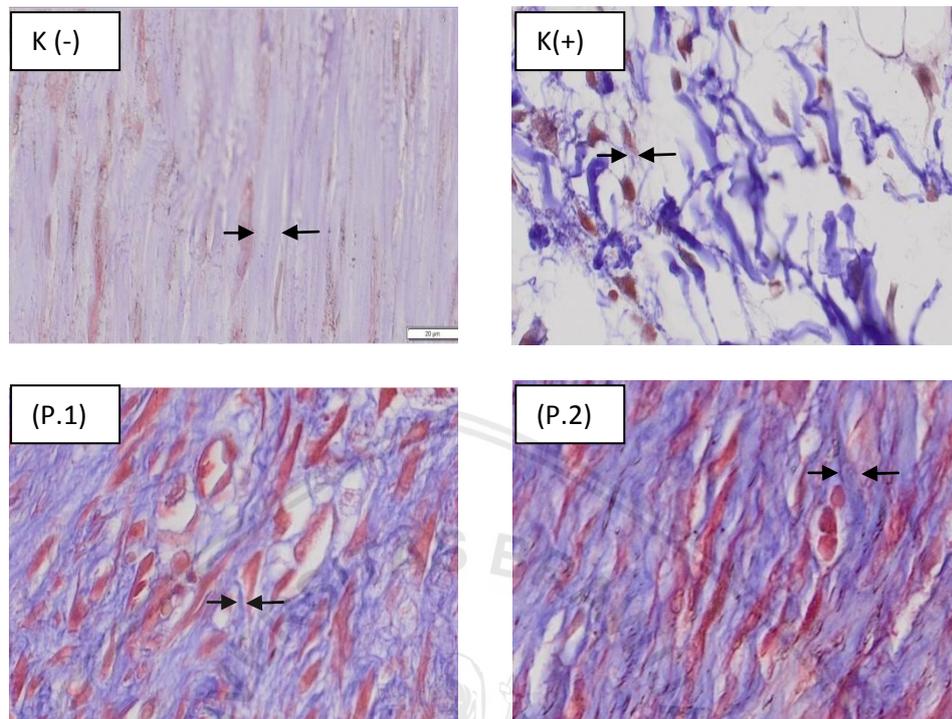
pembentukan pembuluh darah baru dengan menstimulasi angiogenesis dan meningkatkan produksi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF).

Berdasarkan hasil uraian dan analisa statistik uji *one-way* ANOVA tersebut dapat disimpulkan bahwa penggunaan getah nangka sebagai biosealant mampu meningkatkan ekspresi VEGF pada tikus model robek tendon, karena menunjukkan hasil ekspresi VEGF tidak berbeda nyata dengan kelompok tikus sehat.

5.2 Ketebalan Kolagen pada Robek Tendon

Parameter keberhasilan pemberian lem biosealant getah nangka pada tikus model robek tendon juga dilihat melalui pengamatan dan pengukuran tebal kolagen dengan pewarnaan *Masson's Trichome*. Pewarnaan *Masson's Trichome* merupakan pewarnaan yang digunakan untuk mewarnai serabut jaringan ikat, sehingga kolagen akan tampak berwarna biru pada pewarnaan ini.

Berdasarkan **Gambar 5.2** hasil pewarnaan kolagen tampak berwarna biru. Pada **Gambar 5.2. K(-)** merupakan tikus sehat, dapat dilihat bahwa serabut kolagen terwarnai biru dengan ketebalan yang sangat jelas. Kelompok kontrol negatif digunakan sebagai standar untuk membandingkan peningkatan ketebalan kolagen pada kelompok terapi. **Gambar 5.2 K(+)** menunjukkan bahwa serabut kolagen terwarnai biru dengan ukuran yang sangat tipis. Pada kelompok terapi yaitu **Gambar 5.2 (P.2)** memiliki ketebalan kolagen paling tinggi dibandingkan dengan kelompok K(+) dan **(P.1)**. **Gambar 5.2 (P.1)** serabut kolagen terwarnai biru dengan tingkat ketebalan kolagen sedang.



Gambar 5.2. Histopatologi Kolagen Jaringan Tendon Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) dengan pewarnaan *Masson's Trichome* (Perbesaran 400x).

Keterangan: K(-) Tikus sehat, K(+) Tikus dengan perlakuan robek tendon tanpa diberi perlakuan tambahan, (P.1) Tikus dengan perlakuan robek tendon dan diberi analgesik asam mefenamat dengan dosis 50 mg/kgBB, (P.2) Tikus dengan perlakuan robek tendon dan diberi analgesik asam mefenamat dosis 50 mg/kgBB serta diberi lem biosealant getah nangka sebanyak 10 mg. Pada K(-) dapat terlihat ketebalan kolagen yang lebih jelas dibandingkan dengan K(+). Pada (P.2) memiliki ketebalan kolagen mendekati dengan K(-).

Pengukuran ketebalan kolagen dengan mikroskop menggunakan *micrometer* dengan perbesaran 400x dengan 5 lapang pandang yang kemudian dianalisa statistik menggunakan metode *one-way ANOVA* sehingga didapatkan nilai $p < 0,05$, kemudian dilanjutkan dengan uji Tukey $\alpha = 0,05$ terhadap ketebalan kolagen dapat dilihat pada **Tabel 5.2**.

Tabel 5.2. Hasil Uji Tukey terhadap ketebalan kolagen

Kelompok	Rata-rata Ketebalan Kolagen (Rata-rata \pm SD)	Peningkatan terhadap K(+)	Penurunan terhadap K(-)
Kontrol (-)	19.48 \pm 0.83 μ m ^a	-	-
Kontrol (+) (Tanpa terapi tambahan)	12.27 \pm 0.56 μ m ^b	-	37%
Perlakuan 1 (Asam mefenamat)	14.12 \pm 1,92 μ m ^b	13.1%	-
Perlakuan 2 (Asam mefenamat + lem biosealant)	17.75 \pm 0.36 μ m ^a	30.87%	-

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

Berdasarkan hasil uji tukey terhadap ketebalan kolagen pada tikus model robek tendon hari ke-14 kelompok kontrol (-) menunjukkan rata-rata 19.48 \pm 0.83 yang digunakan sebagai standar untuk menentukan penurunan ketebalan kolagen terhadap kelompok tanpa perlakuan tambahan K(+) dan peningkatan ketebalan kolagen pada kelompok terapi. Kelompok K(+) menunjukkan rata-rata 12.27 \pm 0.56 dengan nilai presentasi penurunan terhadap kelompok kontrol (-) 37%. Kelompok tikus robek tendon dengan terapi analgesik asam mefenamat dosis 50 mg/kgBB menunjukkan peningkatan 13.1% dengan rata-rata sebesar 14.12 \pm 1,92. Kelompok tikus robek tendon dengan terapi analgesik asam mefenamat dosis 50 mg/kgBB serta diberi lem biosealant getah angka 10 mg menunjukkan peningkatan 30.87% dengan rata-rata sebesar 17.75 \pm 0.36. Hasil uji tukey menunjukkan adanya perbedaan nyata antara kelompok K(-) dengan K(+).

Ketebalan kolagen pada kelompok tikus sehat K(-) menunjukkan adanya perbedaan nyata dengan kelompok tikus tanpa perlakuan tambahan K(+) dan kelompok tikus (P.1), hal ini disebabkan karena tendon kelompok tikus sehat K(-) tidak mengalami kerusakan yang dapat berpengaruh terhadap struktur dan

ketebalan kolagen. Masa kolagen ini berfungsi untuk mengembalikan kontinuitas, kekuatan, dan fungsi jaringan. Kekuatan tensile tendon berhubungan dengan ketebalan dan komponen kolagennya (Gurtner, 2007). Tingginya rata-rata ketebalan kolagen pada kelompok tikus sehat K(-) dapat disebabkan karena adanya pembuluh darah yang berkerja menyuplai darah menuju tendon untuk menutrisi tendon sehingga terjadi peningkatan ketebalan kolagen (Hurle, 2009).

Ketebalan kolagen pada kelompok tikus tanpa perlakuan tambahan K(+) menunjukkan adanya penurunan ketebalan kolagen dibandingkan dengan kelompok tikus K(-). Hal ini disebabkan karena proses inflamasi pada kelompok K(+) berlangsung cukup lama. Lamanya fase inflamasi disebabkan karena jaringan tendon memiliki suplai aliran darah yang relatif rendah dan relatif sedikit sel, sehingga perbaikan tendon relatif lebih lama dan menyebabkan penyembuhan robek tendon belum memasuki fase proliferasi yang optimal sehingga memperlambat terjadinya proliferasi fibroblas yang mengarah ke area robek tendon. Menurut Gurtner (2007), fibroblas merupakan sel yang mensintesis matriks ekstraseluler yang kemudian digantikan oleh kolagen. Terhambatnya proliferasi fibroblas menyebabkan pembentukan kolagen yang kurang optimal. Hal tersebut menimbulkan adanya kerenggangan antar serabut kolagen.

Ketebalan kolagen pada kelompok tikus (P.1) dengan terapi analgesik asam mefenamat dosis 50 mg/kgBB menunjukkan adanya peningkatan ketebalan kolagen dibandingkan dengan kelompok tikus tanpa perlakuan tambahan K(+) meskipun secara statistik tidak terjadi perbedaan nyata, akan tetapi peningkatan ketebalan kolagen pada kelompok tikus (P.1) berbeda nyata dengan kelompok

tikus sehat K(-). Hal ini dikarenakan asam mefenamat memiliki sifat antiinflamasi, antipiretik, dan analgesik. Mekanisme kerja dari asam mefenamat yaitu menghambat enzim siklo-oksigenase, dimana enzim siklooksigenase berfungsi membantu tubuh dalam memproduksi bahan kimia yaitu prostaglandin. Prostaglandin adalah salah satu faktor kimia yang dihasilkan dari adanya proses inflamasi yang berperan sebagai mediator peradangan dan nyeri (Brunton *et al.*, 2008). Penghambatan siklo-oksigenase dapat membantu reaksi inflamasi berlangsung lebih singkat dan segera masuk ke fase proliferasi. Pada fase proliferasi makrofag berperan dalam migrasi dan proliferasi fibroblas menuju ke area robek tendon. Peningkatan proliferasi fibroblas mengakibatkan peningkatan produksi matriks kolagen pada kelompok tikus (P.1) dibandingkan dengan kelompok tikus tanpa perlakuan tambahan K(+), hal ini menjelaskan bahwa asam mefenamat yang merupakan golongan NSAID terbukti berkhasiat sebagai antiinflamasi dan analgetika dengan mekanisme menghambat prostaglandin melalui penghambatan enzim siklooksigenase sehingga dapat digunakan sebagai obat pembanding (Wilmana, 2007).

Ketebalan kolagen pada kelompok tikus (P.2) dengan pemberian terapi analgesik asam mefenamat dan lem biosealant getah nangka menunjukkan adanya peningkatan ketebalan kolagen dibandingkan dengan kelompok tikus K(+) dan (P.1), serta menunjukkan peningkatan ketebalan kolagen mendekati kelompok tikus sehat K(-). Hal ini dikarenakan selain sifat antiinflamasi dari asam mefenamat, pada getah nangka memiliki kandungan utama dalam membantu penyembuhan robek tendon yaitu pektin dan selulosa. Pektin memiliki

kemampuan menstimulasi sel darah putih (leukosit) untuk melakukan kemotaksis ke dalam area yang terluka (Chansiripornchai *et al.*, 2005). Pektin juga berperan sebagai antibakteri dengan menghambat pertumbuhan bakteri yang dapat menyebabkan infeksi. Kandungan selulosa berperan sebagai perekat untuk menyatukan dan memfiksasi kedua sisi tendon yang robek. Selain itu getah nangka juga mengandung tanin yang bersifat sebagai antioksidan, antibakteri, dan antiinflamasi (Arung *et al.*, 2008). Menurut Khanbabaee *et al* (2001), kandungan tanin mampu mempercepat penyembuhan dengan beberapa mekanisme seluler yaitu mencegah radikal bebas, meningkatkan penutupan luka pada tendon, dan meningkatkan pembentukan pembuluh darah serta fibroblas. Kandungan tersebut menyebabkan fase inflamasi dapat berlangsung lebih singkat dan segera masuk ke fase proliferasi. Pada fase proliferasi, makrofag berperan dalam migrasi dan proliferasi fibroblas ke area robek tendon. Fibroblas merupakan tipe sel utama untuk sintesis kolagen. Selain itu, peningkatan pembentukan proliferasi fibroblas dapat dipengaruhi oleh peningkatan pembentukan pembuluh darah akibat adanya VEGF yang berperan baik dalam suatu proses angiogenesis, sehingga sel-sel fibroblas tersebut akan memproduksi matriks kolagen yang berlimpah dan dapat memperbaiki jaringan tendon yang rusak.

Berdasarkan hasil uraian dan analisa statistik uji *one-way* ANOVA tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian getah nangka sebagai biosealant mampu meningkatkan ketebalan kolagen pada tikus model robek tendon, karena menunjukkan hasil ketebalan kolagen tidak berbeda nyata dengan kelompok tikus sehat.

BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian terapi Biosealant getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) dapat meningkatkan ekspresi VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) dalam penyembuhan robek tendon pada tikus (*Rattus norvegicus*).
2. Pemberian terapi Biosealant getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) dapat meningkatkan ketebalan kolagen dalam penyembuhan robek tendon pada tikus (*Rattus norvegicus*).

6.2 Saran

Adapun saran untuk penelitian ini yaitu:

1. Perlu dilakukan adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis efektif getah nangka pada penyembuhan robek tendon.
2. Perlu dilakukan adanya penelitian lebih lanjut dengan pengamatan histopatologi beberapa interval waktu pada proses kesembuhan robek tendon yang mewakili fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase maturasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, B. 2010. Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Anti Fertilitas. Jakarta: Adabia Press. 4-5.
- Arung, E. T., Sukaton, E., Shimizu, K., Muladi, S., Kondo, R.. 2008. Artocarpin, A Promosing Compound as Whitening Agent and Anti-skin Cancer. *Journal Tropical Wood Science and Technology.*, 1, 1-36.
- Bauge C., Leclercq S., Conrozier T., Boumediene K. 2015. Reduce Inflammation and MMP Expression in Monolayer Culture of Tendon Cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*; 15:217.
- Brunton, L. K. Parker, D. Blumenthal, I. Buxton. 2008. *Goodman and Gilman's Manual of Pharmacology and Therapeutics*. McGraw-Hill. New York.
- Casey, James M. 2011. *Tendon Injuries (Bowed Tendon) In Horses*. Equine Sports Medicine, Dentistry, & Surgery. Florida.
- Chansiripornchai P., C. Pramatwinai dan A.. Rungsipipat, 2005. The Efficiency of Polysaccharide Gel Extra from Fruit-Hulls of Durian for Wound Healing in Pig Skin. *Acta Hort.* Vol. 5(3): 39
- Cotran, R.S., Kumar, V., and Collins, T. 2003. *Pathology Basic of Disease*. 6th Edition. Philadelphia: WB Saunders Co.
- Ersam, T. 2001. *Senyawa Kimia Makro Molekul Beberapa Tumbuhan *Artocarpus* Hutan Tropika Sumatra Barat*. Disertasi ITB. Bandung.
- Geert I. Pagenstert, Victor Valderrabano, Beat Hintermann. 2004. Tendon injuries of the foot and ankle in athletes. *Clinic of Orthopedic Traumatology, Orthopedic Surgery Department*. University Clinics Basel, Switzerland, CH-4031 Basel; *Schweizerische Zeitschrift für «Sportmedizin und Sporttraumatologie»* 52 (1), 11–21.

- Gillis, Carol L. 2006. Rehabilitation of Tendon and Ligament Injuries. Proceedings of the Annual Convention of the AA.
- Gurtner, G.C. 2007. Wound Healing Normal and Abnormal. In: Thorne CH, Beasley, R. W., Aston, S. J., Bartlett, S.P., Gurtner, G.C., Spear, S.L. Grabb and Smith's Plastic Surgery. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
- Hakim, E.H., S.A. Achmad, L.D. Juliawaty, L. Makmur, Y.M. Syah, N. Aimi, M. Kitajima, H. Takayama, E.L. Ghisalberti. 2006. Prenylated flavonoids and related compounds of the Indonesia *Artocarpus* (Moraceae). J. Nat Med., 60, 161-184.
- Hoeben, A., Landuyt, B., Highley, M.S., Wildiers, H., Van Oosterom, A. T., De Bruijn, E. A. 2004. Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis. Leuven, Belgium.
- Huang, D., Balian, G., Chhabra, B. 2017. Tendon Tissue Engineering and Gene Transfer : The Future of Surgical Treatment. Departement of Orthopedic Surgery. University of Virginia Health System. Charlottesville.
- Hurle, A., Quintana, D.S., Siew, Y., Bernabeu, E., Murillo, M., Climent, V. 2009. Capillary Supply to The Sinus Node in Subjects with Long-term Atrial Fibrillation.
- Hernawati. 2008. Jaringan Ikat. Pendidikan Biologi. Universitas Indonesia.
- Irawan, R. H. W. 2012. Pengaruh Pemberian Yogurt Susu Kambing Sebagai Pencegahan untuk Hiperkolesteroleia melalui Pengamatan Malondialdedida (MDA) dan TNF- α pada Jantung Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*). Journal of Universitas Brawijaya Malang. 1-8.
- Jussila, L. and Alitalo. 2002. Vascular Growth Factors and Lymphangiogenesis. *Physiol Rev.* 82(3): 673-700.
- Khanbabaee, K. Dan Ree, T. V. 2001. Tannins: Classification and Definition. *Nat Prod Rep*, 18: 641-649.

- Kim, J. H., Kim, T. H., Kang, M. S., Kim, H. W. 2016. Angiogenic Effect of Collagen/Mesoporous Nanoparticle Composite Scaffold Delivering VEGF. *BioMed Research International*.
- Kusriningrum, 2008. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya.
- Manner, H. I. Dan C. R. Elvitch. 2006. *Artocarpus heterophyllus*. Species Profiles for Pasific Island Agroforestry. (www.traditionaltree.org) [19 Januari 2015].
- Maula, I.F. 2014. Uji Antifertilitas Ekstrak N-Heksana Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) pada tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus*) Galur Sprague Dawley secara In Vivo. [SKRIPSI]. Program Studi Farmasi UIN Syarif Hidayatullah: Jakarta.
- Mercya, Y., Soemardji, A., Fanty, F. 2017. Effect of Mefenamic Acid to Acupuntur Therapy on Carrageenan-Induced Inflammatory Pain in the Hind Limb of Rat. Clinical Pharmacology and Toxicology Departement. School of Pharmacy Bandung Institute of Technology. Bandung.
- Novriansyah, R. 2008. Perbedaan Kepadatan Kolagen di Sekitar Luka Insisi Tikus Wistar yang dibalut Kasa Konvensional dan Penutup Oklusif Hidrokoloid selama 2 dan 14 Hari. [TESIS]. Universitas Diponegoro. Semarang.
- O'Malley, B. 2005. *Clinical Anatomy and Physilogy of Exotic Spesies: Structure and Function of Mamals, Bird, Reptiles and Amphibians*. Elsevier Ssaunder Publisher. Germany.
- Rukmana, R. 2008. *Budi Daya Nangka*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sabirin, I.P.R, A.M. Maskoen, dan B.S. Hernowo. 2013. Peran Ekstrak Etanol Topikal Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) pada Penyembuhan Luka Ditinjau dari Imunoekspresi CD34 dan Kolagen pada Tikus Galur Wistar. *MKB*. 45(4): 226-227.
- Saladin. 2003. *Anatomy and Physiology*. Ed.3. The Unity of Form and Function. The McGraw Hill Companies.

- Samson, E. Dan A. J. A, Unility.2014.Ekspresi Imunoglobulin A (Ig A) pada Usus Halus Tikus Putih (*Rattus novergicus*).Seminar Nasional Basic Science VI FMIPA Universitas Padjajaran.
- Sjamsuhidajat, R. dan de Jong, Wim. Buku Ajar Ilmu Bedah. Ed.2. 2004. Jakarta : EGC
- Sipola, A., 2009. Effects of Vascular Endothelia Growth Factor (VEGF) and Endostatin On Bone, Oulu:Oulu University Press.
- Sirois, M. 2005. Laboratory Animal Medicine: Principles and Procedures. Elsevier Press. Washington.
- Solakoglu, C., M. Mahir, C. Selami, T. Cuneyt, K. Mesih. 2010. Fibrin Sealant in The Treatment of Acute Ruptures of The Achilles Tendon: Long-Term Result. Departement of Orthopedics and Traumatology. Turkey.
- Suhartati, T., 2001, Senyawa Fenol Beberapa Spesies Tumbuhan Jenis Cempedak Indonesia, Thesis Kimia-ITB, Bandung.
- Sunarjono, Hendro. 2008. Berkebun 21 Jenis Tanaman Buah. Penebar Swadaya. Jakarta
- Syamsuhidayat, S.S dan Hutapea, J.R. 1991. Inventaris Tanaman Obat Indonesia. Edisi Kedua. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Triyono, B., 2005. Perbedaan Tampilan Kolagen di Sekitar Luka Insisi pada Tikus Wistar yang diberi Infiltrasi Penghilang Nyeri Levobupivakain. Semarang: Program Pendidikan Dokter Spesialis Universitas Diponegoro.
- Tsai, Y.P., C. Chi-Wen, L. Jung-Shun, L. Jen-I, H. Tsung-Hsun, Y. Ming-Long, S. Chun-I. 2013. Direct Radiofrequency Application Improves Pain and Gait in Collegenase-Induced Acute Achilles Tendon Injury. Departemen of Surgery: National Cheng Kung University Affiliated Hospital. Taiwan.
- Tuhuloula, Abubakar. 2013. Karakterisasi Pektin Dengan Memanfaatkan Limbah Kulit Pisang Menggunakan Metode Ekstraksi. Banjarmasin: Universitas Lambung Mangkurat

Wilmana, P. F., 2007, Analgesik-antipiretik, analgesik anti-inflamasi non steroid dan obat gangguan sendi lainnya, in: Gunawan, S. G., (Ed.), Farmakologi dan Terapi, 5th ed., Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia Jakarta.

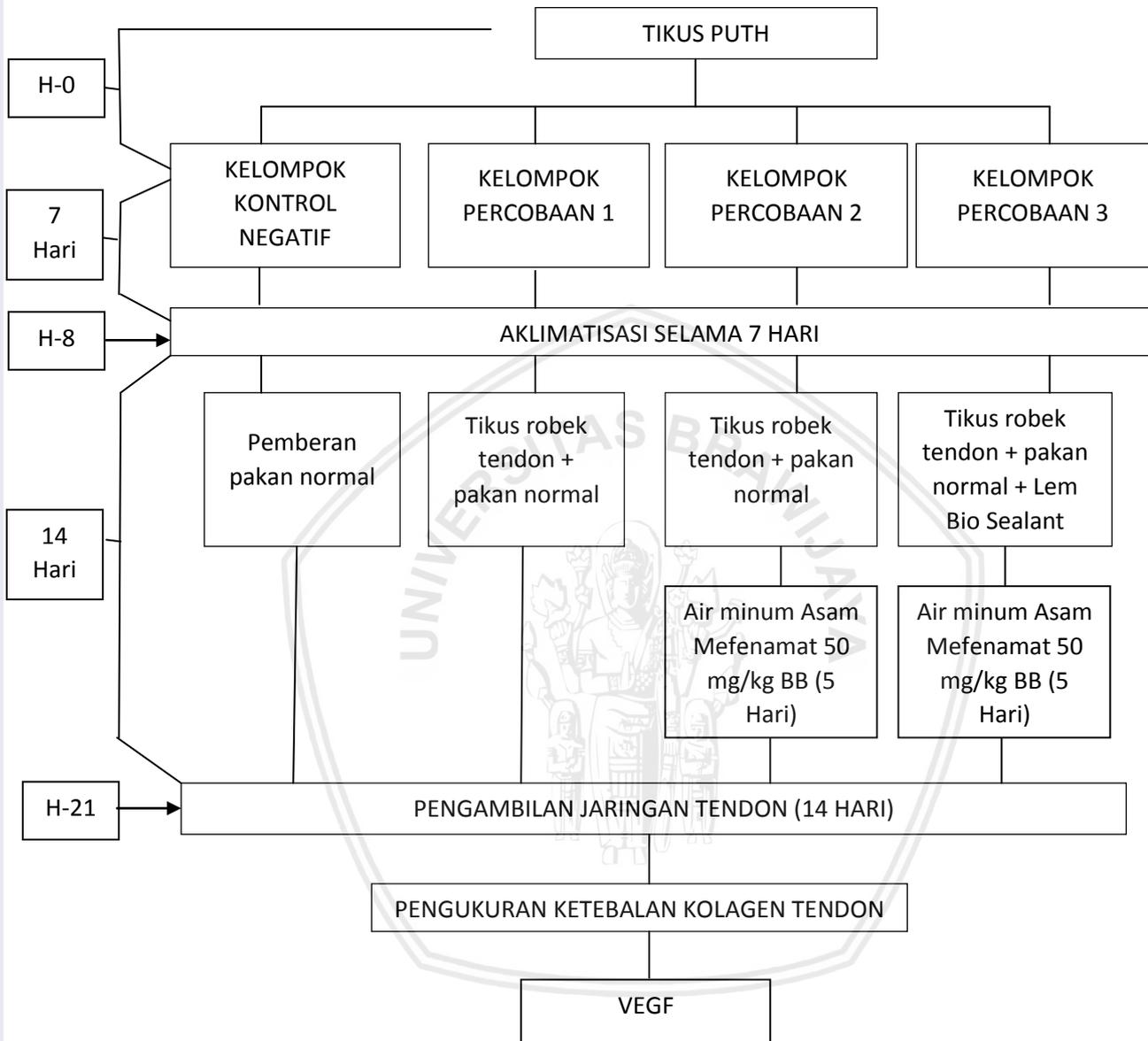
Wulandari, Aulia Tamam. 2015. Kajian Polimer Dalam Getah Nangka (Artocarpus Heterophyllus). Yogyakarta: Universitas Atma Jaya Yogyakarta.



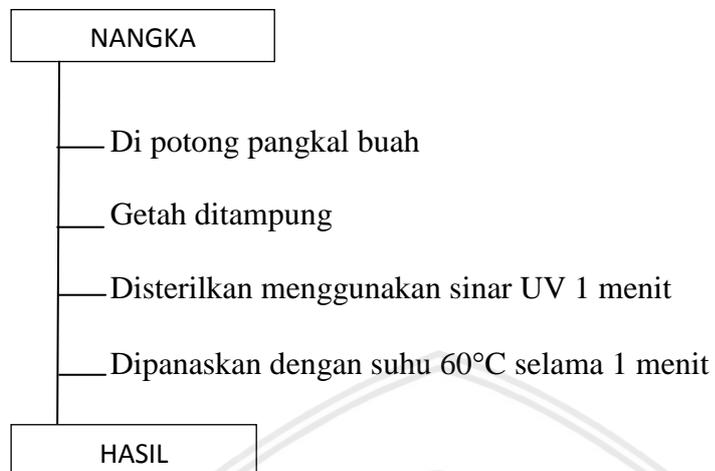
LAMPIRAN



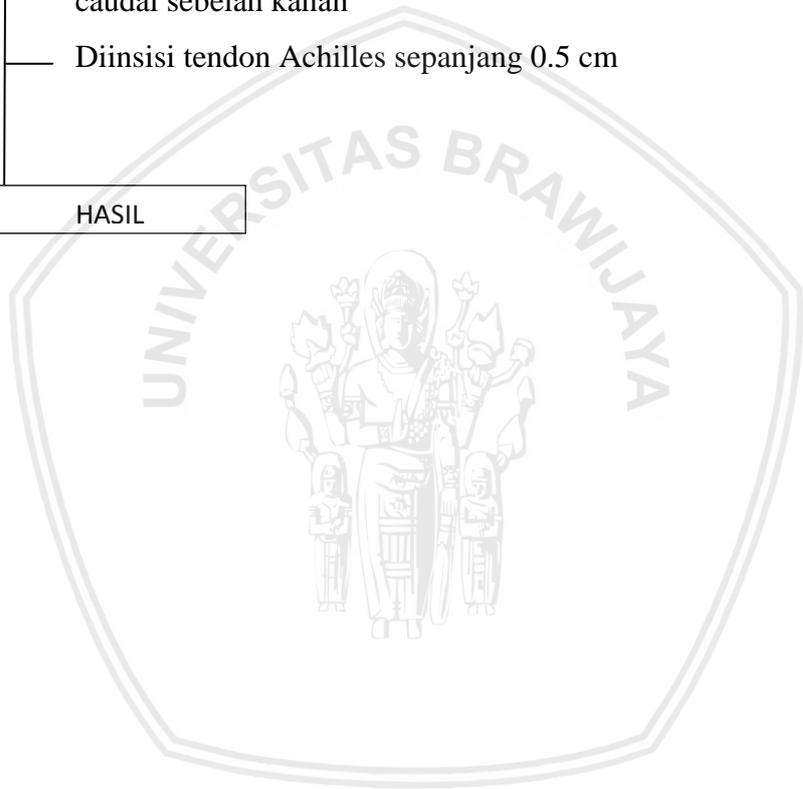
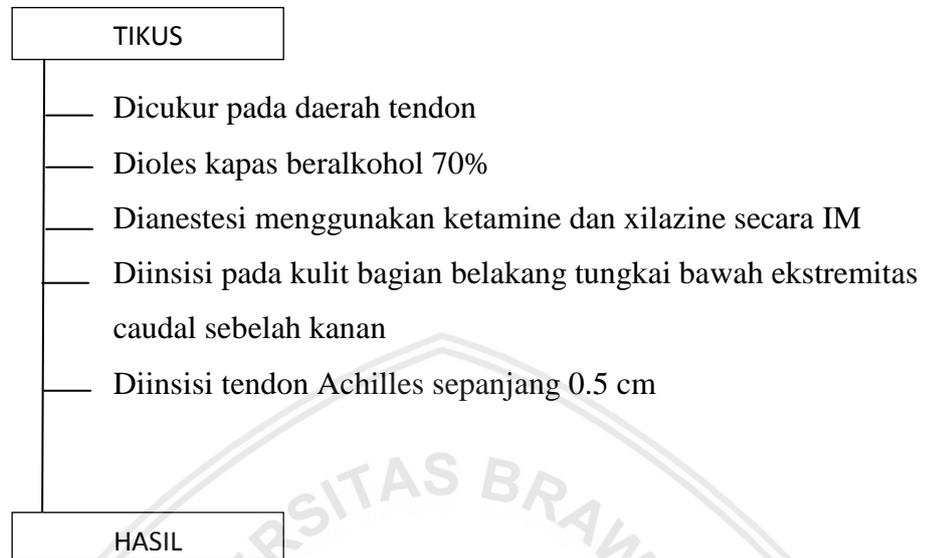
Lampiran 1 : Kerangka Operasional Penelitian



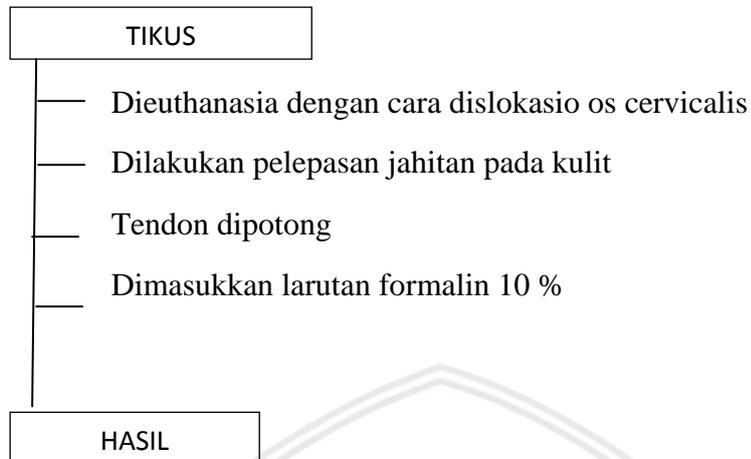
Lampiran 2 : Pembuatan Biosealant Getah Nangka



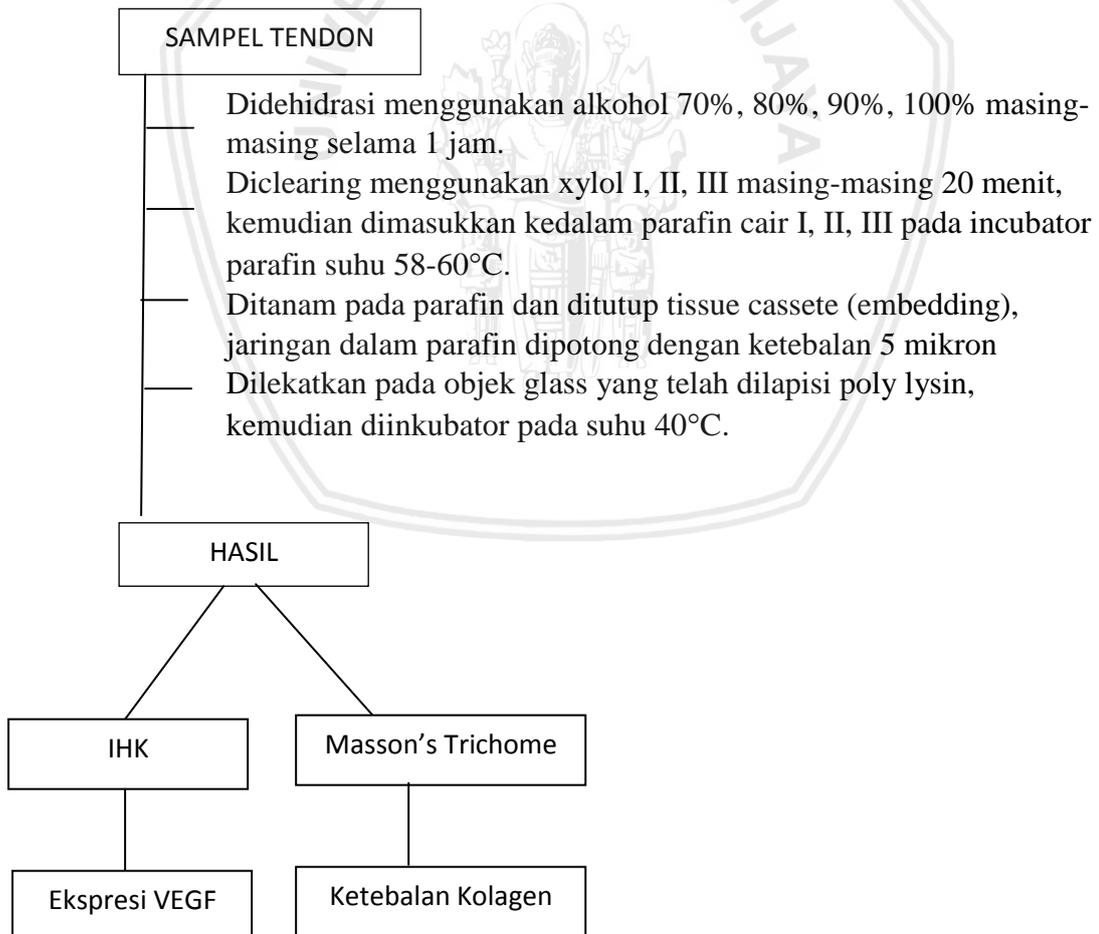
Lampiran 3 : Pembuatan Insisi Robek Tendon Pada Hewan Coba



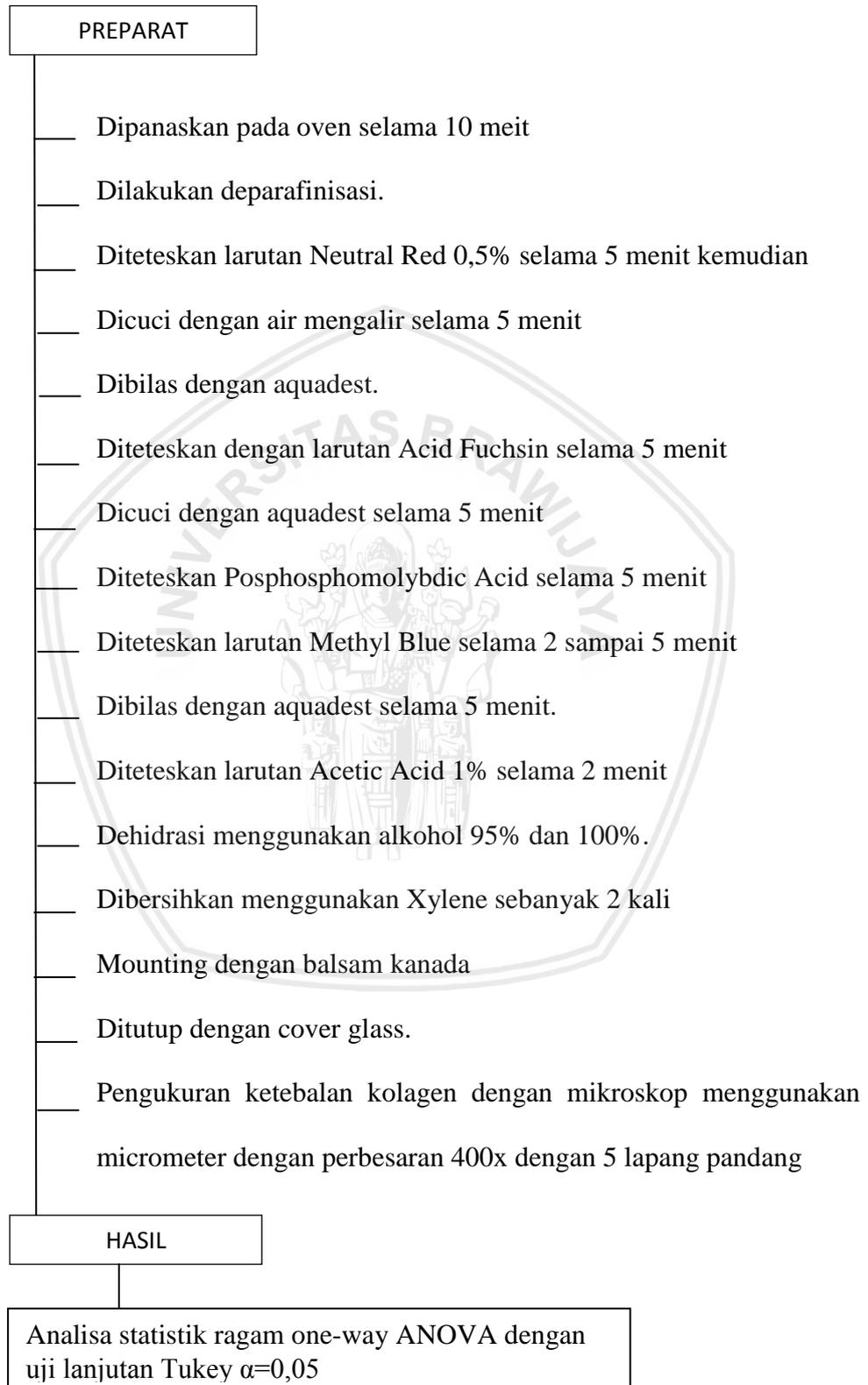
Lampiran 4 : Pengambilan Sampel Organ Tendon



Lampiran 5 : Pembuatan Preparat Histologi



Lampiran 6 : Pengukuran Tebal Kolagen Dengan Pewarnaan Masson's Trichome



Lampiran 7 : Analisis Ekspresi VEGF Pada Jaringan Tendon Dengan Metode Immunohistokimia

PREPARAT

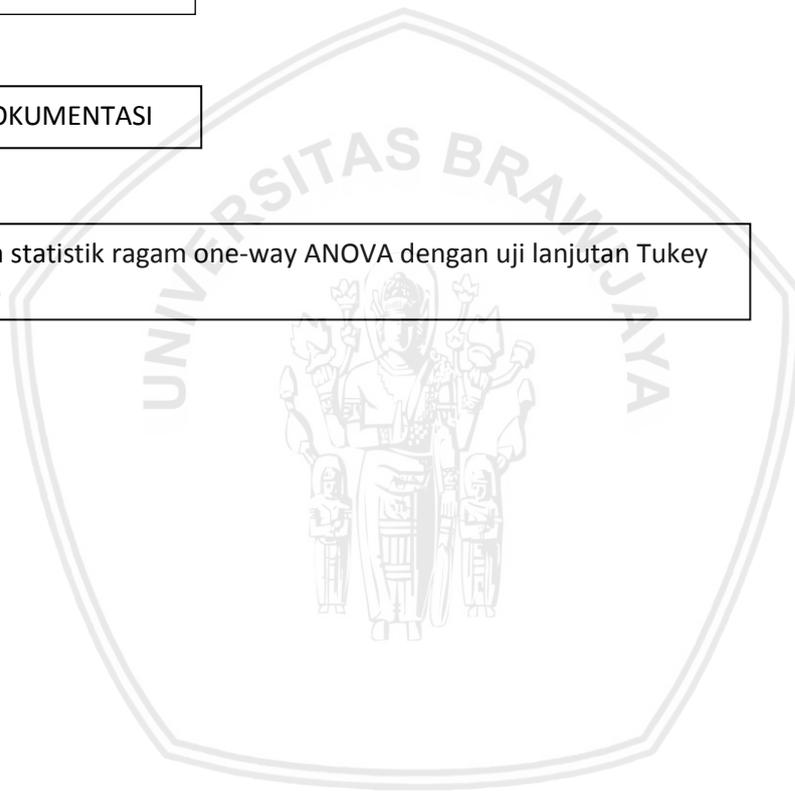
- Deparafinasi (xylol III, II, I) masing-masing selama 7-10 menit.
- Rehidrasi (alkohol absolute 95%, 90%, 85%, 80%, 70%) 7 menit.
- Dicuci dengan Aquades selama 5 menit (3x)
- Diberi peroksidase sebanyak 1 tetes, dimasukkan ke dalam chamber kemudian diinkubasi suhu ruang selama 40 menit.
- Dicuci dengan 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 μ L dan diinkubasi 4°C selama 1 malam.
- Dicuci dengan PBS selama 5 menit (3x).
- Diberi antibodi/Ab primer VEGF Mouse monoclonal (Santa Cruz, cat. no. sc-7269) sebanyak 30 μ L dan diinkubasi dalam refigator suhu 4°C selama 1 malam
- Dicuci lagi menggunakan PBS (100 μ L) selama 5 menit (3x).
- Diberi antibodi/Ab sekunder berlabel biotin (Scytek) 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 H₂O₂ (50 µL) selama maksimal 40 menit.
- Dicuci dalam Aquades selama 5 menit (3x) dan diwarnai dengan pewarnaan Mayer.

DIAMATI

DIDOKUMENTASI

Analisa statistik ragam one-way ANOVA dengan uji lanjutan Tukey $\alpha=0,05$



Lampiran 8 : Laik Etik



KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARANCE"**

No: 933-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:

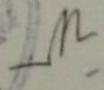
PENELITIAN BERJUDUL : PENGGUNAAN GETAH NANGKA (*Artocarpus heterophyllus*) SEBAGAI LEM BIO SEALANT PADA MODEL ROBEK TENDON TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

PENELITI : ADITYA FERNANDO

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 13 April 2018
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya



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

Lampiran 9 : Pengenceran dan Perhitungan Volume Obat Anestesi**A. Pengenceran Ketamin 100 mg/mL (10%) menjadi 10 mg/mL (1%)**

Rumus :

$$V1.N1 = V2.N2$$

Dibuat ketamin konsentrasi 1% sebanyak 10 mL

$$V_{10\%} \cdot 100 \text{ mg/mL} = 10 \text{ mL} \cdot 10 \text{ mg/mL}$$

$$V_{10\%} = \frac{100}{10}$$

$$V_{10\%} = 1 \text{ mL}$$

Dicampurkan :

$$1 \text{ mL ketamin } 10\% + 9 \text{ mL aqua pro inj} = 10 \text{ mL}$$

B. Volume Ketamin yang Diinjeksi

$$\text{Rata-rata berat tikus} = 150 \text{ g} = 0.15 \text{ kg}$$

$$V = \frac{\text{BB} \times \text{Dosis}}{\text{Konsentrasi}}$$

$$V = \frac{0.15 \text{ kg} \times 30 \text{ mg/kgBB}}{10 \text{ mg/mL}}$$

$$V = 0.45 \text{ mL/ekor tikus}$$

C. Volume Xylazin yang Diinjeksi

$$\text{Konsentrasi xylazin} = 20 \text{ mg/mL}$$

$$\text{Rata-rata berat tikus} = 150 \text{ g} = 0.15 \text{ kg}$$

$$V = \frac{\text{BB} \times \text{Dosis}}{\text{Konsentrasi}}$$

$$V = \frac{0.15 \text{ kg} \times 3 \text{ mg/kgBB}}{20 \text{ mg/mL}}$$

$$V = 0.0225 \text{ mL/ekor tikus}$$

D. Campuran Ketamin dan Xylazin

$$\text{Ketamin} + \text{Xylazin} = 0.45 \text{ mL} + 0.0225 \text{ mL}$$

$$= 0.4725 \text{ mL}$$

Lampiran 10 : Data Uji Statistika Ekspresi VEGF

Uji Normalitas Data

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		VEGF
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	83,7767
	Std. Deviation	13,06952
Most Extreme Differences	Absolute	,223
	Positive	,164
	Negative	-,223
Test Statistic		,223
Asymp. Sig. (2-tailed)		,101 ^c

a. Test distribution is Normal.

Hasil pengujian normalitas menunjukkan nilai signifikansi (*p*) sebesar 0,101. Oleh karena nilai $p > 0,05$, maka H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai distribusi yang tersebar normal.

Uji Homogenitas Varian

Test of Homogeneity of Variances

VEGF

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4,025	3	8	,051

Hasil pengujian menunjukkan nilai signifikansi (*p*) sebesar 0,051. Oleh karena nilai $p > 0,05$, maka H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan memiliki ragam yang homogen.

Pengujian nilai normalitas dan homogenitas sampel telah memenuhi syarat sehingga pengujian dengan menggunakan ANOVA dapat dilanjutkan.

ANOVA

VEGF

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1812,970	3	604,323	73,288	,000
Within Groups	65,967	8	8,246		
Total	1878,937	11			

Uji Statistik ANOVA

Deskriptif

Descriptives

VEGF

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K (-)	3	95,7600	,69541	,40150	94,0325	97,4875	95,30	96,56
K (+)	3	64,0267	4,71790	2,72388	52,3068	75,7466	59,92	69,18
P1	3	83,1600	3,07760	1,77685	75,5148	90,8052	81,12	86,70
P2	3	92,1600	,87727	,50649	89,9807	94,3393	91,52	93,16
Total	12	83,7767	13,06952	3,77285	75,4727	92,0806	59,92	96,56

Nilai $p < 0,05$, maka dapat diputuskan tolak H_0 yang berarti terdapat perbedaan signifikan antara perlakuan.

Uji Tukey

VEGF

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
K (+)	3	64,0267		
P1	3		83,1600	
P2	3			92,1600
K (-)	3			95,7600
Sig.		1,000	1,000	,462

Lampiran 11 : Data Uji Statistika Ketebalan Kolagen

Uji Normalitas Data

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kolagen
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	15,9034
	Std. Deviation	3,12518
Most Extreme Differences	Absolute	,196
	Positive	,196
	Negative	-,181
Test Statistic		,196
Asymp. Sig. (2-tailed)		,200 ^{c,d}

a. Test distribution is Normal.

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

Uji Homogenitas Varian

Test of Homogeneity of Variances

Kolagen

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,819	3	8	,058

Hasil pengujian menunjukkan nilai signifikansi (*p*) sebesar 0,058. Oleh karena nilai $p > 0,05$, maka H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan memiliki ragam yang homogen.

Pengujian nilai normalitas dan homogenitas sampel telah memenuhi syarat sehingga pengujian dengan menggunakan ANOVA dapat dilanjutkan.

ANOVA

Kolagen

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	97,804	3	32,601	27,081	,000
Within Groups	9,631	8	1,204		
Total	107,434	11			

Uji Statistik ANOVA

Deskriptif

Descriptives

Kolagen

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K (-)	3	19,4777	,82454	,47605	17,4294	21,5259	18,70	20,34
K (+)	3	12,2673	,56115	,32398	10,8734	13,6613	11,66	12,76
P1	3	14,1173	1,92114	1,10917	9,3449	18,8897	12,58	16,27
P2	3	17,7513	,36025	,20799	16,8564	18,6463	17,38	18,09
Total	12	15,9034	3,12518	,90216	13,9178	17,8891	11,66	20,34

Nilai $p < 0,05$, maka dapat diputuskan tolak H_0 yang berarti terdapat perbedaan signifikan antara perlakuan.

Uji Tukey

Kolagen

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
K (+)	3	12,2673	
P1	3	14,1173	
P2	3		17,7513
K (-)	3		19,4777
Sig.		,243	,290

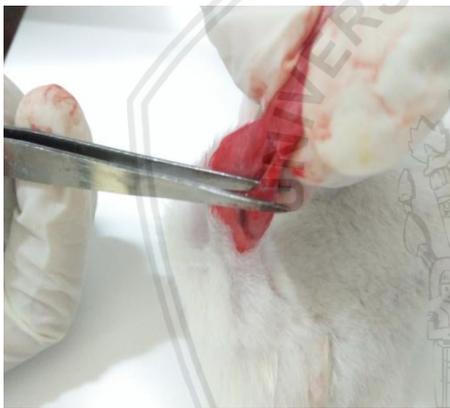
Lampiran 12 : Dokumentasi Kegiatan



Pemberian Anastesi Ketamin Xylazin



Insisi Kulit pada Kaki Belakang



Dilakukan perobekan pada tendon



Pemberian lem biosealan getah nangka



Penutupan Kulit dengan penjahitan



Pemberian Sinar UV



Pengoleksian Tendon



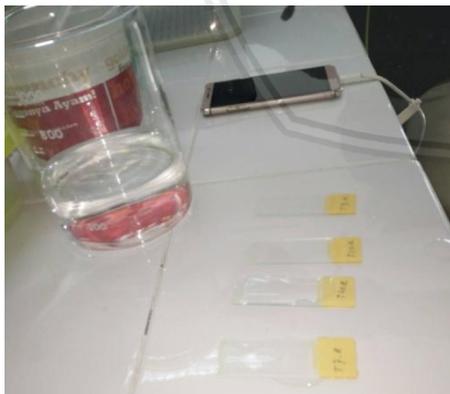
Tendon yang dikoleksi



Sampel tendon dimasukkan ke formalin untuk diproses lebih lanjut



Proses deparafinisasi dan rehidrasi preparat untuk pewarnaan IHK



Pencucian preparat dengan aquades dan PBS



Antibodi sekunder merk Scytek



SAHRP merk Scytek



Antibodi primer VEGF merk Santa Cruz



Lampiran 13 : Hasil Pengujian Kandungan Pektin dan Selulosa pada Getah Nangka

UNIT PELAKSANA TEKNIS (UPT)
LABORATORIUM PUTRA INDONESIA MALANG
Jl. Barito No. 5 Telp. (0341) 491132 – 492052 Fax. (0341) 485411 MALANG

SURAT KETERANGAN HASIL PENGUJIAN
Nomor :121 /UPT-LAB.PIM / I / 2019

Yang bertandatangan di bawah ini menerangkan, bahwa hasil pengujian sebagai berikut:

Nama Sampel : Getah Nangka
Produksi : -
Kode Produksi/Batch : -
Wadah : Pot
Jumlah : 1 sampel
Asal Sampel : Malang, Indonesia
Jenis Pengujian : Uji Selulosa dan Pektin
Hasil Pengujian :

Jenis Uji	Hasil	
	Kualitatif	Kuantitatif
Pektin	positif	0,21 %
Selulosa	positif	24,42%

Demikian surat keterangan hasil pengujian sampel ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Malang, 21 Januari 2019
Kepala UPT Laboratorium PIM

ATIK DENA FITRIA, S.Pd, M.Pd

HASIL PENGUJIAN INI HANYA BERLAKU UNTUK
CONTOH - CONTOH TERSEBUT DI ATAS.

Lampiran 14 : Hasil Pengujian Kandungan Tanin pada Getah Nangka


PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU
 Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu
KOTA BATU

65313

Nomor : 074 / 06D / 102.7 / 2019
 Sifat : Biasa
 Perihal : Surat Keterangan Analisa Kualitatif

Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :

1. Identitas Pemohon

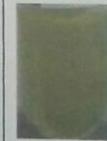
Nama	NIM	Fakultas
Aulia Dyasti Maurenda	155130107111047	Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya
Akhmad Rifky Tri B.	155130100111057	
Silvira Tri Purnama	155130101111076	
Aditya Fernando	155130101111080	

2. Identitas Sampel
 Nama daerah sampel : Nangka
 Nama latin : *Artocarpus heterophyllus*
 Bagian sampel : Getah
 Bentuk sampel : Segar
 Asal sampel : -
 Tanggal penerimaan : 21 Januari 2019
 Tanggal pemeriksaan : 22 Januari 2019

3. Hasil

No	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil
1.	Flavonoid	Merah Bata, Merah Muda, Merah Tua	Negatif
2.	Tanin	Hijau Kehitaman, Biru Kehitaman, Coklat Kehitaman	Positif
3.	Saponin	Busa Permanen	Negatif

4. Lampiran

Nama Sampel	Flavonoid	Tanin	Saponin
Getah Nangka (<i>Artocarpus heterophyllus</i>)			

5. Pustaka

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1978. "Materia Medika Indonesia", Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.

Demikian disampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 22 Januari 2019
 Kepala UPT Materia Medica Batu

 Dr. Husein R.M., Drs., Apt., MKes.
 NIP.196111021991031003