PENGARUH PENGGUNAAN GETAH NANGKA (*Artocarpus heterophyllus*) TERHADAP EKSPRESI TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA (TGF-β) DAN KEPADATAN KOLAGEN PADA MODEL ROBEK TENDON TIKUS (*Rattus norvegicus*)

SKRIPSI

Oleh:
AKHMAD RIFKY TRIBAGUS RIFANDI
155130100111057

PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

PENGARUH PENGGUNAAN GETAH NANGKA (*Artocarpus heterophyllus*) TERHADAP EKSPRESI TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA (TGF-β) DAN KEPADATAN KOLAGEN PADA MODEL ROBEK TENDON TIKUS (*Rattus norvegicus*)

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:
AKHMAD RIFKY TRIBAGUS RIFANDI
155130100111057

PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019

repository.ub.ac.id

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

PENGGUNAAN GETAH NANGKA (*Artocarpus heterophyllus*) TERHADAP EKSPRESI TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA(TGF-β) DAN KEPADATAN KOLAGEN PADA MODEL ROBEK TENDON TIKUS (*Rattus norvegicus*)

Oleh:

AKHMAD RIFKY TRIBAGUS RIFANDI

155130100111057

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
Pada tanggal 13 Mei 2019
Dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I	Pembimbing II
Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES	**drh. Fajar Shodiq Permata, M.Biotech**
NIP. 19600903 198802 2 001	NIP. 19870501 201504 1 001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

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

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Akhmad Rifky Tribagus Rifandi

NIM : 155130100111057

Program Studi : Kedokteran Hewan

Penulis Skripsi berjudul:

Pengaruh Penggunaan Getah Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) Terhadap Ekspresi *Transforming Growth Factor Beta* (TGF-β) Dan Kepadatan Kolagen Pada Model Robek Tendon Tikus (*Rattus norvegicus*)

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat merupakan 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,
Yang menyatakan,

Akhmad Rifky Tribagus Rifandi
NIM. 155130100111057

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

PENGARUH PENGGUNAAN GETAH NANGKA (*Artocarpus heterophyllus*) TERHADAP EKSPRESI TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA(TGF-β) DAN KEPADATAN KOLAGEN PADA MODEL ROBEK TENDON TIKUS (*Rattus norvegicus*)

ABSTRAK

Robek tendon yang terjadi pada kuda menyebabkan kondisi fisiologis kuda menurun dan dapat menurunkan performa kuda sebagai hewan pacu. Robek tendon dapat disebabkan beberapa faktor seperti meningkatnya aktivitas, berkurangnya waktu relaksasi saat latihan, perubahan permukaan, berkurangnya fleksibilitas kaki, menurunnya fleksibilitas otot dan berkurangnya ruang gerak sendi. 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 serta berfungsi sebagai antiinflamasi, antikanker dan antibiotik. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh penggunaan getah nangka *(Artocarpus heterophyllus)* sebagai lem pada tikus *(Rattus novergicus)* model robek tendon terhadap ekspresi TGF- β (*Transforming Growth Factor Beta*) dan kepadatan kolagen. Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus *(Rattus novergicus)* strain wistar jantan yang dibagi menjadi 3 kelompok dan masing – masing kelompok terdapat 6 ekor. Kelompok K- merupakan kelompok tikus kontrol negatif, 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 getah nangka secara topikal dengan dosis 10 mg/ekor yang diberi pancaran sinar UV. Ekspresi TGF-β dianalisis dengan menggunakan metode Imunohistokimia dan kepadatan kolagen diamati dengan metode *Masson's Trichome.* Data TGF-β dianalisis secara kuantitatif dengan menggunakan *software immunoratio,* dengan analisis statistik ragam one-way ANOVA dengan uji lanjutan Tukey α=0,05 dan kepadatan kolagen dianalisis secara kualitatif melalui pengamatan mikroskop. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian lem getah nangka secara signifikan ($p<0,05$) meningkatkan ekspresi TGF-β dengan rata-rata sebesar 68,09% dan meningkatkan sintesis kolagen yang mempengaruhi kepadatan kolagen. Kesimpulan dari penelitian ini, lem getah nangka dapat digunakan sebagai terapi robek tendon.

Kata kunci : Robek Tendon, Getah Nangka, TGF- β, Kepadatan Kolagen

repository.ub.ac.id

THE POTENCY OF JACKFRUIT SAP (*Artocarpus heterophyllus*) TOWARDS TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA (TGF-β) EXPRESSION AND DENSITY OF COLLAGEN ON (*Rattus norvegicus*) TENDON RUPTURE MODEL RATS

ABSTRACT

Tendon rupture causes the physiological condition decrease and reduces the performa of racehorses. Tendon rupture can be caused by several factors such as increasing activity, reduced relaxation time in training, surface changes, reduced leg flexibility, decreased muscle tone and reduced joint spaces. The jackfruit sap (*Artocarpus heterophyllus*) is one of the natural alternative ingredients containing pectin and cellulose which were acts as an adhesive, maintains tissue and cell stability also other chemical compounds that act as antipyretic, anti-inflammatory, anticancer and antimicrobial. The purpose of this study was to discover the effect of using the sap of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) in tendon rupture model rats (*Rattus novergicus*) toward the expression of TGF-β (Transforming Growth Factor Beta) and collagen density. Experimental animals used in this study were male wistar strains rats (*Rattus novergicus*) which were divided into 3 groups and each group contained 6 rats. Group K- was the negative control, P1 was ruptured tendon rats group with therapy of mefenamic acid 50 mg/bw for 5 days and P2 was ruptured tendon rats group with combination therapy of mefenamic acid 50 mg/bw and jackfruit sap 10 mg/rat plus UV ray. The expression of TGF-β was analyzed using immunohistochemistry technique and the density of collagen was analyzed with Mason's Trichrome technique. The expression of TGF-β was analyzed quantitatively using immunoratio software with one way ANOVA statistical analysis followed by Tukey test α=0,05 and the density of collagen analyzed qualitatively by microscope. The result of research showed that the jackfruit sap glue significantly ($p<0,05$) increase the expression of TGF-β with an average of 68,09% and increase collagen synthesis that affects the density of collagen. The conclusion of this research is that jackfruit sap glue can be used as therapy for tendon rupture.

Key word : Density of collagen, Jackfruit sap, Tendon rupture, TGF-β

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan anugerah-Nya penulis dapat melakukan penelitian skripsi yang berjudul **‘‘Pengaruh Penggunaan Getah Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) terhadap Ekspresi *Transforming Growth Factor Beta* (TGF-β) dan Kepadatan Kolagen pada Model Robek Tendon Tikus (*Rattus norvegicus*)’’**.

Penulis menyampaikan terima kasih sebesar-besarnya kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam melakukan penelitian skripsi ini, secara khusus penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Aulanni’am, drh., DES selaku dosen pembimbing 1 yang telah menyisihkan waktunya untuk membimbing penulis saat penulisan proposal skripsi dan melakukan penelitian skripsi ini.
2. drh. Fajar Sodiq Permata, M.Biotech selaku dosen pembimbing 2 yang telah menyisihkan waktunya untuk membimbing penulis saat penulisan proposal skripsi dan melakukan penelitian skripsi ini.
3. drh. Wawid Purwatiningsih, M. Vet selaku dosen penguji satu atas segala ilmu, dukungan, serta saran dan masukan dalam penyempurnaan penulisan tugas akhir ini.
4. drh. Tiara Widyaputri, M.Si selaku dosen penguji dua atas segala ilmu, dukungan, serta saran dan masukan dalam penyempurnaan penulisan tugas akhir ini.
5. Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya atas kepemimpinan dan dukungan demi kemajuan FKH UB.

6. Keluarga tercinta ayahanda Cory Cornelis Bacas, ibu Siti Sulasmi, kakak Nadya Mertha Rynda, kakak Nada Rifda Khairunisa dan adik Ahmad Khanza Akbar yang senantiasa memberikan doa, motivasi dan masukan kepada penulis.
7. Silvira Tri Purnama Sari, Aditya Fernando dan Aulia Dyasti Maurenda sebagai teman satu kelompok penelitian BIORODON yang selalu membatu dan memberi masukan serta saran untuk penulis.
8. DIKTI atas dana yang diberikan untuk pembiayaan penelitian.
9. Teman tersayang Kontrakan Berencana *Locals Only* (Ravi, Adit, Cheppy, Kama, Faris, Yohanes, Irfan) dan teman-teman yang namanya tidak dapat disebutkan satu-persatu atas doa, semangat dan dukungan yang diberikan.
10. Keluarga DECODE 2015 atas persahabatan, semangat, inspirasi, keceriaan, dan mimpi-mimpi yang luar biasa.
11. Teman-teman seperjuangan DNA mahasiswa FKH UB 2015 yang telah memberikan semangat dan saran yang membangun.
12. Seluruh dosen dan civitas akademika yang telah membimbing, memberikan ilmu, dan mewadahi penulis selama menjalankan studi di Program Studi Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
13. Seluruh kolega Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan. Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis maupun bagi

pembaca. Akhir kata, penulis mengucapkan banyak terima kasih dan mohon maaf apabila terdapat kekurangan dalam penulisan skripsi ini.

Malang, 19 Maret 2019

Akhmad Rifky T. Rifandi

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL ..... **ii**
LEMBAR PENGESAHAN PROPOSAL ..... **ii**
LEMBAR PERNYATAAN ..... **iv**
ABSTRAK ..... **v**
ABSTRACT ..... **vi**
KATA PENGANTAR ..... **viii**
DAFTAR ISI ..... **x**
DAFTAR GAMBAR ..... **xiii**
DAFTAR TABEL ..... **xiiii**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **xivv**
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG ..... **xv**
BAB 1 PENDAHULUAN **1**
1.1. Latar Belakang 1
1.2. Rumusan Masalah 3
1.3. Batasan Masalah 3
1.4. Tujuan Penelitian 4
1.5. Manfaat Penelitian 5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA **6**
2.1. Tanaman Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) 6
2.2. Tendon 8
2.2.1. *Rupture* Tendon 9
2.2.2. Proses Penyembuhan Tendon 10
2.3. Hewan Coba 13
2.4. *Transforming Growth Factor Beta* (TGF-β) 15
2.5. Kolagen 15
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN **16**
3.1. Kerangka Konseptual 18
3.2. Hipotesa Penelitian 20
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN **21**
4.1. Waktu dan Tempat Penelitian 21
4.2. Alat dan Bahan 21
4.3. Sampel Penelitian 22
4.4. Rancangan Penelitian 23
4.5. Variabel Penelitian 23
4.6. Prosedur Kerja 24
4.6.1 Persiapan Hewan Coba 24
4.6.2 Pembuatan Lem Getah Nangka 24
4.6.3 Pembuatan Robek Tendon Pada Hewan Coba 25
4.6.4 Pemberian Perlakuan 25
4.6.5 Koleksi Sampel Organ 26
4.6.6 Pembuatan Preparat Histopatologi 26

4.6.7 Pengukuran Kolagen Mengguakan Pewarnaan Mason's Thricome 27
4.6.8 Analisis Ekspresi TGF-β pada Jaringan Tendon dengan Metode Imunohistokimia 29
4.6.9 Analisis Data 31
BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN 32
5.1 Ekspresi TGF-β pada Robek Tendon 32
5.2 Kepadatan Kolagen pada Robek Tendon 38
BAB 6 PENUTUP 44
6.1 Kesimpulan 44
6.2 Saran 44

DAFTAR PUSTAKA 45

LAMPIRAN 50

DAFTAR GAMBAR

Gambar **Halaman**

2.1 Tanaman nangka (*Artocarpus heterophyllus*)…….…… 6

2.2 Struktur skematis tendon normal ……..…… 8

2.3 Gambaran Histologi tendon dengan pewarnaan HE…….. 9

2.4 Hewan Coba Tikus (*Rattus norvegicus*) ….…… 14

2.5 Serabut Kolagen pada Tendon …….. 16

4.1 Simulasi Pengukuran Kolagen Pewarnaan *Masson's Trichome* ……..... 28

5.1 Ekspresi TGF-β Tendon Tikus dengan Metode Imunohistokimia…… 33

5.2 Histopatologi Kolagen Tendon Pewarnaan *Masson's Trichrome*…… 40

repository.ub.ac.id

DAFTAR TABEL

Tabel **Halaman**

4.1 Perlakuan yang Diberikan pada Setiap Kelompok Percobaan…… 23

5.1 Hasil Uji Tukey terhadap TGF-β ……...…….…35

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran **Halaman**

1 Kerangka Operasional Penelitian…….. 51
2 Persiapan Getah……..... 52
3 Pembuatan Insisi Robek Tendon pada Hewan Coba…… 52
4 Pengambilan Sampel Organ Tendon……53
5 Pembuatan Preparat Histologi…….…… 53
6 Pengamatan Kepadatan Kolagen Dengan Pewarnaan *Masson's Trichrome*… 54
7. Analisis Ekspresi TGF-β Tendon Dengan Metode Immunohistokimia…… 55
8. Laik Etik…… 57
9. Pengenceran dan Perhitungan Volume Obat Anestesi……..58
10. Data Uji Statistik Ekspresi TGF-β…… 59
11. Perhitungan Presentase Peningkatan antar Perlakuan……..... 61
12. Dokumentasi Kegiatan…….. 62
13. Hasil Pengujian Kandungan Pektin dan Selulosa pada Getah Nangka……. 66
14. Hasil Pengujian Kandungan Tanin pada Getah Nangka……... 67

DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

Simbol/Singkatan	Keterangan
%	: Persen
°C	: Derajat Celcius
ab	: Antibodi
BB	: Berat Badan
BNJ	: Beda Nyata Jujur
cm	: centimeter
DAB	: *Diamono Benzidine*
dkk	: dan kawan-kawan
ECM	: Extracellular Matrix
FGF	: *Fibroblast Growth Factor*
HE	: *Hematoxyline-eosin*
IHK	: Imunohistokimia
IM	: Intramuskular
kg	: kilogram
ml	: milliliter
mm	: milimeter
NSAID	: *Non-steroid Antiinflamatory Drugs*
PBS	: *Phosphate-buffered saline*
PDGF	: *Platelet-derived growth factor*
SAHRP	: *Strep Avidin Horse Radish Peroxidase*
TGF β	: *Transforming growth factor beta*
TNF α	: *Tumor necrosis factor alpha*
UV	: Ultraviolet

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Sudah sejak lama kuda dikenal dan dimanfaatkan manusia sebagai alat transportasi karena kuda memiliki tenaga yang cukup besar dan daya tahan tubuh yang kuat. Seiring dengan perkembangan kehidupan manusia, minat masyarakat terhadap kuda salah satunya kuda pacu belakangan ini semakin meningkat. Pemeliharaan kuda pacu terbilang cukup sulit dilakukan, karena membutuhkan biaya yang mahal. Masalah kesehatan yang paling sering terjadi pada kuda pacu yaitu robek tendon. Robek tendon dapat terjadi saat kuda pacu melakukan latihan. Gejala klinis yang timbul pada kuda yang mengalami robek tendon yaitu rasa nyeri ketika dipalpasi, inflamasi disertai perdarahan, edema dan akumulasi fibrin disekitar tendon yang menyebabkan pembengkakan lokal (Gilis, 2006).

Diagnosa robek tendon dapat dilakukan melalui pengamatan gejala klinis dan menggunakan ultrasonografi. Ultrasonografi dilakukan untuk membantu membedakan *tendinitis*, *paratendinitis* dan robek sebagian. Menurut Taylor (2006) diagnosa robek tendon yang paling akurat menggunakan ultrasonografi, dengan melakukan ultrasonografi dapat dilihat pola serat jaringan sehingga diketahui bagian yang mengalami luka. Kasus robek tendon membutuhkan waktu yang cukup lama untuk pemulihan, yaitu sekitar 10 sampai 12 bulan dan dengan kemungkinan besar robek tendon untuk terjadi kembali (Priyonoadi, 2011). Menurut Gilis (2006) salah satu

metode pengobatan robek tendon menggunakan terapi stem sel, namun proses pengobatan dengan menggunakan terapi stem sel ini tergolong sulit dilakukan dan mahal. Alternatif lain 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.

Transforming Growth Factor Beta (TGF-β) merupakan salah satu *growth factor* yang berperan dalam fase penyembuhan robek tendon. Menurut Hermendy dan Pawarti (2017) TGF-β merupakan sitokin multifungsi yang memodulasi proliferasi, pertumbuhan, diferensiasi, adesi dan kelangsungan hidup sel, selain itu juga berperan dalam produksi protein matriks ekstraseluler dan meningkatkan kolagenasi. Faktor lain yang mempengaruhi kesembuhan robek tendon yaitu kolagen yang berperan dalam kepadatan, ketebalan dan kekuatan tendon. Kolagen akan meningkat karena adanya peningkatan fibroblas. Peningkatan TGF-β berbanding lurus dengan peningkatan fibroblas, karena fibroblas dan TGF-β diaktivasi oleh makrofag. TGF-β akan menginduksi fibroblas untuk berproliferasi, migrasi dan membentuk matriks ekstraseluler yang berfungsi untuk pembentukkan kolagen (Gurtner, 2007).

Berdasarkan uraian di atas, dibutuhkan adanya bahan alternatif alami yang dapat membantu proses pengobatan pada kasus robek tendon. Getah nangka (*Artocarpus heterophyllus)* salah satu bahan alami yang mengandung senyawa pektin, tanin 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. Tanin befungsi sebagai antivirus, antibakteri dan antitumor. (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 getah nangka *(Artocarpus heterophyllus)* pada tikus (*Rattus norvegicus*) model robek tendon dapat meningkatkan ekspresi TGF-β (*Transforming Growth Factor Beta*)?
2. Apakah pemberian getah nangka (Artocarpus heterophyllus) pada tikus (*Rattus norvegicus*) model robek tendon dapat mempengaruhi kepadatan kolagen?

1.3. Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang diuraikan maka penelitian ini dibatasi pada :

1. Hewan coba yang digunakan adalah tikus (*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 achiles sepanjang 0,1 cm dengan menggunakan blade bedah.
3. Pemberian terapi getah nangka *(Artocarpus heterophyllus)* dilakukan secara topikal sebanyak 10 mg, pemberian dilakukan setelah dilakukan insisi pada tendon dan dioleskan menyeluruh pada daerah insisi.
4. Pengamatan kepadatan kolagen dilakukan dengan pewarnaan *Masson's Trichome*, diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x pada lapang pandang area robek tendon.
5. Ekspresi TGF-β dengan metode Immunohistokimia dianalisis data secara kuantitatif dengan menggunakan software immunoratio.
6. Ekspresi TGF-β dianalisis statistik menggunakan one-way ANOVA dengan uji lanjutan Tukey α=0,05.

1.4. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui pengaruh pemberian lem getah nangka *(Artocarpus heterophyllus)* pada tikus (*Rattus norvegicus*) model robek tendon dapat meningkatkan ekspresi TGF-β (*Transforming Growth Factor Beta*).
2. Mengetahui pemberian lem getah nangka (Artocarpus heterophyllus) pada tikus (*Rattus norvegicus*) model robek tendon dapat mempengaruhi kepadatan kolagen.

1.5. Manfaat Penelitian

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

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Nangka (Artocarpus heterophyllus)

Tanaman Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) merupakan tanaman asli India yang telah menyebar ke seluruh dunia, terutama Asia Tenggara. Nangka dibagi menjadi dua jenis yaitu *Artocarpus heterophyllus* yang biasa disebut nganka dan *Artocarpus chempeden* yang biasa disebut cempedak (Indriyani, 2015). Menurut Rukmana (2008), klasifikasi untuk tanaman *A. heterophyllus* sebagai berikut:

Kingdo : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub-divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Ordo : Morales

Famili : Moraceae

Genus : Artocarpus

Spesies : *Artocarpus heterophyllus*

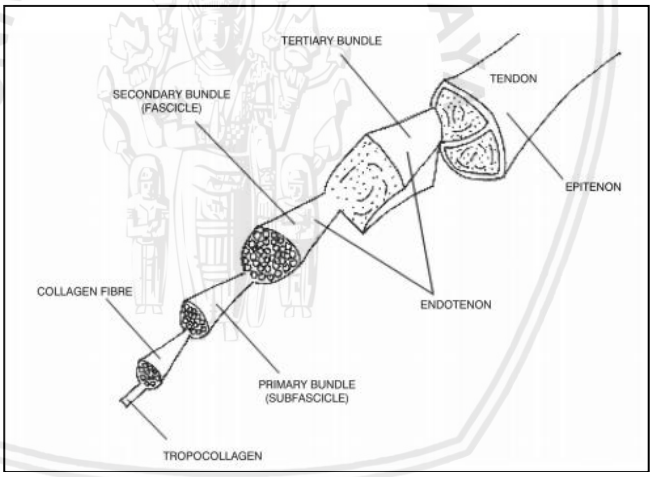
Gambar 2.1 Tanaman Nangka (Indriyani, 2015)

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. Menurut Manner dan Elvich (2006), mendeskripsikan tanaman nangka (*Artocarpus heterophyllus*) memiliki ukuran pohon sedang dengan tinggi 8-25 m, diameter batang berukuran 30-80 cm. Daun berbentuk bulat telur, tepinya rata dan bertangkai pendek. Permukaan atas daun berwarna hijau gelap mengkilap dan permukaan bawah daun berwarna hijau muda dengan ukuran daun mencapai 16 cm serta akar dari tanaman nangka merupakan akar tunggang kuat.

Beberapa bagian tanaman dan buah nangka yang dapat dimanfaatkan yaitu rebusan akar yang ditumbuk halus dapat digunakan sebagai obat demam, batang yang dapat digunakan sebagai bahan kerajinan, kulit buah digunakan sebagai bahan pewarna, biji buah digunakan sebagai bahan masakan dan getah berwarna putih yang sangat lekat yang sering digunakan sebagai obat abses, obat cacing dan antiinflamasi (Hakim, 2006). Getah nangka memiliki banyak kandungan bahan alami seperti pektin, tanin dan selulosa. Menurut Tuhuloula et al., (2013) 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 sel dan jaringan. Tanin merupakan senyawa *polyphenol* memiliki fungsi sebagai antibakteri, antihelmintik dan antitumor (Sasongko, 2010).

2.2. Tendon

Tendon merupakan struktur dalam tubuh yang menghubungkan otot dengan tulang. Otot rangka dalam tubuh bertanggung jawab untuk menggerakkan tulang, sehingga memungkinkan tubuh untuk berjalan, melompat, mengangkat dan melakukan gerakan lainnya. Otot yang berkontraksi menimbulkan gerakan terjadi karena tendon menarik tulang (Sjamsuhidajat,2004). Bentuk tendon bervariasi, dapat berbentuk tali bundar, tali seperti pita atau pita yang pipih. Tendon sehat tampak putih mengkilap dan memiliki tekstur fibroelastik (Gillis, 2006).



Gambar 2.2 Struktur skematis tendon normal (Sharma, 2006)

Tendon secara struktural terdiri dari tenoblast dan tenosit yang berada didalam jaringan matriks ekstraseluler berkisar 90-95%. Tenoblas merupakan sel tendon yang belum matang berbentuk kumparan dan memiliki aktivitas metabolik yang tinggi. Tenoblas yang matang mengalami elongasi dan membentuk tenosit yang aktivitas metaboliknya lebih rendah dibandingkan tenoblas. Jumlah 5-10% seluler tendon terdiri dari kondrosit

(Sjamsuhidajat,2004). Tendon achilles merupakan tendon terkuat dan tertebal dalam tubuh makhluk hidup. Tendon achilles juga merupakan tendon yang sering mengalami *rupture*. Tendo achilles merupakan gabungan dari tendon otot *soleus* dan *gastrocnemius*, otot-otot ini berada pada bagian belakang tulang tumit. Tendon dilapisi satu lapisan vaskular yaitu *peritenon* yang berfungsi membantu suplai darah pada jaringan (Doral *et al*., 2010).

Gambar 2.3 Gambaran Histologi Tendon Pewarnaan HE dan *Masson's Trichome* (Tsai Yun-Pu dkk, 2013)

2.2.1. *Rupture* Tendon

Kerusakan tendon dapat terjadi secara akut dan kronik yang disebabkan oleh faktor intrinsik dan ekstrinsik. Kasus trauma pada tendon dominan disebabkan karena faktor ekstrinsik. Kasus trauma pada tendon salah satunya *rupture* tendon. *Rupture* tendon merupakan robek atau putusnya jaringan penghubung tendon yang disebabkan cedera dari perubahan posisi kaki yang mendadak. Penyebab paling sering pada ruptur tendon merupakan 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. Gejala-gejala yang timbul pada ruptur tendon rasa sakit ketika dipalpasi, adanya pembengkakan hingga tidak dapat menggerakkan kaki. Memar akan terlihat karena iritasi atau respon stress yang ditimbulkan tendon tersebut. Tanpa adanya integritas dari keseluruhan tendon, maka otot tersebut akan mengalami penurunan daya kontraksi (Smith, 2003).

2.2.2. Proses Penyembuhan Tendon

Proses penyembuhan tendon dapat terjadi secara intrinsik melalui proliferasi tenosit epitenon dan ektsrinsik melalui invasi sel dari pembungkus (sheath) dan sinovium disekitarnya. Tenoblas dari epitenon menginisiasi proses perbaikan melalui proliferasi dan migrasi. Fibroblas dalam epitenon dan tenosit kemudian mensintesis kolagen yang kemudian diikuti oleh sintesis melalui endotenon. Sel fibroblas dan tenosit dalam epitenon dan endotenon memproduksi kolagen dan glikosaminoglikan lebih banyak dibandingkan *tendon sheath*, tetapi sel dalam *tendon sheath* berploriferasi lebih cepat dibandingkan sel dalam epitenon dan endotenon. 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).

Proses penyembuhan tendon :

1. Fase Inflamasi

Fase inflamasi menunjukan permeabilitas pembuluh darah meningkat dan masuknya sel-sel inflamasi pada area penyembuhan. Cedera yang terjadi pada tendon memicu pelepasan mediator inflamasi serta terbentuknya radikal bebas seperti hidrogen peroksida yang ditandai dengan munculnya nyeri ketika dipalpasi, pembengkakan, kemerahan dan peningkatan suhu area cedera.penyembuhan. Sel inflamasi dibawa menuju area cedera bersama dengan eritrosit untuk membentuk bekuan darah di area cedera. Akumulasi eksudat, oedema dan anoxia yang terjadi memicu hipoksia jaringan dan pelepasan radikal bebas berupa hidrogen peroksida sehingga terjadi kerusakan dan kematian sel.

Monosit dan makrofag akan muncul pada 24 jam pertama, kemudian mengubah bekuan darah menjadi jaringan granulasi dan memfagosit materi nekrotik pada area cedera (Bauge *et al*, 2015). Menurut Sharma (2006), dalam 24 jam pertama, monosit dan makrofag mendominasi dan fagositosis bahan nekrotik terjadi. Vasoaktif dan faktor kemotaksis dilepaskan dengan peningkatan permeabilitas vaskular, inisiasi angiogenesis, stimulasi proliferasi tenosit, dan masuknya banyak sel radang. Lalu tenosit secara bertahap bermigrasi ke luka dan menginisiasi sintesis kolagen tipe III Setelah beberapa hari, masuk ke fase

proliferasi. Pada tahap inflamasi, banyak hormon maupun molekul yang ikut berperan. Fase ini dapat berlangsung 72 jam hingga sekitar satu minggu setelah cedera.

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 tipe III yang tersusun paralel dan kontinyu menggantikan jaringan granulasi. Jaringan granulasi umumnya mensintesis kolagen tipe III. Serat kolagen awal belum berorientasi secara paralel tetapi sudah berkontribusi pada kekuatan biomekanik. Jumlah kolagen pada minggu kelima meningkat dan perbaikan sampai keukuran terbesar. Intrinsik fibroblas dari endotenon setelah sekitar 40 hari mulai meningkat proliferasinya. Intrinsik fibroblas memiliki peran aktif dalam perbaikan tendon, menyerap kolagen secara aktif dan memproduksi kolagen baru pada saat bersamaan. Jaringan tendon yang matang menunujukkan serat berorientasi lebih longitudinal berdasarkan kekuatan ketegangan (Muller *et al.*, 2013).

3. Fase *Remodeling*

Fase *remodeling* dimulai 6-10 minggu setelah cedera dengan terjadinya penurunan selularitas, kolagen dan sintesis

glikosaminoglikan. Fase *remodeling* dapat dibedakan menjadi tahap konsolidasi dan tahap maturasi. Tahap konsolidasi dimulai sekitar 6 minggu dan berlanjut sampai 10 minggu. Jaringan yang diperbaiki pada tahap konsolidasi berubah dari seluler menjadi berserat. Metabolisme tenosit pada tahap konsolidasi tetap tinggi dan tenosit serta kolagen menjadi sejajar. Kolagen tipe I dengan proporsi tinggi disintesis pada tahap konsolidasi. Tahap maturasi terjadi sepuluh minggu setelah tahap konsolidasi. Tahap maturasi menunjukkan perubahan secara bertahap dari jaringan fibrosa menjadi jaringan tendon dan pada proses terakhir dari tahap ini metabolisme tenosit dan vaskularisasi tendon mulai menurun (Sharma, 2006).

2.3. Hewan Coba

Tikus (*Rattus norvegicus*) merupakan hewan yang umum digunakan dalam penelitian, karena mudah dipelihara, secara garis besar fungsi dan bentuk organ serta proses biokimianya antara tikus dan manusia memiliki banyak kesamaan (Suckow, 2006). Tikus (*Rattus norvegicus*) digunakan sebagai hewan model intoksikasi dikarenakan memiliki kadar asam amino dan sistem metabolismenya yang hampir sama dengan manusia sehingga memudahkan dalam melakukan penelitian (Miller *et al*, 2010).

Gambar 2.4 Hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) (Sirois, 2005)

Klasifikasi tikus 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*

Tikus galur wistar merupakan hewan yang sering dipergunakan dalam berbagai penelitian, termasuk penelitian hormon dan pengamatan tingkah laku kopulasi yang berkaitan dengan libido. *Rattus norvegicus* ini memiliki ciri antara lain rambut tubuh berwarna putih dan mata yang merah, panjang tubuh total 440 mm, panjang ekor 205 mm dan bobot pada usia dewasa adalah sekitar 250-500 gram (Suckow, 2006).

Penggunaan tikus jantan lebih banyak digunakan dalam penelitian daripada tikus betina, terkecuali dalam penelitian spesifik yang

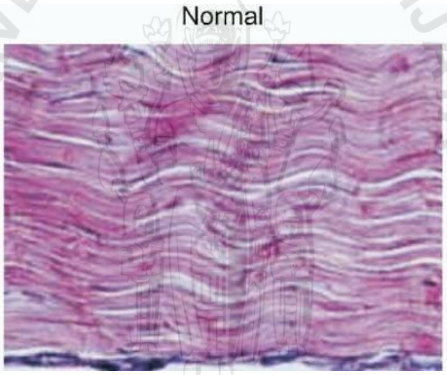
mengharuskan menggunakan tikus betina. Hal tersebut dikarenakan dari segi hormonal tikus jantan lebih bersifat stabil dan pemeliharaan tikus jantan lebih mudah dari tikus betina dikarenakan tikus betina lebih mudah mengalami stress dari tikus jantan (O'Malley, 2005).

2.4. Transforming Growth Factor Beta (TGF-β)

Proses regenerasi tendon melibatkan berbagai macam molekul, salah satunya *transforming growth factor beta* (TGF-β). *Transforming Growth Factor Beta* merupakan salah satu faktor pertumbuhan yang berperan penting dalam proses penyembuhan luka. Pada kondisi terjadinya luka, sel yang berperan adalah platelet, fibroblas dan monosit. *Transforming Growth Factor Beta* (TGF-β) terlibat dalam banyak proses seluler baik pada organisme dewasa maupun embrio yang sedang berkembang termasuk pertumbuhan sel, diferensiasi sel, apoptosis, homeostasis seluler dan fungsi seluler lainnya (Mauviel, 2009). *Transforming Growth Factor Beta* (TGF-β) terdiri dari tiga isoform, yaitu TGF-β1, TGF-β2, TGF-β3 yang memiliki fungsi dalam penyembuhan luka, pembentukkan jaringan parut, diferensiasi jaringan tendon dan menginisiasi fibrogenesis. Isoform TGF-β tersebut diekspresikan melalui ribosom yang dilepaskan dalam bentuk proprotein dan diubah didalam aparatus golgi menjadi TGF-β ligan aktif yang akan berikatan dengan TGF-β reseptor yang terdiri dari reseptor tipe I dan reseptor tipe II (Faler *et al.*, 2006). Ligan superfamili TGF-B1 mengikat reseptor TGF-β tipe II, yakni serin/kinin reseptor kinase, dan akan memfosforilasi reseptor TGF-β tipe I (Pakyari *et al*., 2013).

2.5. Kolagen

Kolagen merupakan salah satu struktur protein penting pada vertebrata. Unit struktural dari kolagen merupakan tropokolagen, protein yang tipis dan panjang (280 nm) dan dengan lebar 1,5 nm yang utamanya mengandung kolagen tipe I. Kolagen tersusun atas *triple helix* dari tiga rantai α polipeptida. Kolagen memiliki kemampuan homeostasis, interaksi dengan trombosit, interaksi dengan fibronektin, meningkatkan eksudasi cairan, meningkatkan komponen seluler, meningkatkan faktor pertumbuhan dan mendorong proses fibroplasia (Triyono, 2005).



Gambar 2.5 Serabut Kolagen pada Tendon (Huang, 2017).

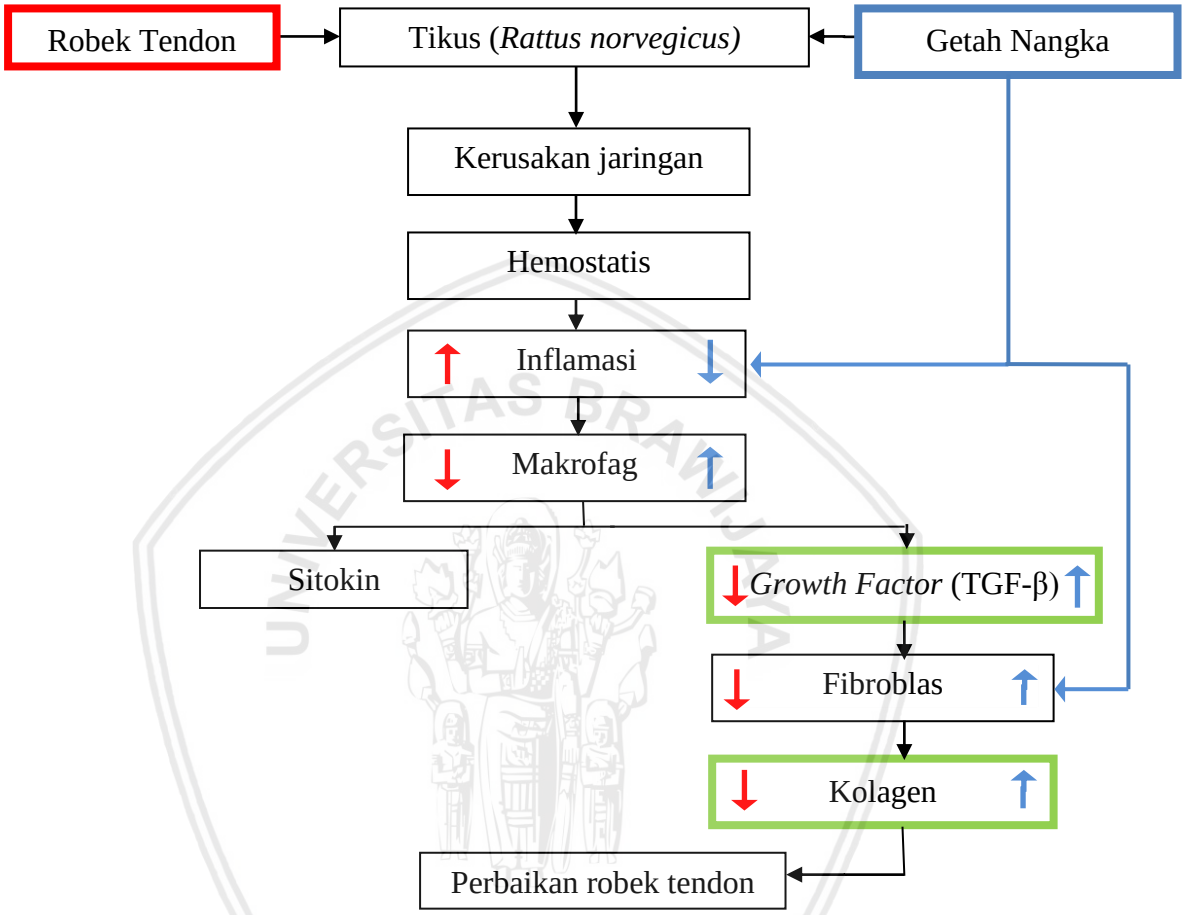
Kolagen juga merupakan agen hemostasik yang sangat efisien karena trombosit melekat pada kolagen, membengkak dan melepaskan substansi untuk memulai proses hemostasis. Masa kolagen yang relatif avaskuler dan aseluler ini berfungsi untuk mengembalikan kontinyuitas, kekuatan, dan fungsi jaringan. Abnormalitas pada kolagen dapat mengakibatkan terganggunya proses kesembuhan luka. 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. 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 Masson's Trichrome stain yang mengandung anilin biru (Hernawati, 2008).

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Konseptual



Keterangan :

= Perlakuan Robek Tendon

= Terapi getah nangka

= Variabel terikat

= Respon akibat robek tendon

= Respon pemberian getah nangka

Hewan coba berupa tikus (*Rattus norvegicus*) model robek tendon dibuat dengan cara diberi perlakuan insisi pada tendon. Tendon yang diinsisi mengakibatkan rusaknya jaringan karena terbentuknya area luka dan menyebabkan terjadinya hemostatis yang ditandai dengan aktivasi platelet, vasokontriksi, dan pembentukan *fibrin plug*. Platelet yang keluar dari pembuluh darah akan mengeluarkan trombokinase. Trombokinase akan mengubah protrombin menjadi trombin, trombin akan mengubah fibrinogen menjadi benang-benang fibrin. Benang fibrin yang terbentuk menyebabkan luka menjadi tertutup sehingga darah tidak mengalir keluar. Luka akan mengalami fase inflamasi yang ditandai dengan terjadinya vasodilatasi di sekitar jaringan luka dan migrasi leukosit salah satunya monosit. Monosit yang bermigrasi kesekitar jaringan yang mengalami luka akan berubah menjadi makrofag. Makrofag yang telah aktif akan melepaskan sitokin dan *growth factor*, salah satunya TGF-β. Makrofag juga aktif dalam proses fagositosis untuk menyingkirkan jaringan mati dan melawan infeksi. Fase inflamasi yang lama akan memperlambat fase proliferasi dan mempengaruhi proliferasi fibroblas. Fase inflamasi terjadi kurang lebih satu hingga lima hari. Sel radang akan menurun setelah fase inflamasi selesai.

Lem getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) ini berperan mempercepat fase inflamasi karena adanya kandungan pektin sebagai antiinflamasi, selulosa yang memiliki sifat sebagai perekat dan menjaga stabilitas jaringan dan sel serta tanin sebagai antibakteri sehingga fase inflamasi berlangsung lebih cepat dan masuk kedalam fase proliferasi. Pada

fase ini makrofag bekerja dalam merangsang aktifasi *growth factor*. Aktifasi *growth factor* salah satunya TGF-β, peningkatan TGF-β yang terjadi karena pemberian getah nangka memicu integrin dalam mengontrol reaksi perbaikan jaringan melalui produksi kolagen matriks ekstraseluler dan fibroblas sehingga dapat mengurangi inflamasi dan terjadi pembentukkan jaringan ikat baru. Faktor pertumbuhan TGF-β juga berperan dalam migrasi dan proliferasi fibroblas yang mengarah ke area robek tendon. Terjadinya peningkatan proliferasi fibroblas akibat efek pemberian 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 getah nangka *(Artocarpus heterophyllus)* dapat meningkatkan ekspresi *Transforming Growth Factor Beta* (TGF-β) pada robek tendon tikus (*Rattus novergicus*).
2. Pemberian getah nangka *(Artocarpus heterophyllus)* dapat mempengaruhi kepadatan kolagen pada tendon tikus (*Rattus novergicus*).

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 dibeberapa 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

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain; kandang pemeliharaan tikus, 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 *masson's thrichrome*, pewarna immunohistokimia, antibodi primer *anti rat* TGF-β, poly lysine, alkohol asam, balsam kanada, objek glass dan cover glass, tikus (*Rattus novergicus*), pakan dan minum tikus, serta underpad sebagai alas kandang.

4.3. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu hewan coba berupa tikus (*Rattus novergicus*) berjenis kelamin jantan dengan berat badan 100-200 gram berumur 2-3 bulan yang didapatkan dari Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Islam Negeri Maulana Malik. Jumlah hewan coba yang digunakan sebagai sampel dihitung dengan Federer (Hasanah, 2015).

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

$3\ (n-1) \geq 15$

$3n - 3 \geq 15$

$3n \geq 18$

$n \geq 6$

Keterangan:

t: jumlah perlakuan

n: jumlah ulangan yang diperlukan

Setelah melakukan perhitungan jumlah sampel hewan coba yang diperlukan, maka dalam pelaksanaan penelitian ini menggunakan hewan coba tikus sejumlah 18 ekor yang dibagi dalam 3 kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok perlakuan membutuhkan 6 kali ulangan, sehingga setiap perlakuan membutuhkan 6 ekor hewan coba. Hewan coba yang sudah dipesan sebanyak jumlah yang sudah ditentukan selanjutnya diadaptasikan selama tujuh hari di Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Islam Negeri Maulana Malik**.** Tikus diberi makan dan minum secara adlibitum dan diberi alas sekam yang diganti setiap harinya.

4.4. Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan Acak Lengkap digunakan apabila ragam satuan percobaan yang digunakan homogen atau seragam. Sampel hewan coba yang berjumlah 18 ekor, dibagi dalam 3 perlakuan yang berbeda dan masing-masing menggunakan pengulangan sebanyak 6 kali. Kelompok hewan coba pada penelitian ini adalah:

Tabel 4.1 Kelompok Hewan Coba

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

4.5. Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

a) Variabel bebas : Terapi lem getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*), robek tendon

b) Variabel terikat : Ekspresi TGF-β dan Kepadatan 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 merupakan tikus (*Rattus norvegicus*) jantan dengan berat badan berkisar 100-200 gram dengan usia 2-3 bulan. Hewan coba diaklimatisasi selama tujuh hari untuk menyesuaikan dengan kondisi di laboratorium. Hewan coba tersebut dibagi menjadi 3 kelompok, masing-masing kelompok berisikan 6 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 beralaskan underpad dan diberi penutup kandang dari kawat. Kandang tikus ditempatkan pada tempat yang nyaman dan tikus diberi makan dan minum secara *ad libitum* (Lamanepa, 2005).

4.6.2 Pembuatan Lem Getah Nangka

Persiapan getah nangka dilakukan di Laboratorium Histologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. Getah nangka diperoleh dari bagian pangkal buah nangka yang dikoleksi dengan cara memotong bagian pangkal buah nangka hingga getah keluar. Selanjutnya, getah ditampung didalam wadah plastik dan dibuang cairannya sehingga hanya diambil getahnya saja atau bagian

yang kentalnya. Kemudian getah dipindahkan ke cawan petri kecil dan disterilkan menggunakan sinar UV selama dua kali 60 detik. Kemudian, getah nangka dipanaskan diatas kompor elektrik dengan suhu 60^{o}C supaya getah tidak mengeras dan tidak menggumpal saat akan diaplikasikan pada robek tendon.

4.6.3 Pembuatan Robek Tendon Pada Hewan Coba

Hewan coba tikus yang sudah diadaptasikan selama 7 hari kemudian dikelompokkan menjadi tiga kelompok, masing-masing terdiri dari enam ekor tikus. Tikus tersebut diberi tanda pada bagian ekor dengan spidol *waterproof*. Tikus ditimbang satu persatu dan dianestesi dengan menggunakan campuran ketamine dengan dosis 50 mg/kgbb dan xylazine dengan dosis 20 mg/kgbb yang diinjeksikan melalui intramuskular. Lokasi insisi pada ektremitas caudal sebelah kanan dicukur rambutnya sampai bersih, kemudian dioles kapas beralkohol 70%. Insis pada kulit bagian belakang tungkai bawah ekstremitas caudal sebelah kanan hingga tendo achilles terlihat. Insisi pada tendo achilles 0,1 cm untuk membuat luka robek dengan menggunakan gunting bedah kecil.

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(-) 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 dua kali. Lama terapi yang diberikan adalah 14 hari.

4.6.5 Koleksi Sampel Organ

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 histologi (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

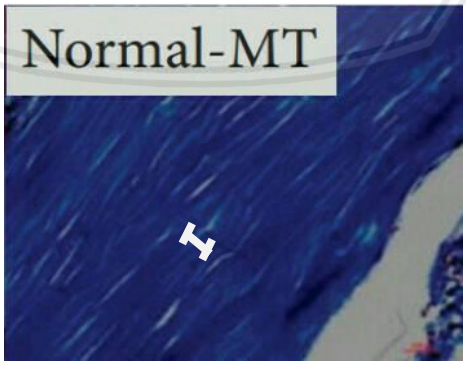
akuades + 90 alkohol absolut), 100% masing- masing selama 1 jam, dijernihkan dengan xylol I sampai III (*clearing*) masing-masing 20 menit, kemudian sampel tendon dimasukkan ke dalam parafin cair I, II, III pada incubator parafin suhu 58-60°C (infiltrasi parafin), dan sampel tendon ditutup menggunakan *tissue cassette* (*embedding*). Potongan jaringan yang telah dimasukkan pada paraffin 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 dan *Masson's Trichome* (Samson and Unity,2014).

4.6.7 Pengamatan Kolagen Menggunakan Pewarnaan *Masson's Thricome*

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 *Masson's Trichome* (Cotran, 2003).

Preparat dipanaskan pada oven selama 10 menit sebelum dilakukan deparafinisasi. Preparat yang difiksasi terlebih dahulu dilakukan proses perendaman dalam larutan Bouin selama satu jam dalam suhu 37°C. Preparat dibilas dengan air mengalir selama 5 menit selanjutnya dibilas dengan aquades. Preparat yang telah selesai dibilas diwarnai dengan pewarnaan hematoksilin selama 10 menit. Preparat dibilas menggunakan air mengalir selama 10 menit. Pewarnaan

dilanjutkan dengan menggunakan larutan *biebrich scarlet acid fuschin* selama 10-15 menit, setelah itu preparat direndam didalam *acetic acid* 1% selama 1 menit. Preparat diteteskan *Pospho-tungstic acid* selama 5 menit, preparat direndam didalam larutan *acetic acid* 1% selama 1 menit. Preparat ditetesi *Aniline Blue* selama 2 sampai 5 menit yang kemudian direndam didalam larutan *acetic acid* 1% selama 1 menit. Preparat dibilas dengan air mengalir selama 30 detik, setelah itu dilakukan dehidrasi menggunakan alkohol 95% dan 100%. Preparat direndam didalam cairan xylol I, II dan III masing-masing selama 5 menit (*clearing*). Preparat diberikan entelan sebanyak 1-2 tetes, kemudian ditutup dengan *cover glass*, ditekan dan dibiarkan mengering. Pengamatan kepadatan kolagen dilakukan menggunakan mikroskop OLYMPUS dengan perbesaran 100x satu lapang pandang di area robek tendon yang diamati arah serat kolagen dan jarak antar serat kolagen (Palumpun, 2017).



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

4.6.8 Analisis Ekspresi TGF-β pada Jaringan Tendon dengan Metode Imunohistokimia

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 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 dideparafinisasi 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 diteteskan 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 µL dan diinkubasi pada suhu 4^{o}C selama 1 malam. Selanjutnya slide dicuci dengan PBS selama 5 menit (3x).

Slide diberi antibodi/Ab primer *anti rat* TGF-β sebanyak 30 µL dan slide diletakkan di dalam chamber lalu diinkubasi dalam refigator suhu 4^{o}C selama 1 malam. Slide kemudian dicuci kembali menggunakan PBS selama 5 menit (3x). Kemudian diteteskan antibodi/Ab sekunder kit merk scytek yaitu universal antibodi sekunder sebanyak 1 tetes per jaringan pada slide, dimasukkan ke dalam chamber dan diinkubasi pada suhu 37^{o}C selama 60 menit. Slide dicuci kembali dengan PBS selama 5 menit (3x), kemudian dilakukan pemberian SAHRP dan diinkubasi pada suhu 37^{o}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_2O_2 (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 meggunakan perbesaran 400x.

4.6.9 Analisis Data

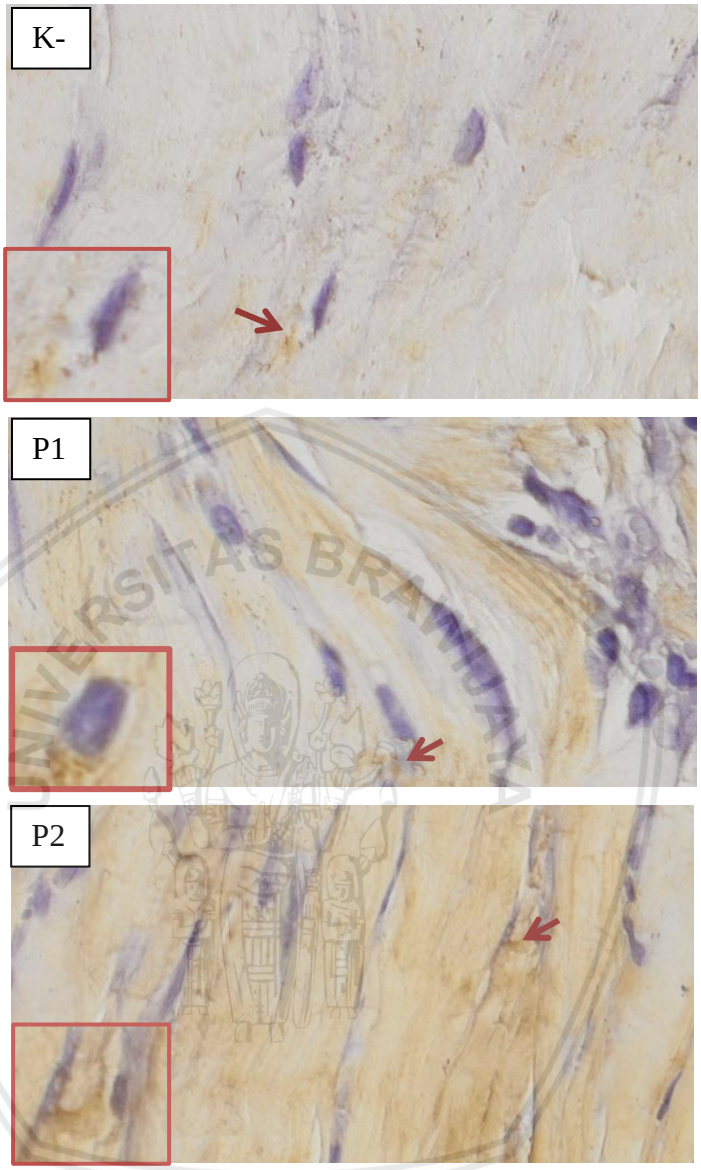
Parameter yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ekspresi TGF-β yang dianalisis data secara kuantitatif menggunakan software immunoratio, kemudian menggunakan microsoft excel dan SPSS for windows 24 dengan analisis statistik ragam one-way ANOVA dengan uji lanjutan Tukey α=0,05 dan kepadatan kolagen yang dianalisis data secara kualitatif dengan pengamatan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Ekspresi TGF-β pada Robek Tendon

Parameter pertama yang diamati dari proses penyembuhan luka dalam penelitian ini adalah *Transforming Growth Factor Beta* (TGF-β). Parameter TGF-β diamati pada hari ke-14 pasaca luka robek tendon dilakukan pada tikus. *Transforming Growth Factor Beta* (TGF-β) merupakan faktor pertumbuhan yang memiliki fungsi dalam penyembuhan luka, pembentukkan jaringan parut, diferensiasi jaringan tendon dan menginisiasi fibrogenesis (Faler *et al.*, 2006). Hasil ekspresi TGF-β pada tikus model robek tendon dengan teknik imunohistokimia ditunjukkan dengan adanya ekspresi warna kecokelatan pada sitoplasma sel dan jaringan tendon yang dapat dilihat pada **Gambar 5.1**. Warna kecokelatan dikarenakan adanya interaksi antara TGF-β pada jaringan tendon dengan antibodi primer (*anti-rat* TGF-β) yang ditambahkan. Data perhitungan TGF-β yang diperoleh dianalisa secara statistika sehingga diperoleh hasil bahwa rata-rata TGF-β tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan dua **Gambar 5.1 (P.2)** dan terendah terdapat pada kelompok kontrol negatif **Gambar 5.1 K(-)**.



Gambar 5.1. Ekspresi TGF-β Tendon Tikus (*Rattus norvegicus*) dengan Metode Immunohistokimia (Perbesaran 400x).

Keterangan: K(-) Tikus sehat, (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.

Data rata-rata ekspresi TGF-β yang diperoleh kemudian dianalisa secara statistika. Hasil ekspresi TGF-β yang terlihat pada **Gambar 5.1** menunjukkan adanya warna cokelat yang berarti terdapatnya TGF-β pada

jaringan tendon. Ekspresi TGF-β pada kelompok kontrol negatif **Gambar 5.1 K(-)** menunjukkan ekspresi yang paling rendah dibandingkan dengan kelompok lain, hal ini dikarenakan kelompok kontrol negatif dalam keadaan normal dan tidak mengalami kerusakkan jaringan. Sintesis faktor pertumbuhan terpicu karena adanya kerusakan jaringan, yang akan berpengaruh terhadap proses perbaikan jaringan. Hasil ekpresi TGF-β pada kelompok perlakuan satu **Gambar 5.1 (P.1)** dan kelompok perlakuan dua **Gambar 5.1 (P.2)** menunjukkan ekspresi lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif.

Hasil ekspresi TGF-β diukur menggunakan *software immunoratio* yang akan mempresentasikan area yang mengekspresikan TGF-β dan dilanjutkan dengan pengolahan data secara statistik. Hasil ekspresi TGF-β kemudian dianalisa secara statistik menggunakan metode *one-way* ANOVA sehingga didapatkan nilai $p<0,05$ dan kemudian dilanjutkan dengan uji Tukey $\alpha=0,05$ yang disajikan pada **Tabel 5.1**.

Tabel 5.1 Hasil Uji Tukey terhadap ekspresi TGF-β

Kelompok	Rata-rata Area Ekspresi TGF-β (%) (Rata-rata ± SD)	Peningkatan terhadap K(-) (%)
Kontrol (-)	26,56±2,38%[a]	-
Perlakuan 1 (Asam mefenamat)	45,52±2,67%[b]	41,65%
Perlakuan 2 (Asam mefenamat + getah nangka)	68,09±3,03%[c]	60,99%

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

Hasil analisa statistik menunjukkan (**Tabel 5.1**) bahwa getah nangka dalam bentuk lem *biosealant* secara signifikan ($p<0,05$) meningkatkan

ekspresi TGF-β pada kasus robek tendon dan menunujukkan perbedaan notasi pada tiap kelompok perlakuan. Hasil uji tukey terhadap ekspresi TGF-β hari ke-14 pada kelompok perlakuan satu (P1) dengan terapi asam mefenamat dan kelompok perlakuan dua (P2) dengan terapi asam mefenamat serta lem getah nangka berbeda signifikan ($p<0,05$) terhadap kelompok kontrol negatif (K-) karena berbeda notasi. Kelompok perlakuan satu (P1) berbeda signifikan ($p<0,05$) terhadap kelompok perlakuan dua (P2) karena berbeda notasi. Kelompok (P1) tikus robek tendon dengan terapi analgesik asam mefenamat dosis 50 mg/kgBB menunjukkan rata-rata sebesar 45,52±2,67%. Kelompok (P2) tikus robek tendon dengan terapi analgesik asam mefenamat dosis 50 mg/kgBB serta lem biosealant getah nangka 10 mg menunjukkan rata-rata sebesar 68,09±3,03%.

Berdasarkan **Tabel 5.1** ekspresi TGF-β pada kelompok kontrol negatif menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap kelompok perlakuan P1 dan P2. Jumlah rata-rata ekspresi TGF-β kelompok kontrol negatif didapatkan sebesar 25,56%, hal ini menunjukkan bahwa TGF-β diekspresikan pada tendon normal. Menurut Guanqun, *et al.,* (2005) TGF-β juga penting dalam menjaga homeostasis jaringan dengan meregulasi pertumbuhan dan diferensiasi sel serta deposisi matriks ekstraseluler, pada kondisi fisiologis terjadi apoptosis atau kematian sel secara terprogram sehingga dibutuhkan peranan faktor pertumbuhan untuk meregenerasi sel-sel yang telah mati. Tenosit merupakan sel fibroblas pada tendon yang telah matang dengan fungsi utama untuk sintesis dan degradasi kolagen, secara

konstan memperbaiki kerusakan mikro tendon dalam keadaan normal. Fungsi tenosit yang menurun hingga kematian sel dalam keadaan normal diakibatkan terjadinya ketidakstabilan dalam tendon karena hipoksia,iskemia dan stres tendon karena latihan (Ren, 2008). Hal ini menyebabkan TGF-β tendon tetap terkspresi untuk memperbaiki seluler yang aktivitasnya tidak sesuai.

Ekspresi TGF-β pada kelompok perlakuan satu **Gambar 5.1 (P.1)** dengan pemberian terapi asam mefenamat menunjukkan adanya peningkatan ekspresi dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif sebesar 41,6%, tetapi peningkatan tidak setinggi kelompok perlakuan dua (P2). 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 prostaglandin. Prostaglandin merupakan 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 memasuki fase proliferasi, sehingga pada fase proliferasi makrofag mulai bekerja dalam mengaktifasi TGF-β yang berperan penting dalam merangsang terjadinya proliferasi fibroblas dan menghasilkan matriks ekstraseluler yang berfungsi untuk proses perbaikan jaringan (Velnar, *et al.*, 2009).

Ekspresi TGF-β pada kelompok perlakuan dua **Gambar 5.1 (P.2)** dengan pemberian terapi asam mefenamat dan lem getah nangka 10 mg menunjukkan adanya peningkatan ekspresi TGF-β sebesar 60,99 % dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan satu. Hal ini dikarenakan adanya sifat antiinflamasi dari asam mefenamat dan getah nangka yang memiliki kandungan pektin yang mampu membantu proses perbaikan luka robek tendon. Pektin yang terkandung dalam getah nangka memiliki fungsi menstimulasi lebih banyak sel makrofag untuk bermigrasi ke area luka (Chansiripornchai *et al*., 2005). Sel makrofag yang semakin banyak bermigrasi ke area luka akan mempercepat proses fagositosis benda-benda asing di area luka, sehingga fase inflamasi berlangsung lebih singkat dan segera memasuki fase proliferasi. Makrofag pada fase proliferasi berperan dalam aktifasi TGF-β yang berfungsi menginisiasi proliferasi dan migrasi dari sel fibroblas, sehingga peningkatan sel makrofag akan diikuti dengan peningkatan aktifasi TGF-β. 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 pektin lem getah nangka menstimulasi sel makrofag menuju ke area luka

sehingga fase inflamasi menjadi lebih singkat dan masuk ke fase proliferasi dan pada fase proliferasi akan terjadi peningkatkan aktifasi TGF-β yang optimal.

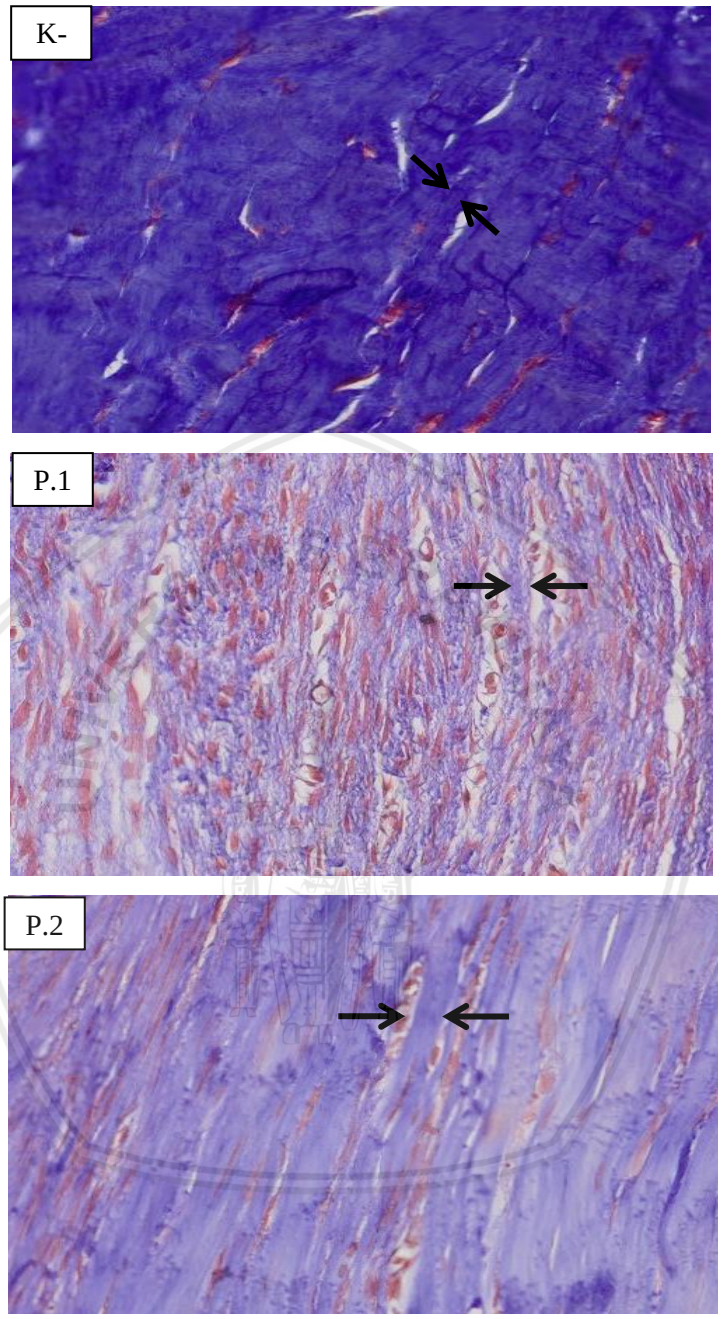
Berdasarkan hasil uraian dan analisa statistik uji *one-way* ANOVA tersebut dapat disimpulkan bahwa penggunaan lem getah nangka mampu meningkatkan ekspresi TGF-β pada tikus model robek tendon, karena menunjukkan hasil peningkatan ekspresi TGF-β secara signifikan dibandingkan kelompok perlakuan satu.

5.2 Kepadatan Kolagen pada Robek Tendon

Parameter keberhasilan pemberian terapi lem biosealant getah nangka pada tikus model robek tendon dapat dilihat melalui pengamatan kepadatan kolagen dengan pewarnaan *Masson's Trichrome.* Pewarnaan *Masson's Trichrome* merupakan pewarnaan yang digunakan untuk mewarnai serabut jaringan ikat, sehingga kolagen akan tampak berwarna biru pada pewarnaan ini. Kepadatan kolagen diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x pada satu lapang pandang yang diamati jarak antar serat dan arah serat kolagen. Menurut Novriansyah (2008) kriteria penilaian histologis terhadap kepadatan kolagen dibuat berdasarkan sebaran dan kerapatan serabut kolagen. Menurut Streit (2015) kolagen tendon normal secara mikroskopis menujukkan susunan serat kolagen paralel dengan jarak antar serat yang rapat dan serat kolagen yang sedikit bergelombang. Pembentukkan serabut kolagen merupakan hal yang penting untuk meningkatkan kekuatan tendon

yang rusak. Kekuatan daya regang tendon dipengaruhi oleh kepadatan, ketebalan dan komponen kolagen (Gurtner, 2007).

Berdasarkan **Gambar 5.2** kolagen pada pewarnaan *Masson's Trichrome* berwarna biru. Kelompok kontrol negatif digunakan sebagai standar untuk membandingkan peningkatan kepadatan kolagen pada kelompok perlakuan, pada **Gambar 5.2. K(-)** merupakan tikus sehat tanpa perlakuan, dapat dilihat bahwa serabut kolagen terwarnai biru dengan kepadatan kolagen yang sangat jelas. Kelompok perlakuan satu **Gambar 5.2 (P.1)** terlihat adanya perbedaan kepadatan serabut kolagen dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan dua. Kelompok perlakuan satu yang diberikan analgesik asam mefenamat dengan dosis 50 mg/kg BB terlihat kepadatan serabut kolagen lebih renggang dan arah serat serabut kolagen tidak searah dibandingkan dengan kepadatan serabut kolagen kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan dua. Kelompok perlakuan dua **Gambar 5.2 (P.2)** terlihat kepadatan serabut kolagen jauh lebih padat dan arah serat serabut kolagen sudah mulai satu arah dibandingkan dengan serabut kolagen pada kelompok perlakuan satu. Hal ini menunjukkan kelompok perlakuan dua yang diberikan terapi analgesik asam mefenamat dan lem getah nangka terdapat peningkatan pembentukkan serabut kolagen yang mempengaruhi kepadatan kolagen.



Gambar 5. Histopatologi Kolagen Jaringan Tendon Tikus (*Rattus norvegicus*) dengan pewarnaan *Masson's Trichrome* (Perbesaran 100x).

Keterangan: K(-) Tikus sehat tanpa pelakuan apapun, (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 dan terapi lem biosealant getah nangka sebanyak 10 mg. Pada K(-) dapat terlihat kepadatan kolagen yang lebih jelas. Pada (P.2) memiliki kepadatan kolagen mendekati dengan K(-).

Kelompok kontrol negatif (**Gambar 5.2 K(-)**) merupakan indikator atau pembanding dari kepadatan kolagen yang normal. Gambaran histologis pada kelompok kontrol negatif menunjukkan serabut kolagen yang padat dengan arah serat satu arah dan jarak antar serat berdekatan. Hal ini disebabkan karena tendon tikus pada kelompok perlakuan K(-) tidak mengalami kerusakan yang berpengaruh terhadap struktur dan kepadatan kolagen. Menurut Mescher (2016) tendon merupakan jaringan ikat padat teratur yang sebagian besar terdiri dari serabut kolagen dan fibroblas yang tersusun paralel. Gambaran histologi normal tendon menunjukkan serabut kolagen satu arah, terdapat beberapa sel fibroblas dan tidak adanya akumulasi sel radang. Menurut Novitasari (2017) serabut kolagen normal pada pewarnaan *Masson's Trichrome* menunjukkan warna biru yang pekat, hal ini dikarenakan fibril-fibril kolagen telah mengalami ikatan silang ke bentuk yang lebih padat dan tebal. Menurut Astawa (2016) masa kolagen berfungsi untuk mengembalikan kontinyuitas, kekuatan dan fungsi jaringan.

Kelompok perlakuan satu (**Gambar 5.2 P1**) tikus dengan perlakuan robek tendon dan terapi asam mefenamat dosis 50 mg/kg BB menunjukkan adanya perkembangan pertumbuhan kolagen, terlihat mulai terjadi sintesis kolagen yang ditandai adanya serabut kolagen tipis berwarna biru. Hal ini dikarenakan pemberian terapi asam mefenamat dapat menghambat enzim siklo-oksigenase yang berperan dalam sintesis prostaglandin. Prostaglandin merupakan salah satu faktor kimia yang dihasilkan dari adanya proses inflamasi yang berperan sebagai mediator peradangan dan nyeri (Brunton *et*

al., 2008). Enzim siklo-oksigenase yang dihambat dapat membantu mempercepat fase inflamasi dan memasuki proses selanjutnya fase proliferasi dimana sintesis kolagen mulai terjadi. Serabut kolagen terdistribusi acak dan membentuk persilangan dan beragregasi menjadi kumparan fibril yang secara perlahan menyebabkan kesembuhan jaringan dan meningkatkan daya regang (Triyono, 2005). Menurut Astawa (2016) arah serat kolagen yang acak dan tidak tersusun satu arah akan mempengaruhi kekuatan daya regang jaringan.

Kelompok perlakuan dua (**Gambar 5.2 P2**) tikus dengan perlakuan robek tendon dengan pemberian analgesik asam mefenamat dosis 50 mg/kg BB dan lem getah nangka menunjukkan adanya peningkatan kepadatan kolagen dibandingkan kelompok tikus (P.1) dan menunjukkan kepadatan kolagen yang mendekati kelompok tikus sehat K(-). Hal ini dikarenakan adanya sifat antiinflamasi dari asam mefenamat dan getah nangka yang memiliki kandungan pektin yang mampu membantu proses perbaikan luka robek tendon. Pektin yang terkandung dalam getah nangka memiliki fungsi menstimulasi lebih banyak sel makrofag untuk bermigrasi ke area luka. Kemampuan pektin sebagai antiinflamasi dapat mempersingkat fase inflamasi (Chansiripornchai *et al*., 2005). 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). Kandungan lem getah nangka menyebabkan fase inflamasi menjadi lebih singkat dan

masuk ke fase proliferasi. Makrofag pada fase proliferasi berperan dalam aktifasi TGF-β yang berfungsi menginisiasi proliferasi dan migrasi dari fibroblas. Faktor pertumbuhan TGF-β yang meningkat akibat pemberian terapi lem getah nangka, akan diikuti dengan peningkatan jumlah sel fibroblas yang terbentuk. Menurut Sumbayak (2014) Fibroblas merupakan sel induk yang berperan membentuk serat-serat dalam matriks, terutama serat kolagen. Kolagen yang terbentuk satu arah akan memberikan kekuatan dan integritas pada jaringan tendon yang rusak, sehingga mempercepat proses kesembuhan robek tendon.

Kolagen merupakan protein utama yang menyusun komponen matriks ekstraseluler dan merupakan protein terbanyak yang ditemukan dalam tubuh mamalia. Kolagen sangat berperan penting pada setiap tahap penyembuhan luka. Menurut Sodera dan Saleh (2000), sintesis kolagen oleh fibroblas mencapai puncaknya pada hari ke-5 sampai ke-7 fase proliferasi. Sintesis kolagen diinduksi oleh sejumlah molekul meliputi faktor pertembuhan seperti PDGF, FGF dan TGF-β.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian lem getah nangka mampu meningkatkan pembentukkan kolagen pada tikus model robek tendon dan menunjukkan hasil kepadatan kolagen yang mendekati dengan kepadatan kolagen kelompok tikus sehat (K-).

BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah disampaikan menunjukkan bahwa:

1. Pemberian terapi getah nangka *(Artocarpus heterophyllus)* mampu meningkatkan ekspresi TGF-β (*Transforming Growth Factor Beta)* pada kondisi robek tendon tikus (*Rattus norvegicus).*
2. Pemberian terapi getah nangka (*Artocarpus heterophyllus)* mampu meningkatkan kepadatan kolagen pada kondisi robek tendon tikus (*Rattus norvegicus).*

6.2 Saran

Adapun saran untuk penelitian ini yaitu:

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

repository.ub.ac.id

DAFTAR PUSTAKA

Arung, E. T., E. Sukaton, K. Shimizu, S. Muladi, R. Kondo. 2008. Artocarpin, A Promosing Compound as Whitening Agent and Anti-skin Cancer. *Journal Tropical Wood Science and Technology*., 1, 1-36.

Astawa, P. 2016. *Rasio Serat Kolagen Tipe III/Tipe I Lebih rendah dan Kekuatan Tensile Lebih Tinggi pada Kesembuhan Cedera Tendon Achilles Kelinci yang Diberikan Astaxanthin*. [Tesis]. Magister Ilmu Kesehatan. Program Pasca Sarjana Universitas Udayana. Bali.

Bauge C., S. Leclercq, T. Conrozier, K. Boumediene. 2015. Reduce Inflammation and MMP Espression in Monolayer Culture of Tendon Cells. *BMC Complementary abd 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.

Chansiripornchai P., C. Pramatwinai dan A.. Rungsipipat, 2005. *The Efficiency of Polysaccahride Gel Extra from Fruit-Hulls of Durian for Wound Healing in Pig Skin*. Acta Hort. Vol. 5(3): 39

Cotran, R.S., V. Kumar, and T. Collins. 2003. *Pathology Basic of Disease*. 6th Edition. Philadelphia: WB Saunders Co.

Doral, M. N., M. Alam, M. Bozkurt, E. Turhat dan N. Mafulli. 2010. *Functional Anatomy of Achilles Tendon*. Springer. Verlag.

Faler, B. J., R. A. Mascata, and D. Plummer. 2006. Focus on basic science: Transforming growth factor-β and wound healing. Sage Publication. *http://pvs.sagepub.com*/. [8 Februari 2019]

Gillis, L. Carol. 2006. *Rehabilitation of Tendon and Ligament Injuries*. Proceedings of the Annual Convention of the AA.

Guanqun, A., S. Lu, G. Han, M. Kulesz-Martin, and X.J. Wang. 2005. Current View of the Role of Transforming Growth Factor β1 in Skin Carcinogenesis. *J. Investig Dermatol Symp Proc* 10: 110.

Gurtner, G.C. 2007. *Wound Healing Normal dan Abnormal*. In: Thorne CH, Beasly, R. W., Aston, S. J., Bartlett, S.P., Gurtner, G.C., Spear, S.L.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

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.

Huang, D., G. Balian, B. Chhabra. 2017. *Tendon Tissue Engineering and Gene Transfer : The Future of Surgical Treatment. Departement of Orthopedic Surgery*. University of Virginia Health System. Charlotteville.

Hermendy, B. E., dan D. R. Pawarti. 2017. Peran *Transforming Growth Factor Beta* (TGF-β) Pada Rinitis Alergi. Dep/SMF Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga-RSUD Dr. Soetomo Surabaya. *Jurnal THT-KL*, Januari-April 2017, 10(1): 27-36.

Hernawati. 2008. *Jaringan Ikat*. Bahan Kuliah Struktur Hewan. Universitas Indonesia. Jakarta.

Indriyani dan Ihsan. 2015. *Mengenal Nangka dan Kerabatnya*. Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika. Solok.

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 (Ratttus novergicus). *Journal of Universitas Brawijaya Malang*. 1-8.

Khanbabaee, K. Dan Ree, T. V. 2001. Tannins:Classification and Definition. *Nat Prod Rep*, 18: 641-649

Lamanepa, M. E. L. 2005. *Perbandingan Profil Lipid dan Perkembangan Lesi Aterosklerosis pada Tikus Wistar yang Diberi Diet Perasan Pare Dengan Diet Perasan Pare dan Statin*. [Tesis]. Magister Ilmu Biomedik. Program Pascasarjana Universitas Diponegoro. Semarang.

Manner, H. I. Dan C. R. Elvitch. 2006. Artocarpus heterophyllus. Species Profiles for Pasific Island Agroforestry. *(www.traditionaltree.org)* [19 Januari 2015].

Mauviel, A. 2009. Transforming Growth Factor-β signaling in skin: Stromal to epithelial cross talk. *Journal of Investigative Dermatology*.

Mercya, Y., Soemardji, A., Fanty, F. 2017. *Effect of Mefenamic Acid to Acupuntur Therapy on Carrageenan-Induced Inflamatory Pain in the Hind Limb of Rat*. Clinical Pharmacology and Toxicology Departement. School of Pharmacy Bandung Institute of Technology. Bandung.

Mescher, A. L. 2016. *Junqueira's Basic Histology Text and Atlas 14th Edition*. Indiana University School of Medicine. Indiana.

Miller, S. D., J. C. Russel, H.E. Maclnes, J. Abdelkrim, dan R.M. Fewster. 2010. Multiple Peternity in Wild Population of Invasive Rattus Species. *New Zealand Journal of Ecology*, 34(3):360-362

Novitasari, A. I. M., R. Indraswary dan R. Pratiwi. 2017. Pengaruh Aplikasi Gel Ekstrak Membran Kulit Telur Bebek 10% terhadap Kepadatan Serabut Kolagen pada Proses Penyembuhan Luka Gingiva. *ODONTO Dental Journal*. Volume 4. Nomor 1.

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.

Pakyari, M. Reza, A. Farrokhi, M. Khosravi Maharlooei, and Aziz Ghahary. 2013. *Critical Role of Transforming Growth Factor Beta in Different Phases of Wound Healing*. Department of Surgery and Professional Fire Fighters' Burn & Wound Healing Research Laboratory, University of British Columbia. Canada.

Palumpun, E.F., A. A. G. P. Wiraguna dan W. Pangkahila. 2017. *Pemberian Ekstrak Daun Sirih (Piper betle) secara Topikal meningkatkan Ketebalan Epidermis, Jumlah Fibroblas dan Jumlah Kolagen dalam Proses Penyembuhan Luka pada Tikus Jantan Galur Wistar (Rattus norvegicus*). [SKRIPSI]. Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. Bali.

Priyonoadi, B.. 2011. *Perawatan Cedera pada Tendon Achilles*. Jakarta: PT Rajagrafindo Persada.

Ren, K. dan R. Torres. 2008. Role of Cytokine During Pain and Inflamation. *Elsevier Journal.*60 (1): 57-64.

Rukmana, R. 2008. *Budi Daya Nangka*. Yogyakarta: Kanisius. Hal 34-35.

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.

Sasongko, W. Teguh, L. M. Yusiati, Z. Bachrudin dan Mugiono. 2010. *Optimalisasi Pengkatan Tanin Daun Nangka dengan Protein Bovine Serum Albumine*. [SKRIPSI]. Fakultas Peternakan. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.

Sharma, P. and N. Mafulli. 2006. Tendon Injury and Tendinopathy: Healing and Repair. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. Incorporated.

Sjamsuhidajat, R. dan de Jong, Wim. *Buku Ajar Ilmu Bedah*. Ed.2. 2004. Jakarta : EGC.

Sirois, M. 2005. *Laboratory Animal Medicine: Principles and Procedures*. Elsevier Press. Washington.

Smith, R. dan M. Schramme. 2003. Tendon Injury in The Horse: Current Theories and Therapies. *Veterinary Record* 132, 476-479

Sodera, V.K., dan M. Saleh. 2000. *Ilustrasi Ilmu Bedah Minor*. Jakarta; Bina Rupa Aksara.

Streit, J. J., Y. Shisani, M. Rodgers dan R. Gobezie. Tendinopathy of the Long Head of the Biceps Tendon: Histopathologic Analysis of the Extra-Articular Biceps Tendon and Tenosynovium. *Open Access Journal of Sports Medicine*. Dovepress.

Suckow, M. A., S.H. Weisbroth dan C.I., Franklin. 2006. *The Laboratory Rat.* Elsevier Academic Press. USA.

Sumbayak, E. M..2014. *Fibroblas: Struktur dan Peranannya dalam Penyembuhan Luka*. Universitas Kristen Krida Wacana. 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 Affilated Hospital. Taiwan.

Tuhuloula, A.. 2013. *Karakterisasi Pektin Dengan Memanfaatkan Limbah Kulit Pisang Menggunakan Metode Ekstraksi*. Banjarmasin: Universitas Lambung Mangkurat.

Velnar, T., T. Bailey, and V. Smrkolj. 2009. The Wound Healing Process: an Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *The Journal of International Medical Research* 37(5).

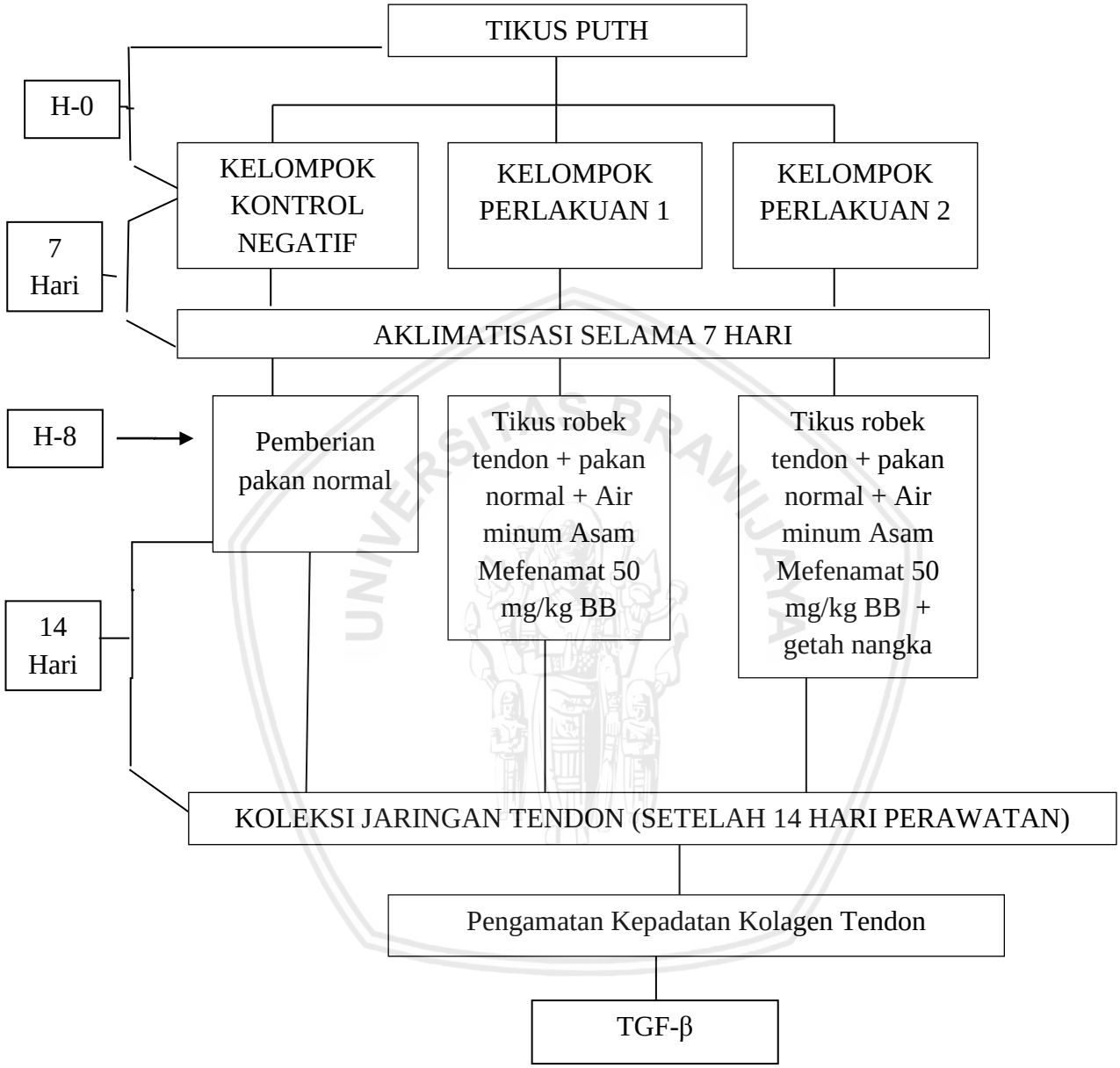
Wilmana, P. F. 2007. Analgesik-antipiretik, analgesik anti-inflamasi non steroid dan obat gangguan sendi lainnya, didalam: Gunawan, S. G., (Ed.), *Farmakologi dan Terapi*, 5th ed., Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia. Jakarta.

repository.ub.ac.id

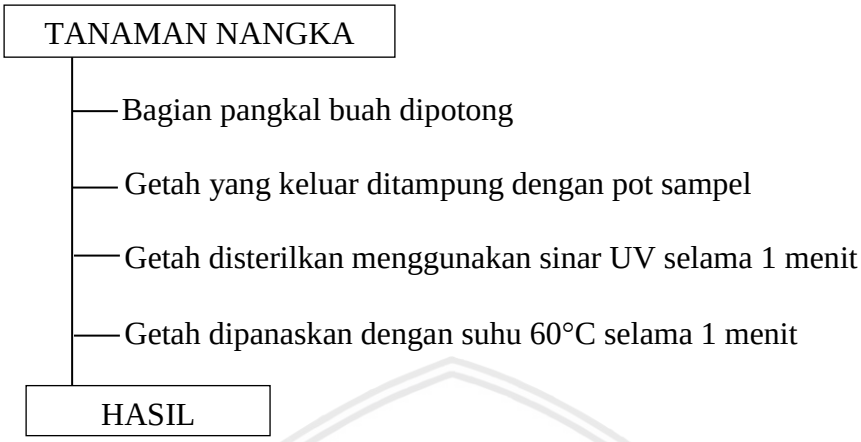
LAMPIRAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

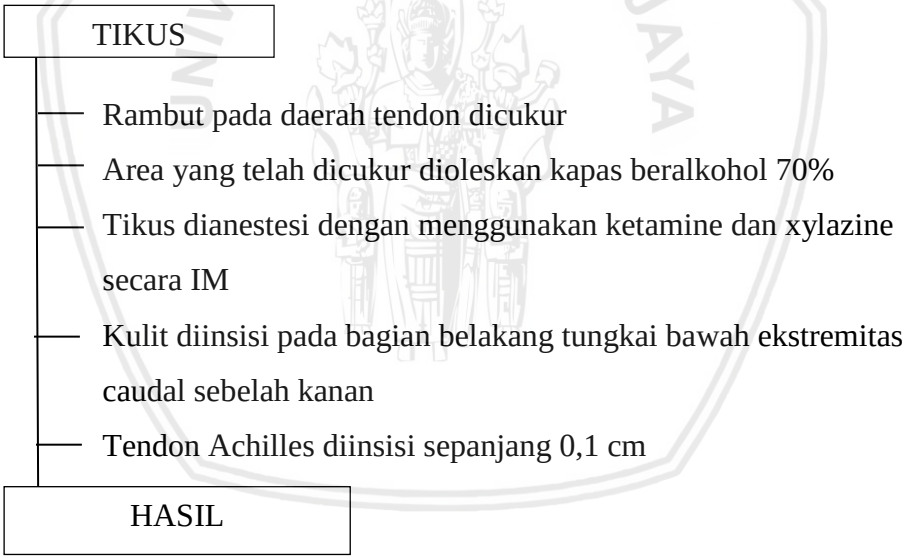
Lampiran 1 : Kerangka Operasional Penelitian



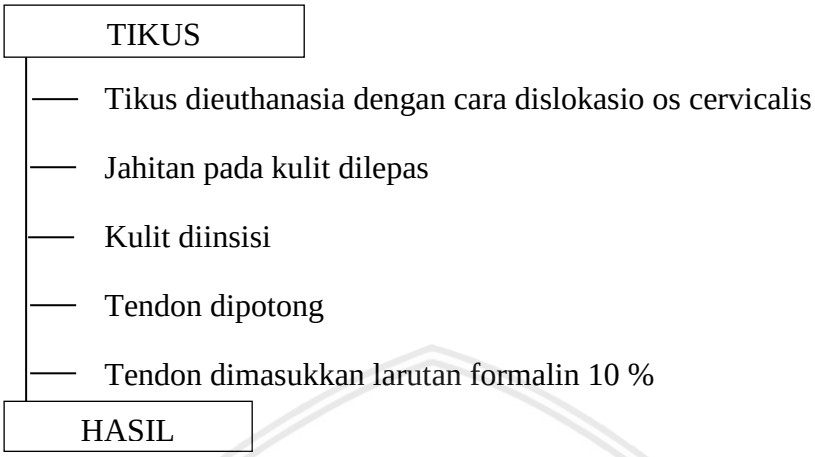
Lampiran 2 Persiapan Getah Nangka



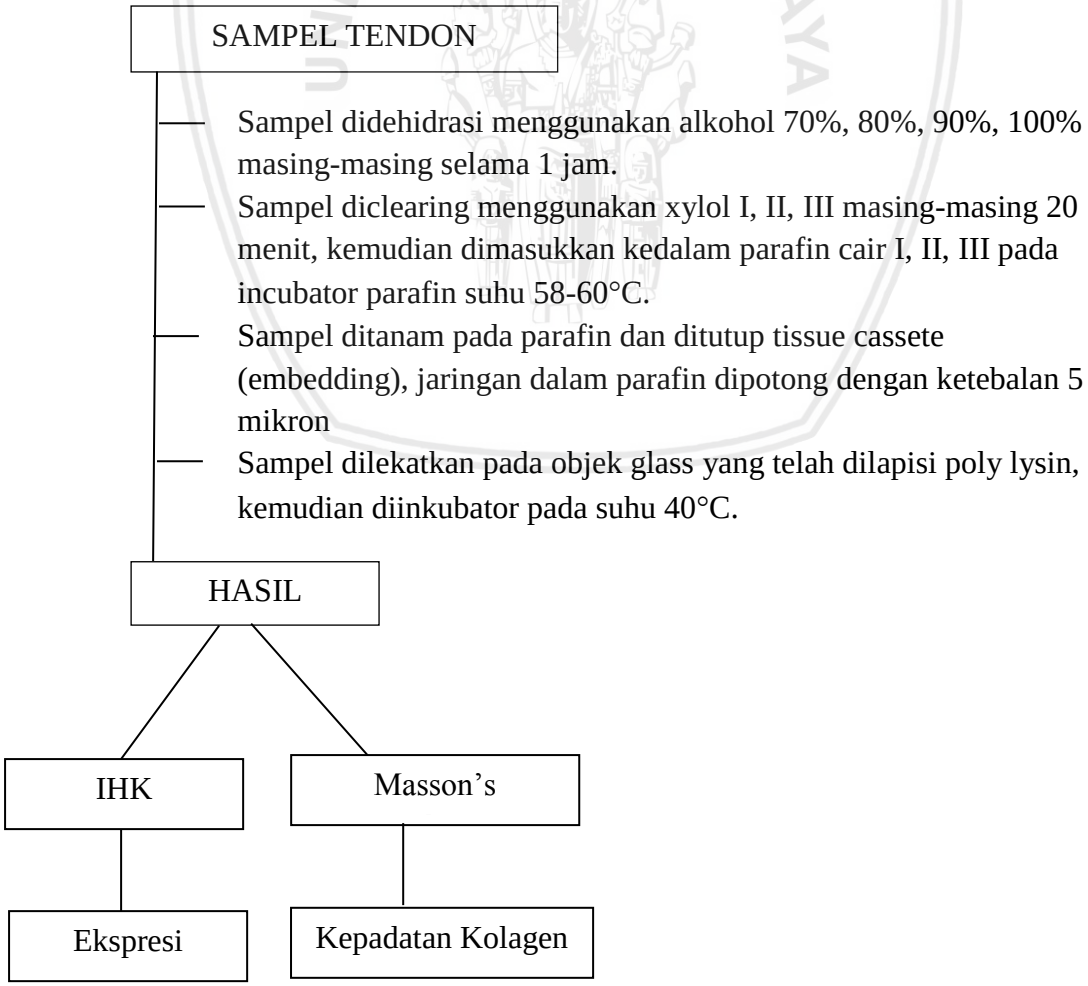
Lampiran 3 : Pembuatan Insisi Robek Tendon Pada Hewan Coba



Lampiran 4 : Pengambilan Sampel Organ Tendon



Lampiran 5 : Pembuatan Preparat Histologi



Lampiran 6: Pengamatan Kepadatan Kolagen Dengan Pewarnaan *Masson's Trichome*

PREPARAT

- Preparat dilakukan deparafinisasi.
- Preparat direndam dalam larutan Bouin selama satu jam dengan suhu 37°C
- Preparat dicuci dengan air mengalir selama 5 menit
- Preparat dibilas dengan aquadest.
- Preparat diwarnai dengan pewarnaan Weigert's iron hematoksilin selama 10 menit
- Preparat dicuci dengan aquadest selama 5 menit
- Preaparat diwarnai dengan *biebrich scarlet acid fuschin* selama 10-15menit

  Preparat direndam didalam *acetic acid* 1% selama 1 menit
- Preparat diteteskan *Phosphomolybdotungstic acid* selama 5 menit,
- Preparat direndam didalam larutan *acetic acid* 1% selama 1 menit
- Preparat ditetesi *Aniline Blue* selama 2 sampai 5 menit
- Preparat direndam didalam larutan *acetic acid* 1% selama 1 menit
- Preparat dibilas dengan air mengalir selama 30 detik
- Preparat dilakukan dehidrasi menggunakan alkohol 95% dan 100%
- Preparat direndam didalam cairan xylol I, II dan III selama 5 menit
- Preparat diberikan entelan sebnayak 1-2 tetes, kemudian ditutup dengan *cover glass*, ditekan dan dibiarkan mongering

Preparat diamati kepadatan kolagen dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x

HASIL

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Lampiran 7 : Analisis Ekspresi TGF-β pada Jaringan Tendon dengan Metode Immunohistokimia

PREPARAT

- Preparat dideparafinisasi ke dalam xylol III sampai I masing-masing selama 7-10 menit
- Preparat direhidrasi ke dalam alkohol absolute 95%, 90%, 85%, 80%, 70% masing-masing selama 7-10 menit
- Preparat dicuci menggunakan aquades selama 5 menit (3x)
- Preparat diteteskan peroksidase pada slide sebanyak 1 tetes dan diinkubasi didalam chamber selama 40 menit dengan suhu ruang
- Preaparat dicuci dengan menggunakan PBS (*phospat buffer saline*) selama 5 menit (3x)
- Preaparat dikeringkan permukaan slide disekitar jaringan menggunakan kertas tisu dengan tetap menjaga jaringan untuk tidak kering
- Preparat dilakukan blocking dengan menggunakan serum FBS dan Tritone X 100 sebanyak 30 µL dan diinkubasi pada suhu 4^{o}C selama 1 malam
- Preparat dicuci dengan PBS selama 5 menit (3x)
- Preparat diberi antibodi/Ab primer *anti rat* TGF-β sebanyak 30 µL dan slide diletakkan di dalam chamber lalu diinkubasi dalam refigator suhu 4^{o}C selama 1 malam

- Preparat dicuci kembali menggunakan PBS selama 5 menit (3x)
- Preparat diteteskan antibodi/Ab sekunder kit merk scytek yaitu universal antibodi sekunder sebanyak 1 tetes per jaringan pada slide
- Preparat dimasukkan ke dalam chamber dan diinkubasi pada suhu 37^{o}C selama 60 menit.
- Preparat dicuci kembali dengan PBS selama 5 menit (3x)
- Preparat dilakukan pemberian SAHRP dan diinkubasi pada suhu 37^{o}C selama 40 menit
- Preparat dicuci kembali dengan menggunakan PBS selama 5 menit (2x)
- Preparat dicuci menggunakan aquades 5 menit (1x)
- Preparat diberikan DAB (3,3- diaminobenzidine) sebanyak 10 mg dalam tris buffer (50 cc) yang dicampur dengan H_2O_2 (50 µL) selama maksimal 40 menit
- Preparat dicuci menggunakan aquades (*stopping point*) selama 5 menit (3x)
- Preparat diwarnai dengan menggunakan pewarnaan Mayer lapang

DIAMATI

DIDOKUMENTAS

Analisa statistik ragam one-way ANOVA dengan uji lanjutan Tukey α=0,05

Lampiran 8: Sertifikat Laik Etik

KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARENCE"

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

Lampiran 9 : Pengenceran dan Perhitungan Volume Obat Anastesi

A. Pengenceran Ketamin 100 mg/mL (10%) menjadi 10 mg/mL (1%)

Rumus :

V1.N1 = V2.N2

Dibuat ketamin konsentrasi 1% sebanyak 10 mL

$V_{10\%}$. 100 mg/mL = 10 mL . 10 mg/Ml

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

$V_{10\%}$ = 1 mL

Dicampurkan :

1 mL ketamin 10% + 9 mL aqua pro inj = 10 mL

B. Volume Ketamin yang Diinjeksi

Rata-rata berat tikus = 150 g = 0.15 kg

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

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

V = 0.45 mL/ekor tikus

C. Volume Xylazin yang Diinjeksi

Konsentrasi xylazin = 20 mg/ml

Rata-rata berat tikus = 150 g = 0.15 kg

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

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

V = 0.0225 mL/ekor tikus

D. Campuran Ketamin dan Xylazin

Ketamin + Xylazin = 0.45 mL + 0.0225 mL

= 0.4725 mL

Lampiran 10: Data Uji Statistika Ekspresi TGF-β

Uji Normalitas Data

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		TGF
N		9
Normal Parameters[a,b]	Mean	46,7267
	Std. Deviation	18,15926
Most Extreme Differences	Absolute	,179
	Positive	,170
	Negative	-,179
Test Statistic		,179
Asymp. Sig. (2-tailed)		,200[c,d]

a. Test distribution is Normal.

Hasil pengujian normalitas menunjukkan nilai signifikansi (*p*) sebesar 0,2. 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

TGF

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,124	2	6	,886

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

TGF

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2594,007	2	1297,003	176,611	,000
Within Groups	44,063	6	7,344		
Total	2638,070	8			

Uji Statistik ANOVA

Deskriptif

Descriptives

TGF

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K(-)	3	26,5600	2,38000	1,37409	20,6478	32,4722	24,18	28,94
P1	3	45,5267	2,67644	1,54524	38,8780	52,1753	42,56	47,76
P2	3	68,0933	3,03377	1,75155	60,5570	75,6296	65,24	71,28
Total	9	46,7267	18,15926	6,05309	32,7682	60,6851	24,18	71,28

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

Uji Tukey

TGF

Tukey HSD[a]

PERLAKUAN	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
K(-)	3	26,5600		
P1	3		45,5267	
P2	3			68,0933
Sig.		1,000	1,000	1,000

Lampiran 11: Perhitungan Presentase Peningkatan antar Perlakuan

Peningkatan terhadap kelompok perlakuan K- (Kontrol Negatif)

-Kelompok Perlakuan 1

$$\frac{Rataan\ P1 - Rataan\ K(-)}{Rataan\ P1} \times 100\%$$

$$\frac{45.52 - 26.56}{45.52} \times 100\%$$

= 41,65 %

-Kelompok Perlakuan 2

$$\frac{Rataan\ P2 - Rataan\ K(-)}{Rataan\ P2} \times 100\%$$

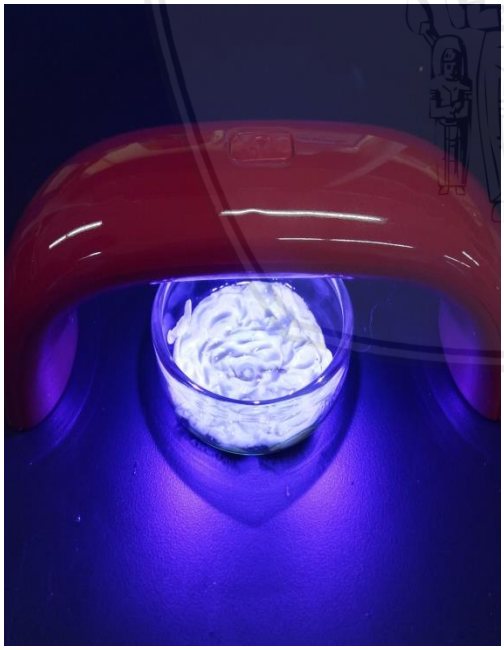
$$\frac{68.09 - 26.56}{68.09} \times 100\%$$

= 60,99 %

Lampiran 12 : Dokumentasi Kegiatan

Pengambilan buah nangka

Getah yang dikoleksi dimasukkan ke dalam pot sampel

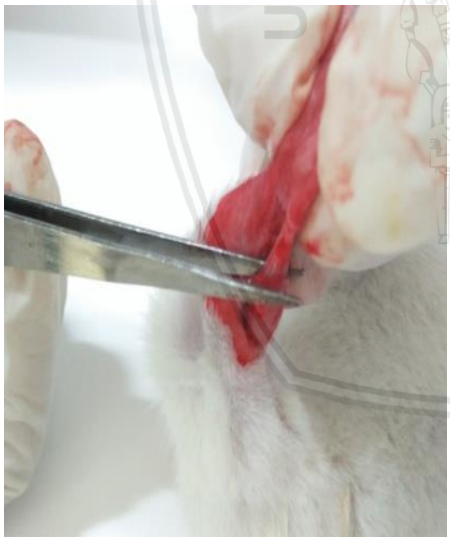


Sterilisasi getah nangka dengan UV

Getah nangka yang dipanaskan diatas kompor elektrik

Injeksi anestesi secara IM

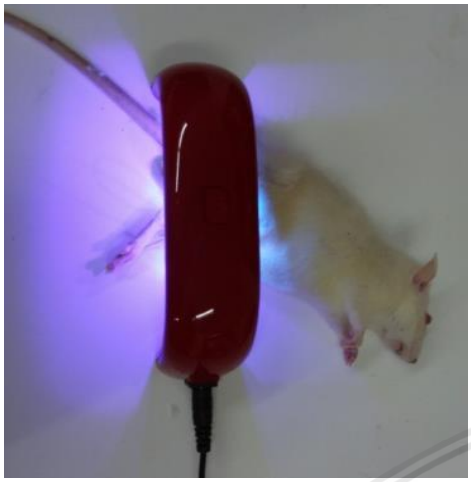
Insisi kulit untuk mengekspos tendon



Dilakukan perobekkan pada tendon

Pemberian lem getah nangka

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

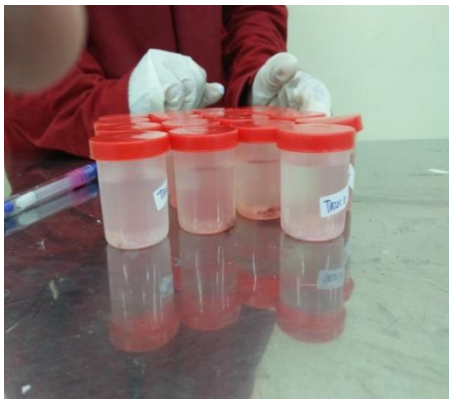


Pemberian sinar UV

Penutupan kulit dengan dijahit

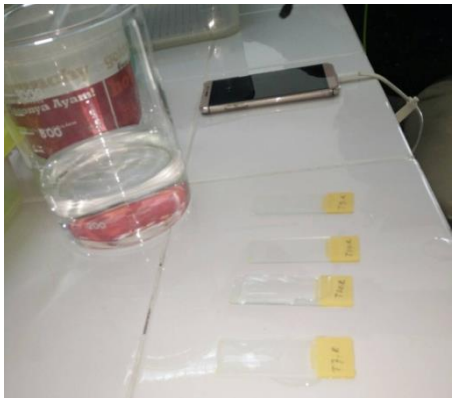
Pengkoleksian tendon tikus

Tendon tikus yang telah dikoleksi



Jaringan tendon dimasukkan pot sampel untuk proses pembuatan blok organ

Proses deparafinisasi dan rehidrasi



Pecucian preparat dengan PBS

Antibodi sekunder merk Scytek

SAHRP merk Scytek

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

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
Ka. UPT Laboratorium PIM

ATIK DINA 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

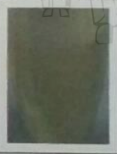
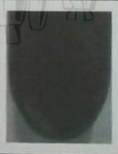
Nama	NIM	Fakultas
Aulia Dyasti Maurenda	155130107111047	Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya
Akhmad Rifky Tri B.	155130100111057	
Silvira Tri Purnama	155130101111076	
Aditya Fernando	155130101111080	

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 (*Artocarpus heterophyllus*)			

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

Demikian disampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 22 Januari 2019
Kepala UPT Materia Medica Batu

Dr. Hasmi RM, Drs., Apt., MKes.
NIP.19611102 199103 1 003