

**PENGARUH APLIKASI BENANG POLY GLYCOLIC ACID
(PGA) YANG DILAPISI MADU TERHADAP KESEMBUHAN
LUKA INSISI PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
BERDASARKAN EKSPRESI *TUMOR NECROSIS
FACTOR ALPHA* (TNF- α) DAN
HISTOPATOLOGI KULIT**

SKRIPSI

Oleh:

NURIKA YULI PURWANTI

165130101111063



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2020

**PENGARUH APLIKASI BENANG POLY GLYCOLIC ACID
(PGA) YANG DILAPISI MADU TERHADAP KESEMBUHAN
LUKA INSISI PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
BERDASARKAN EKSPRESI *TUMOR NECROSIS*
FACTOR ALPHA (TNF- α) DAN
HISTOPATOLOGI KULIT**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:

NURIKA YULI PURWANTI

165130101111063



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2020



LEMBAR PENGESAHANSKRIPSI

**PENGARUH APLIKASI BENANG POLY GLYCOLIC ACID (PGA) YANG
DILAPISI MADU TERHADAP KESEMBUHAN LUKA INSISI
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) BERDASARKAN
EKSPRESI TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA
(TNF- α) DAN HISTOPATOLOGI KULIT**

Oleh:

NURIKA YULI PURWANTI

165130101111063

Pembimbing I

drh. Fajar Shodiq Permata, M. Biotech

NIP. 198705012015041001

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Brawijaya

Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M. App. Sc

NIP. 19631216 198803 1 002

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nurika Yuli Purwanti

NIM : 165130101111063

Program Studi : Kedokteran Hewan

Penulisan Skripsi berjudul:

Pengaruh Aplikasi Benang Poly Glycolic Acid (PGA) yang Dilapisi Madu Terhadap Kesembuhan Luka Insisi Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Berdasarkan Ekspresi *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) dan Histopatologi Kulit

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 dijiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Februari 2020
Yang menyatakan,

(Nurika Yuli Purwanti)
NIM. 165130101111063

Pengaruh Aplikasi Benang Poly Glycolic Acid (PGA) yang Dilapisi Madu Terhadap Kesembuhan Luka Insisi Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Berdasarkan Ekspresi Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) dan Histopatologi Kulit

ABSTRAK

Luka insisi merupakan jenis luka terbuka yang disebabkan irisan dari benda tajam dengan kedalaman tertentu. PGA adalah benang yang sering digunakan saat operasi karena mampu diserap oleh tubuh (*absorbable*) yang dapat dikombinasikan dengan madu. Kandungan flavonoid, saponin, dan glukosa madu dapat mempercepat penyembuhan luka. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh aplikasi benang PGA yang dilapisi madu terhadap luka insisi. Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah 30 ekor tikus putih jantan, *Wistar*, berat 150-200 gram. Benang yang dilapisi madu dilakukan dengan proses *freez drying*. Penelitian ini menggunakan 6 kelompok ($n=30$). Kelompok kontrol negatif tanpa perlakuan. Kelompok kontrol diinsisi dan dijahit menggunakan benang PGA + anti bacterial. Kelompok P1 diinsisi dan dijahit menggunakan benang PGA non madu. Kelompok P2, P3, dan P4 diinsisi dan dijahit menggunakan benang PGA *coated* madu dengan konsentrasi 2%, 4%, dan 8%. Parameter yang digunakan adalah ekspresi TNF- α dengan pewarnaan Imunohistokimia (IHK) dan gambaran histopatologi kulit dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE). Hasil data histopatologi kulit dianalisis secara deskriptif. Analisis data ekspresi TNF- α kulit dengan uji *one way ANOVA* dengan uji lanjutan *Tukey* ($\alpha = 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan benang bedah PGA *coated* madu mampu mempercepat kesembuhan luka dilihat dari gambaran histopatologi kulit yang sudah memasuki tahap proliferasi dan *remodelling* dan mampu menurunkan kadar TNF- α di area luka. Hal tersebut karena kandungan madu seperti, flavonoid sebagai antiinflamasi, saponin mempercepat *angiogenesis* dan glukosa sebagai antibakteri serta sebagai nutrisi. Kesimpulan dari penelitian ini adalah aplikasi benang bedah PGA *coated* madu dengan konsentrasi madu 2% dapat mempercepat proses kesembuhan luka.

Kata kunci: Kulit, Luka Insisi, Benang *Poly Glycolic Acid* (PGA), Madu, TNF- α , dan histopatologi kulit

Influences application of Poly Glycolic Acid (PGA) coated honey against the cure of incision wounds in white rats (*Rattus norvegicus*) based on Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) and histopathology of skin

ABSTRACT

An incision wound is the type of open wound caused by slices of sharp objects at a certain depth. PGA is a thread that is often used during surgery because it is able to be absorbed by the body (absorbable). PGA threads can be combined with natural ingredients with a simple manufacturing process. Honey is one of the herbs that can be combined with PGA. The content of flavonoids, anti bacterial, and various other content on honey can accelerate wound healing. This research was conducted to determine the influence of PGA application which coated honey against incision wound. The trial animals used in this study were 30 white rat tails (*Rattus norvegicus*) males, Wistar, 150-200 grams. The manufacture of suture by lining the suture with honey concentration, then in Freez drying. The study used the complete was divided into 6 groups (n=30). The negative control group is that was not incised. The positive control group is a group given the incision and stitched using the PGA + anti bacterial. The P1 group is a group that is given an incision and stitched using PGA non-honey. Group P2, P2, and P3 is a group that given the incision and stitched using PGA coated Honey 2%, 4%, and 8%. The parameters used are the expression TNF- α with immunohypotenchemical (IHK) staining and an overview of skin histopathology with the staining of Hematoxylin Eosin (HE). Analysis of the expression data TNF- α skin with the test one way ANOVA with advanced test Tukey ($\alpha = 0.05$). Analysis of histopathology data is analyzed descriptively. The results showed that the coated PGA surgical suture was able to accelerate wound healing seen from the histopathological picture of the skin which had entered the proliferation and remodeling stages and was able to reduce TNF- α levels in the wound area. That is because the content of honey such as, flavonoids as anti-inflammatory, saponins accelerate angiogenesis and glucose as antibacterial and as nutrients. The conclusion of this study is the application of honey coated PGA surgical sutures with a honey concentration of 2% can accelerate the wound healing process

Keywords: skin, incision wounds, Poly Glycolic Acid (PGA), honey, TNF- α , and histopathology of skin.

DAFTAR ISI

JUDUL **ii**

LEMBAR PENGESAHAN **iii**

LEMBAR PERNYATAAN **iv**

ABSTRAK **v**

ABSTRACT **vi**

KATA PENGANTAR..... **vii**

DAFTAR ISI..... **ix**

DAFTAR TABEL **xi**

DAFTAR GAMBAR..... **xii**

DAFTAR LAMPIRAN **xiii**

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG **xiv**

BAB I PENDAHULUAN **1**

 1.1. Latar Belakang 1

 1.2. Rumusan Masalah 2

 1.3. Batasan Masalah 3

 1.4. Tujuan Penelitian 4

 1.5. Manfaat Penelitian 4

BAB II TINJAUAN PUSTAKA **5**

 2.1. Kulit 5

 2.2. Luka 8

 2.3. Proses Penyembuhan Luka 9

 2.3. 1. Fase Inflamasi 10

 2.3. 2. Fase Proliferasi 12

 2.3. 3. Fase Pematangan (*Remodelling*) 13

 2.4. *Tumor Necrosis Factor-Alpha* (TNF- α) 14

 2.5. *Poly Glicolic Acid* (PGA) 16

 2.6. Madu 17

 2.7. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) 18

BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN **20**

 3.1. Kerangka Konseptual 20

3.2. Hipotesa Penelitian	22
BAB IV METODE PENELITIAN	24
4.1. Tempat dan Waktu Penelitian	24
4.2. Alat dan Bahan Penelitian	25
4.3. Rancangan Penelitian	26
4.4. Variabel Penelitian	27
4.5. Tahapan Penelitian	28
4.5.1. Persiapan Hewan Coba	28
4.5.2. Pembuatan Benang	28
4.5.3. Pembuatan Luka Insisi Pada Hewan Coba	29
4.5.4. Preparasi Kulit Untuk Pembuatan Preparat Histopatologi	30
4.5.5. Pembuatan dan Pembacaan Preparat Histopatologi Kulit dengan Pewarnaan <i>Hematoxylin Eosin</i> (HE)	30
4.5.6. Pembuatan dan Perhitungan Ekspresi TNF- α dengan Pewarnaan Imunohistokimia (IHK)	34
4.6. Analisa Data	35
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	36
5.1. Hasil Analisa Uji SEM Benang Bedah <i>Coated</i> Madu dengan Metode <i>Freez Drying</i>	36
5.2. Pengaruh Aplikasi Benang Bedah PGA <i>Coated</i> Madu Terhadap Luka Insisi Berdasarkan <i>Tumor Necrosis Factor – Alpha</i> (TNF- α) pada Kulit Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	38
5.3. Pengaruh Aplikasi Benang Bedah PGA <i>Coated</i> Madu Terhadap Luka Insisi Berdasarkan Gambar Histopatologi Kulit Pada Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	46
BAB VI KESIMPULA DAN SARAN	65
6.1. Kesimpulan	65
6.2. Saran	65
DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN	71



DAFTAR TABEL

4.1. Tabel Perlakuan27

4.2. Tabel Parameter Skoring Kesembuhan Luka pada Luka Insisi33

5.1. Tabel Hasil Uji Tukey Terhadap Ekspresi TNF- α 41

5.3. Tabel Scoring Kesembuhan pada Luka Insisi Berdasarkan Gambaran Histopatologi Kulit Tikus Putih (*rattus norvegicus*)47



DAFTAR GAMBAR

2. 1. Histologi Lapisan Epidermis6

2. 2. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*).....19

5. 1. Hasil Uji SEM Benang Bedah PGA37

5. 2. Ekspresi TNF- α Jaringan Kulit Tikus dengan Metode IHK39

5. 3. Grafik Ekspresi TNF- α pada Setiap Kelompok Perlakuan42

5. 4. Grafik Scoring Kesembuhan Luka Incisi Berdasarkan Gambaran Histopatologi Kulit Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)47

5. 5. Histopatologi Kulit Kelompok Kontrol Negatif (K-)49

5. 6. Histopatologi Kulit Kelompok Kontrol Positif (K+)50

5. 7. Histopatologi Kulit Kelompok Benang PGA tanpa Madu (P1)51

5. 8. Histopatologi Kulit Kelompok Benang PGA *coated* Madu 2% (P2)52

5. 9. Histopatologi Kulit Kelompok Benang PGA *coated* Madu 4% (P3)53

5. 10. Histopatologi Kulit Kelompok benang PGA *coated* Madu 8% (P4)54



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Sertifikasi <i>ethical clearance</i> penelitian	72
Lampiran 2. Hasil pengujian analisa kualitatif madu.....	73
Lampiran 3. Alur Penelitian dan Skema Perlakuan	76
Lampiran 4. Perhitungan Dosis <i>Coating</i> Benang dengan Madu Hitam.....	78
Lampiran 5. Dosis Albendazole, Ketamine, Xylazine, dan Amoksisilin pada Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	80
Lampiran 6. Foto Perlakuan Penelitian	81
Lampiran 7. Foto Proses Pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE)	82
Lampiran 8. Foto Proses Pewarnaan Immunohistokimia (IHK)	83
Lampiran 9. Hasil Uji Statistik dengan <i>One Way ANOVA</i> Ekspresi TNF- α	84
Lampiran 10. Hasil Scoring dan Pengamatan Histopatologi pada Kulit	86



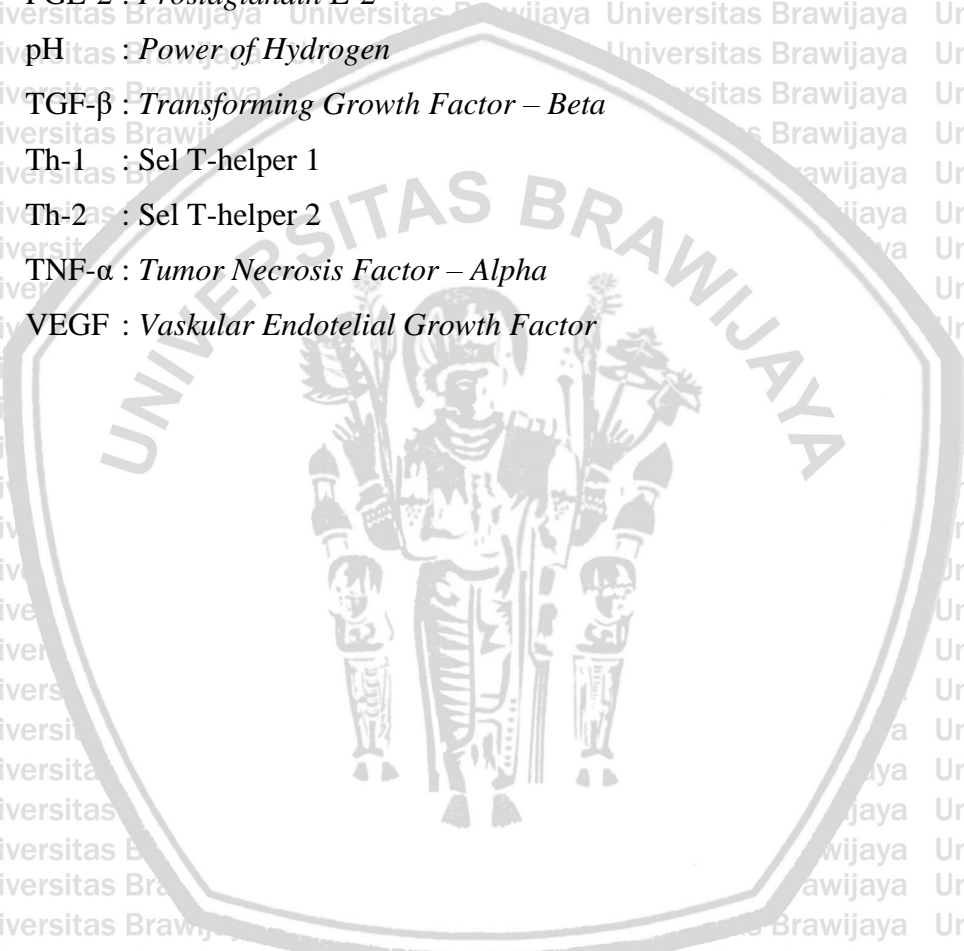


DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

- α : Alfa
- β : Beta
- γ : Gamma
- % : Persen
- °C : Derajat Celcius
- BB : Berat Badan
- cm : Centimeter
- DAB : *Diamano Benzidine*
- EGF : *Epidermal Growth Factor*
- HE : *Hematoxylin - Eosin*
- IFN-γ : *Interferon – Gamma*
- IGF-1 : *Insuline-like Growth Factor-1*
- IHK : *Imunohistokimia*
- IL-1 : *Interleukin-1*
- IL-10 : *Interleukin-10*
- IL-13 : *Interleukin-13*
- IL-1β : *Interleukin – 1 Beta*
- IL-4 : *Interleukin-4*
- IL-6 : *Interleukin-6*
- Kg : *Kilogram*
- M2 : *Makrofag Efersitosis*
- MCP-1 : *Monocyte Chemoattractant Protein – 1*
- mg : *Milligram*
- ml : *Milliliter*
- mm : *Millimeter*
- MMP : *Matrix Metalloproteinase*
- NK : *Natural Killer*



- NS : *Normal Saline*
- PBS : *Phospat Buffer Saline*
- PDGF : *Platelet Derived Growth Factor*
- PGA : *Poly Glicolic Acid*
- PGE-2 : *Prostaglandin E-2*
- pH : *Power of Hydrogen*
- TGF- β : *Transforming Growth Factor – Beta*
- Th-1 : *Sel T-helper 1*
- Th-2 : *Sel T-helper 2*
- TNF- α : *Tumor Necrosis Factor – Alpha*
- VEGF : *Vaskular Endotelial Growth Factor*



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dalam dunia kedokteran hewan, luka pada kulit, subkutis, dan otot dibawahnya merupakan cedera paling umum yang dirawat oleh dokter hewan (Pavletic, 2018). Luka merupakan suatu kondisi adanya kerusakan pada struktur jaringan kulit akibat kontak fisik, perubahan fisiologis tubuh maupun hasil tindakan medis, sehingga menyebabkan adanya kerusakan pada susunan anatomi dan fisiologis tubuh (Wibowo, 2017). Luka insisi adalah teknik dasar dalam memulai suatu tindakan operasi. Luka insisi merupakan jenis luka terbuka yang disebabkan irisan dari suatu benda tajam pada kedalaman tertentu (Sabilarrusydi, 2014).

Setiap terjadi luka, tubuh akan merespon proses penyembuhan luka dengan cara mengembalikan komponen jaringan yang rusak dan membentuk komponen yang baru dengan fungsi yang sama. Luka akan mengalami inflamasi dengan munculnya sel neutrofil dan makrofag ke sekitar luka. Neutrofil akan melepaskan TNF- α sebagai sitokin pro-inflamasi, mediator ini sangat dibutuhkan pada penyembuhan luka untuk memicu penyembuhan sel, diferensiasi dan mengawali pemulihan jaringan yang rusak (Primadina, 2019).

Kesembuhan luka pasca operasi dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah benang operasi yang digunakan (Sitorus, 2018). Jenis benang yang sering digunakan saat operasi bersifat dapat diserap oleh tubuh (*absorbable*) seperti benang *Poly Glycolic Acid* (PGA) (Kencana, 2016). Namun, kelemahan benang

absorbable memberikan efek inflamasi pada pasien. Material *glycolic acid* bersifat meregenerasi kulit sehingga mempercepat penyembuhan luka. Benang PGA dapat dikombinasikan dengan bahan alami sehingga meningkatkan fungsi dari benang PGA dengan proses pembuatan yang sederhana (Erlinawati, 2016).

Madu sejak jaman dahulu digunakan oleh masyarakat Indonesia untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit, salah satunya dalam penyembuhan luka. Efektivitas madu dalam membantu mempercepat penyembuhan luka karena mengandung flavonoid, antiviral, dan berbagai macam enzim lainnya (Zakariya, 2009). Kandungan flavonoid yang tinggi pada madu dapat menghambat siklooksigenase atau lipooksigenase dan menghambat akumulasi leukosit di daerah radang, sehingga dapat menjadi antiinflamasi (Ramadhani, 2016).

Berdasarkan khasiat dari kandungan madu terhadap proses mempercepat penyembuhan luka, maka dibuat suatu penelitian mengenai membuat benang bedah dengan dilapisi madu kemudian mengamati reaksinya terhadap ekspresi *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) dan Histopatologi Kulit dengan luka insisi pada tikus putih (*rattus norvegicus*).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, rumusan masalah yang dapat diambil adalah:

1. Bagaimana pengaruh dari aplikasi benang PGA yang diperkaya madu terhadap ekspresi *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) terhadap kesembuhan luka insisi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*)?

2. Bagaimana pengaruh dari aplikasi benang bedah PGA yang diperkaya madu berdasarkan gambaran histopatologi kulit terhadap luka insisi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*)?

1.3 Batasan Masalah

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

1. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) wistar jantan dengan berat badan 150-200 gram sebanyak 30 ekor. Penggunaan hewan coba sudah mendapatkan laik etik oleh komite etik Universitas Brawijaya No. 276/EC/KEPK/10/2019.
2. Benang yang digunakan berbahan *Poly Glicolic Acid* (PGA) yang dilapisi madu dengan konsentrasi 2%, 4%, dan 8%.
3. Madu yang digunakan adalah madu hitam yang diperoleh langsung dari peternakan madu Eco Green Park yang sudah diuji fitokimia di UPT. Materia Medica kota Batu.
4. Proses insisi pada hewan model dilakukan padabagian kulit bagian dorsal dengan ukuran 1,5 cm
5. Anastesi yang digunakan pada proses incise tikus menggunakan Ketamin dosis 75 mg/KgBB, konsentrasi 100 mg/ml dan Xylazine dosis 5 mg/KgBB, konsentrasi 20 mg/ml.

6. Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah dengan mengamati ekspresi *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) metode imunohistokimia dan histopatologi dengan pewarnaan HE pada kulit.

7. Hasil dianalisis ekspresi TNF- α kulit dengan metode *one way ANOVA* dilanjutkan dengan uji *Tukey* $\alpha = 0,05$.

8. Analisis data histopatologi dianalisis secara deskriptif dengan melihat perbedaan lapisan kulit dari setiap kelompok perlakuan.

1.4 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh dari aplikasi benang bedah PGA yang diperkaya madu terhadap ekspresi *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) terhadap kesembuhan luka insisi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*)
2. Mengetahui pengaruh dari aplikasi benang bedah PGA yang diperkaya madu pada gambaran histopatologi kulit terhadap luka insisi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*)

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh aplikasi benang bedah *Polyglycolic Acid* (PGA) terhadap kesembuhan luka insisi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) berdasarkan kadar TNF- α dan histopatologi kulit. Pemanfaatan aplikasi benang *Polyglycolic Acid* (PGA) yang dilapisi madu dapat digunakan sebagai terapi alternatif pada penyembuhan luka insisi yang bersifat mempercepat regenerasi sel sehingga efek samping dari penggunaan obat kimia dapat dikurangi.

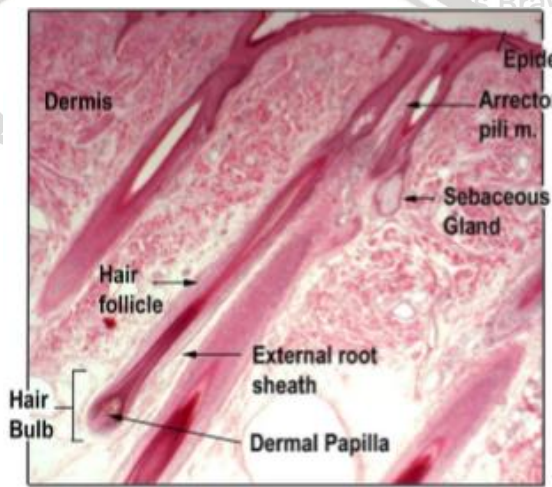
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kulit

Kulit adalah lapisan pembungkus terluar yang menutupi permukaan tubuh dan memiliki fungsi utama sebagai pelindung pertama dari berbagai macam gangguan, dan rangsangan dari lingkungan luar seperti bakteri, virus, dan bahan yang bersifat racun lainnya (Chumairoh, 2010). Kulit terdiri dari dua lapisan utama, yaitu epidermis dan dermis dimana akan membentuk membran yang sangat erat dan melekat di bagian atas dari lapisan jaringan ikat longgar yaitu lapisan subkutan. Lapisan subkutan atau jaringan lemak terletak dibawah dermis yang mempunyai banyak lemak dan akan menghubungkan kulit dengan struktur yang lebih dalam (Qomariah, 2014).

Lapisan epidermis merupakan lapisan terluar kulit yang tipis, bersifat dinamis, selalu beregenerasi, dan merespon rangsangan dari luar dan dari dalam tubuh. Epidermis memiliki beberapa fungsi, diantaranya lapisan epidermis memberikan warna pada kulit oleh pigmen kulit melanin oleh *melanocyt*, melindungi dari masuknya bakteri dan toksin, sebagai keseimbangan cairan dan menghindari pengeluaran cairan yang berlebihan. Lapisan epidermis juga berperan dalam proses penyembuhan luka dengan membentuk selaput yang tersusun atas sel-sel mati, lapisan tanduk (*stratum corneum*) yang berisi protein keratin dan campuran lipid kompleks (Qomariah, 2014).

Penyusun utama dari epidermis adalah keratinosit dengan epitel *squamus simpleks*. Terdapat kelenjar sebaceous dan melanosit diantara keratinosit, terkadang juga terdapat sel markel dan limfosit. Keratinosit tersusun atas beberapa lapisan yaitu *stratum corneum*, *stratum lucidum*, *stratum granulosum*, *stratum spinosum*, dan *stratum germinativum* (basalis) (R. Lubis, 2017).



Gambar 2. 1. Histologi lapisan kulit normal (Chumairoh, 2010).

a. Stratum Corneum

Tersusun dari sel-sel tanduk pipih tanpa inti dengan sitoplasma terisi oleh skleroprotein filamentosa dan keratin. Terbentuk dari proses keratinisasi epidermal yang normal (Chumairoh, 2010).

b. Stratum Granulosum

Merupakan stratum yang tersusun dari sel pipih yang mengandung banyak granula basofilik yang disebut dengan *granula keratohyalin*. *Granula*



keratohyalin memiliki intrasitoplasma berbentuk bulat dengan bentuk yang berbeda-beda dan berwarna merah muda (Chumairoh, 2010).

c. Stratum Spinosum

Tersusun atas sel-sel kuboid, poligonal, atau sedikit gepeng dengan inti jelas berada di tengah dan terdapat tonjolan-tonjolan di sitoplasma yang berisi berkas-berkas filament. Semakin ke atas, sel semakin pipih. Penyatuan antara *stratum spinosum* dan *stratum basale* disebut dengan malfigi (Chumairoh, 2010).

d. Stratum Geminativum (balase)

Merupakan lapisan epidermis yang paling dalam, terletak pada perbatasan dermis-epidermis dan sebagai pemisah antara dermis dan epidermis. *Stratum basale* tersusun atas satu lapis sel yang tersusun berderet dan melekat pada lapisan dermis (Chumairoh, 2010).

Lapisan dermis merupakan jaringan di bawah epidermis yang dibatasi oleh lamina basalis, berisi jaringan ikat tempat melekatnya epidermis dan lapisan subkutan yang berisi lemak dengan batas yang tidak jelas (Qomariah, 2014). Lapisan dermis berisi banyak pembuluh darah, saraf, endotel, sel radang, kelenjar, folikel rambut, serabut kolagen dan elastin yang dihasilkan oleh fibroblast sehingga memberikan kekuatan dan kekenyalan pada kulit.

Kolagen merupakan komponen penting dari dermis, yang berfungsi dalam menentukan kulit terlihat muda, atau tua, kulit licin atau berkerut. *Mast cells* merupakan sel lain yang terdapat di dalam dermis (Chumairoh, 2010).

Lapisan dermis berfungsi sebagai struktur penunjang, faktor pertumbuhan, pemberi nutrisi, perbaikan kulit, keseimbangan cairan melalui aliran darah di kulit, dan termoregulasi (R. Lubis, 2017).

2.2. Luka

Luka merupakan suatu kondisi adanya kerusakan pada struktur jaringan kulit akibat kontak fisik, perubahan fisiologis tubuh maupun hasil tindakan medis, sehingga menyebabkan adanya kerusakan pada susunan anatomi dan fisiologis tubuh (Wibowo, 2017). Secara umum, luka pada hewan disebabkan oleh beberapa faktor seperti, luka cakar dan gigitan hewan lain, trauma dan akibat benda tajam.

Menurut Zulfa (2008), luka merupakan rusaknya kesatuan jaringan, dimana terdapat adanya substansi jaringan yang hilang atau rusak secara spesifik. Luka dibagi menjadi luka yang disengaja dan luka yang tidak disengaja. Luka tidak disengaja terjadi secara kebetulan (*accidental*) akibat trauma dan gigitan hewan lain, sedangkan luka yang disengaja bertujuan untuk terapi, misalnya luka insisi, prosedur operasi, dan pungsi vena. Berdasarkan penyebabnya, luka dibedakan menjadi luka terbuka dan luka tertutup. Sedangkan berdasarkan mekanisme terjadinya, luka dibedakan menjadi 7, yaitu luka insisi, luka bakar, luka tusuk, luka memar, luka lecet, luka robek, dan luka tembus (Nugraha, 2016).

Luka insisi merupakan jenis luka terbuka pada kedalaman tertentu dengan menggunakan *blade* atau benda tajam. Luka insisi dapat terjadi karena disengaja (luka operasi) atau tidak disengaja (luka eksidental) akibat benda tajam. Luka

insisi umumnya menjadi teknik dasar dalam memulai suatu tindakan operasi. (Sabilarussydi, 2014).

2.3. Proses Penyembuhan Luka

Proses penyembuhan luka merupakan proses yang kompleks karena berbagai kegiatan bioseluler dan biokimia yang terjadi secara berkesinambungan. Apabila terjadi luka, tubuh akan memberikan respon untuk memperbaiki kerusakan tersebut dengan membentuk susunan komponen baru yang memiliki fungsi yang sama dengan kondisi normalnya (Liana, 2015).

Proses penyembuhan luka sayat (insisi) disebut penyembuhan primer dengan pembentukan jaringan parut yang minimal. Tahapan penyembuhan primer diawali dengan adanya bekuan darah yang akan membentuk fibrin sehingga mampu merekatkan area tepi luka. Sel-sel radang kemudian akan berinfiltrasi ke area luka dan memasuki tahap peradangan akut. Makrofag merupakan salah satu sel radang yang berperan aktif, dengan masuk ke dalam bekuan darah dan menghancurkannya. Jaringan granulasi akan mulai tumbuh untuk menjembatani luka di akhir fase peradangan. Epitel permukaan di bagian tepi luka akan beregenerasi dan bermigrasi di atas permukaan luka. Seiring jaringan ikat yang bertambah matang, epitel juga akan menebal dan matang, sehingga menyerupai kulit di dekatnya. Hasilnya akan terbentuk jaringan parut pada satu garis yang menebal (Wahyuni, 2016).

Menurut Syailindra (2017), proses penyembuhan luka di bagi menjadi 3 fase, yaitu inflamasi, proliferasi, dan maturasi (*remodeling*).

2.3.1. Fase Inflamasi

Fase inflamasi terbagi dua, yaitu fase inflamasi awal (haemostatis) dan fase inflamasi akhir. Pada saat terjadi luka, pembuluh darah akan terputus dan menyebabkan pendarahan. Reaksi tubuh pertama kali adalah mengaktifkan faktor koagulasi intrinsik dan ekstrinsik berupa agregasi platelet dan vasokonstriksi pembuluh darah, pengerutan ujung pembuluh darah yang putus (retraksi) dan reaksi hemostatis untuk menghentikan pendarahan dan mengurangi paparan luka terhadap bakteri. Haemostatis terjadi akibat darah yang keluar dari kulit yang terluka akan mengalami kontak dengan kolagen dan matriks ekstraseluler yang akan memicu pengeluaran platelet (trombosit) (Primadina, 2019). Pada saat bersamaan, jaringan fibrosa akan dibentuk oleh protein bertujuan untuk menutup luka. Trombosit bersama dengan protein menutup luka, menyebabkan luka menjadi lengket dan lembab, kemudian lapisan fibrin terbentuk pada bagian permukaan luka (wahyuni, 2016).

Luka kemudian mengalami vasodilatasi akibat serotonin yang dihasilkan trombosit. Plasma darah mengalir keluar dari endotel dan melawan toksin dari antigen atau mikroorganisme, membawa oksigen dan nutrisi yang di butuhkan untuk proses penyembuhan luka, serta membawa agen fagosit untuk melawan bakteri atau jaringan yang rusak. (Wahyuni, 2016). Leukosit akan bermigrasi menuju daerah luka. Leukosit dan trombosit migrasi ke daerah luka juga dipicu oleh aktivasi *associated*

kinasemembrane yang juga merangsang migrasi sel tersebut menuju matriks provisional yang mulai terbentuk. Setelah sampai di matriks provisional, trombosit mengalami degranulasi, mengeluarkan sitokin-sitokin untuk mensekresi faktor-faktor inflamasi dan melepaskan berbagai faktor pertumbuhan yang potensial seperti *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β), *Interleukin-1* (IL-1), *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF), *Epidermal Growth Factor* (EGF), *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1), dan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), sitokin dan kemokin. Mediator ini sangat dibutuhkan pada proses penyembuhan luka untuk mempercepat penyembuhan sel, mengawali pemulihan jaringan yang rusak, dan diferensiasi jaringan. Selain itu juga mengaktifkan jalur yang menstimulasi neutrofil migrasi ke daerah luka dan memulai fase inflamasi (Primadina, 2019).

Menurut Primadina (2019), fase inflamasi dimulai saat setelah luka terjadi sampai pada hari ke-5. Neutrofil, limfosit dan makrofag merupakan sel yang mencapai daerah luka pertama kali. Fase inflamasi berfungsi untuk menyingkirkan jaringan yang mati, mencegah kolonisasi bakteri atau infeksi mikroorganisme. Setelah fase haemostatis, sel radang akut dan neutrofil akan menginvasi daerah radang dan menghancurkan debris sel dan bakteri. Proses inflamasi dimulai dengan adanya neutrofil yang ditandai dengan *cardinal symptoms*, yaitu tumor, calor, rubor, dolor dan *functio laesa*.

Leukosit yang muncul pertama adalah neutrofil, yaitu pada 24-36 jam pertama. Neutrofil mensekresi sitokin pro inflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , IL-6 juga mengeluarkan protease untuk mendegradasi matriks ekstraseluler yang tersisa. Setelah melaksanakan fungsi fagositosis, neutrofil akan difagositosis oleh makrofag atau mati. Neutrofil yang terlalu lama di dalam luka dapat menyebabkan perubahan luka akut menjadi kronis (Primadina, 2019). Monosit akan muncul pada hari ke tiga luka dan berdiferensiasi menjadi makrofag. Makrofag masuk ke dalam luka melalui monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) yang berfungsi dalam fagositosis bakteri dan jaringan mati. Selanjutnya, makrofag akan berubah menjadi makrofag eferositosis (M2) yang mensekresi sitokin anti inflamasi seperti IL-4, IL-10, IL13 (Primadina, 2019).

2.3.2. Fase Proliferasi

Fase proliferasi disebut juga fibroblasi karena peran dari fibroblast yang sangat menonjol pada fase ini. Fase proliferasi berlangsung pada hari ke-3 hingga 14 pasca trauma. Fibroblast akan mengalami proliferasi dan menyintesis kolagen menyebabkan bertautnya antar tepi luka oleh serat kolagen, sehingga luka tampak merah segar dan mengkilap (Syailindra, 2017). Fase proliferasi berfungsi untuk membentuk keseimbangan antara pembentukan jaringan parut dan regenerasi jaringan (Primadina, 2019).

Pada fase proliferasi, mulai terjadi granulasi, kontraksi luka, dan epitelisasi pada 48 jam pertama pasca trauma. Kreatinosit di sekitar luka akan mengalami perubahan fenotip. Hubungan antarkretinosit di membrane basalis menyebabkan sel kretanin bermigrasi kearah lateral. Kreatinosit bermigrasi melalui interaksi dengan protein ekstraseluler (fibronectin, kolagen tipe I, dan vitronectin). Faktor proangiogenik akan dilepaskan oleh makrofag membentuk *vascular endothelial growth factor* (VEGF) sehingga terjadipembentukan jaringan granulasi dan neovaskularisasi (Wahyuni, 2016). Jaringan granulasi terdiri dari fibroblast, sel inflamasi, pembuluh darah baru, fibronektin, endotel, kolagen, dan asam hialuronat (Syailindra, 2017).

2.3.3. Fase Maturasi (*remodeling*)

Fase maturasi atau fase pematangan, dimulai pada hari ke-21 hingga sekitar 1 tahun. Fase maturasi bertujuan untuk memaksimalkan kekuatan dan integritas struktural dari jaringan baru pengisi luka, pertumbuhan epitel dan pembentukan jaringan parut sebagai jaringan baru. Fase ini ditandai dengan kekuatan dari jaringan parut yang sudah sempurna dan pembentukan kolagen (Wahyuni, 2016).

kolagen tipe I merupakan komponen kolagen terbesar dalam kulit, yaitu sekitar 80% dan 20% lainnya adalah kolagen tipe III yang memungkinkan terjadinya *tensile strength* pada kulit karena kolagen tipe III yang banyak berperan saat fase proliferasi. Diameter serat kolagen

akan meningkat dan pada fase ini kolagen tipe III akan menurun kadarnya secara bertahap secara gradual digantikan oleh kolagen tipe I dengan bantuan *matrix metalloproteinase* (MMP) yang disekresi oleh fibroblas, makrofag & sel endotel. Pada fase ini terjadi keseimbangan antara proses sintesis dan degradasi kolagen serta matriks ekstraseluler. Kolagen yang berlebihan didegradasi oleh enzim kolagenase dan diserap kembali. Sisa kolagen akan mengerut sesuai dengan tegangan yang ada. Hasil akhirnya berupa jaringan parut yang pucat, tipis, dan mudah di gerakkan dari bagian dasarnya (Primadina, 2019).

2.4. *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α)

Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) merupakan sitokin yang bersifat sebagai pirogen. Sitokin adalah protein imun multifungsi yang berperan penting dalam komunikasi antar sel dan mengatur reaksi imunitas tubuh (Carol A., 1997). Sitokin berasal dari makrofag, sel T helper, dan sel *natural Killer* (NK) yang berperan dalam respon tubuh melawan ageinfeksi. Sel T helper terdiri dari dua bagian yang masing-masing akan menghasilkan sitokin sebagai pengatur fungsi imun efektor dan bereaksi satu sama lain. Sel T helper tipe 1 (Th-1) akan menghasilkan IFN- γ , IL-2 dan TNF- α . TNF- α merupakan sitokin yang terlibat dalam inflamasi dan syok septik, IL1 β , dan IL6 adalah sitokin proinflamasi, dan menginduksi aktifitas imun efektor sitotoksik dari makrofag. Sel T helper tipe 2 (Th-2) akan menghasilkan IL-4, IL-5, IL-10 dan IL-13, disebut juga sebagai

sitokin antiinflamasi. Berfungsi sebagai pembentukan antibodi dan menghambat fungsi makrofag (Irawati, 2008).

TNF- α diproduksi oleh makrofag yang akandiaktifkan oleh sel T limfosit, antigen, sel NK, dan sel mast. TNF- α bekerja terhadap endotel dan leukosit, untuk menginduksi inflamasi akut kadar rendah, karena TNF- α merupakan pirogen yang kuat (Saha, 2019). TNF- α biasanya tidak terdeteksi pada individu sehat, tapi akan sering ditemukan pada kondisi inflamasi dan infeksi serum/darah. TNF- α berperan dalam inflamasi sistemik pada sel radang akut atau sedang. TNF- α memberikan efek lokal pada area produksi mereka, namun dapat bersifat sistemik (endokrin) jika diproduksi akut dalam jumlah yang besar (Zhao, 2019).

Meurut Irawati (2008), TNF- α merupakan sitokin preiotropik yang dapat mengatur sejumlah proses fisiologis dan patologis tubuh, seperti peradangan, pengembangan, perbaikan, dan kematian sel. TNF- α dalam kadar rendah, dapat menghambat pertumbuhan stadium dari parasit darah dengan cara mengaktifkan sistem imun seluler, juga mampu membunuh parasit secara langsung namun bersifat lemah. Peran ganda dari sitokin seperti TNF- α pada kadar yang tepat dapat memberikan perlindungan dan penyembuhan pada luka, namun pada kadar yang berlebihan seperti pada hiperparasitemia dan pertumbuhan parasit yang berlebihandapat menyebabkan kerusakan jaringan yang berat.

TNF- α dan IL-6 bersifat pro-inflamasi yang dapat menginduksi demam seperti halnya IL-1, baik secara langsung melalui sintesis PGE2 oleh endotel

vascular dari hypothalamus atau secara tidak langsung dengan menginduksi pelepasan IL-1. TNF- α dapat memberikan efek inflamasi sekunder dengan sintesis IL-6 pada beberapa jenis sel. Sel IL-6 akan memediasi efeknya sendiri beserta dengan TNF- α dan IL-1 dalam menginduksi demam dan respon dari fase akut, sehingga meningkatkan respon inflamasi melalui peningkatan sitokin (Carol A. , 1997). TNF- α berfungsi untuk meningkatkan Polymorphonuklear dan sintesis Mononuclear. Polymorphonuklear akan berdiferensiasi menjadi monosit I kemudian menjadi makrofag dan aktifasi makrofag kembali. Secara bertahap akan digantikan oleh sel fibroblast pada tahap proliferasi untuk keseimbangan pembentukan jaringan parut dan regenerasi jaringan (Primadina, 2019).

2.5. *PolyGlicolic Acid* (PGA)

Kesembuhan luka pasca operasi dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah benang operasi yang digunakan (Sitorus, 2018). Bahan yang digunakan harus memenuhi kriteria memiliki sifat mekanik dan waktu degradasi tertentu. Laju degradasi polimer tergantung pada struktur kimia (fungsionalitas) dan sifat fisiknya (morfologi, sifat termal dan mekanis) (Gokturk, 2017).

Jenis benang yang sering digunakan saat operasi bersifat dapat diserap oleh tubuh (*absorbable*) seperti benang *Poly Glycolic Acid* (PGA) (Kencana, 2016).

PGA merupakan poliester alifatik linier paling sederhana dan memiliki struktur yang sangat kristalin. Memiliki titik didih sekitar 35-40°C dan titik leleh sekitar 224-227°C dengan struktur monofilament dan dikemas menjadi multifilamen. Serat PGA memiliki kekuatan ikatan yang baik, tidak memberikan efek beracun

bagi tubuh, dan memiliki karakteristik daya serap yang tinggi. Benang PGA

dapat diserap sepenuhnya dalam 4-6 bulan pasca operasi (Gokturk, 2017).

PGA diindikasikan untuk digunakan dalam pendekatan jaringan lunak umum termasuk operasi mata, tetapi tidak untuk jaringan kardiovaskular dan neurologis.

Memiliki sifat non-antigenik, nonpyrogenik, dan hanya menimbulkan reaktivitas

jaringan selama proses penyerapan. Penyerapan benang PGA terjadi secara

Hidrolisis, diawali dengan kehilangan kekuatan tarik benang diikuti hilangnya

massa. Benang PGA dapat mempertahankan 70% dari kekuatan awal pasca dua

minggu (Gokturk, 2017).

2.6. Madu

Madu sejak zaman dahulu sudah sering digunakan sebagai terapi penyembuhan berbagai macam penyakit. Madu adalah produk alami dari jenis

lebah *Apis* dan *Meliponinae* yang mengumpulkan nektar dari bunga tumbuh-

tumbuhan yang dikumpulkan dari berbagai tanaman, nektar kemudian diproses

enzimatik secara *in vivo* yang berlangsung di dalam sarang lebah (Nurwahidah,

2018). Madu merupakan salah satu sumber nutrisi bakteri asam laktat dan

pemanis alami. Madu mengandung beberapa jenis gula, diantaranya fruktosa

41%, sukrosa 1,9%, dan glukosa 35%. Madu juga mengandung vitamin B1, B2,

B3, B5, B6, A, D, E, K, dan vitamin C, flavonoid, beta karoten, asam nikotinat,

asam fenolik, dan saponin (Fazriyanti, 2015).

Madu memiliki sifat antibakteri yang dapat membantu mengatasi infeksi pada

luka, sifat antiinflamasi pada madu juga dapat mengurangi nyeri dan

meningkatkan sirkulasi yang berpengaruh pada proses penyembuhan luka (Zakariya, 2009). Flavonoid dalam madu merupakan turunan dari senyawa fenol. Senyawa flavonoid berinteraksi dengan sel bakteri memiliki kecenderungan menghambat aktivitas enzim mikroba sehingga mengganggu proses metabolisme bakteri (Nurwahidah, 2018).

Madu yang diberikan pada daerah luka akan menarik air dari luka dengan kemampuan osmolaritas yang tinggi. Luka akan mudah kering sehingga dapat menurunkan angka pertumbuhan bakteri pada luka dan luka lebih cepat sembuh (Fazriyanti, 2015). Madu memiliki kemampuan osmotik yang dapat menyebabkan bakteri tidak dapat bertahan hidup akibat kadar air yang sedikit. Kandungan hidrogen peroksida pada madu dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan membantu peningkatan sel darah putih. Kandungan saponin sebagai antiinflamasi juga dapat mempercepat pembentukan darah baru dalam proses penyembuhan luka (*angiogenesis*) (Santoso, 2018).

2.7. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Keberadaan hewan model atau hewan coba dibutuhkan untuk menjawab pertanyaan ilmiah melalui penelitian *in vivo* melalui standar atau syarat tertentu yang diperlukan pada suatu penelitian. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan hewan yang umum digunakan sebagai hewan model dalam penelitian yang bersifat biomedis. Tikus putih dianggap dapat mewakili sistem biologis mammal (manusia), sehingga dijadikan sebagai hewan coba dalam kajian penelitian yang bersifat praklinik (Fitria, 2015).



Gambar 2. 2 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Fitria, 2015).

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut :

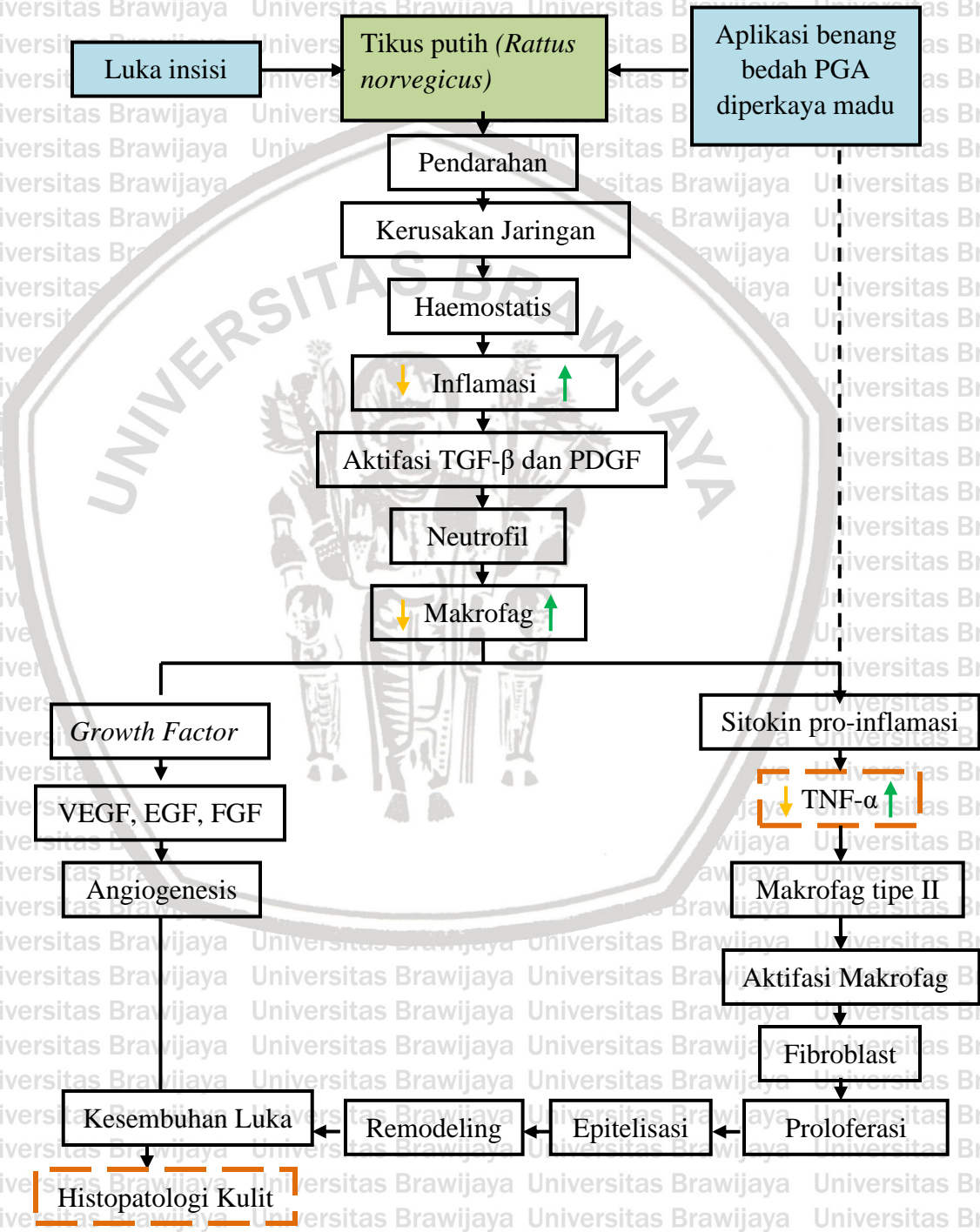
- Kingdom : Animalia
- Phylum : Chordata
- Kelas : Mamalia
- Ordo : Rodentia
- Subordo : Sciurognathi
- Famili : Muridae
- Subfamili : Murinae
- Genus : Rattus
- Spesies : *Rattus norvegicus*

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) mempunyai ukuran tubuh yang lebih besar dibanding denga tubuh mencil, memiliki rambut berwarna putih, mata merah, panjang tubuh berkisar 440 mm, berat badan badan tikus dewasa 150-250 gram (Fitria, 2014).






BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN

3.1. Kerangka Konsep



Keterangan :

	: Variabel bebas	↓	: Menstimulus
	: Variabel terikat	↓	: Efek pemberian terapi
	: Variabel control	↑	: Penyembuhan luka

Hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) diberikan perlakuan insisi pada daerah dorsal sehingga terjadi kerusakan di lapisan kulit. Luka menyebabkan terjadinya homeostatis ditandai dengan vasokonstriksi, aktivasi/agregasi platelet, dan membentuk massa (*clotting*). Platelet yang teragregasi akan memicu fase inflamasi yang ditandai pengaktifan *growth factor* berupa *platelet-derived growth factor* (PDGF) dan *transforming growth factor beta* (TGF-β), sehingga keduanya akan menginsiasi respon inflamasi dengan menarik sel inflamasi (neutrofil dan makrofag) ke sekitar luka (Primadina, 2019).

Neutrofil merupakan sel yang pertama kali muncul, kemudian diikuti oleh makrofag untuk memfagositosis neutrofil yang mati. Makrofag dan neutrofil akan berperan melepaskan sitokin pro-inflamasi (*TNF α, IL-6, IL 1*). *TNF-α* berfungsi untuk meningkatkan kinerja dari sel-sel radang (*Polymorphonuclear* dan *Mononuclear*). Polymorfonuklear (neutrofil) akan difagositosis oleh makrofag kemudian aktifasi makrofag kembali, sehingga terjadi peningkatan kadar makrofag di jaringan. Secara bertahap sel fibroblastakan mengalami peningkatan pada tahap proliferasi untuk keseimbangan pembentukan jaringan parut dan regenerasi jaringan (Syailindra, 2017). Pada tahap ini, matriks kolagen akan diproduksi dalam

jumlah yang besar, sehingga akan memperbaiki jaringan yang rusak dan akan memulai proses epitelisasi. Secara makroskopik akan tampak adanya granulasi yang kaya akan pembuluh darah baru. Memasuki tahap epitalisasi, epitel akan bergerak dari bagian tepi luka menuju luka dan menutupi daerah luka. Memasuki tahap *remodeling* untuk memaksimalkan kekuatan sturktural dari jaringan baru yang dimana pada tahap ini juga sudah memasuki tahap kesembuhan luka (Primadina, 2019).

Aplikasi benang bedah *Polyglycolic Acid* (PGA) yang dilapisi madu dalam penanganan luka insisi. Luka menyebabkan hemostasis salah satunya ditandai dengan aktivasi platelet (agregasi platelet). Platelet yang teragregasi akan memicu fase inflamasi dan makrofag bekerja untuk merangsang. Menurut Zakariya (2009), kandungan flavonoid berperan sebagai antiinflamasi, memperbaiki jaringan yang rusak dengan cara pembentukan fibroblast dan pembuluh darah baru serta membatasi jumlah mediator pro-inflamasi, seperti TNF- α sehingga mempercepat proses inflamasi dan menurunkan efek yang ditimbulkan dari fase inflamasi tersebut dan memasuki tahap proliferasi. Re-epitelisasi, penurunan jumlah fibroblast untuk sintesis kolagen menunjukkan bahwa luka akan masuk ke fase remodeling (Yunanda, 2016).

3.2. Hipotesa Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Aplikasi benang bedah *Polyglycolic Acid* (PGA) yang dilapisi madu dapat menekan produksi ekspresi TNF- α pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Aplikasi benang bedah *Polyglycolic Acid* (PGA) yang dilapisi madu dapat memperbaiki histopatologi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September hingga Desember 2019.

Pelaksanaan penelitian dilakukan di beberapa laboratorium, diantaranya adalah:

- a. Pembuatan benang *Polyglycolic Acid* (PGA) dilapisi madu dilakukan di Laboratorium Histologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya.
- b. Proses *Freez drying* benang PGA dengan madu dilakukan di Laboratorium Fakultas Kimia Polinema Malang.
- c. Pemeliharaan dan perlakuan pada hewan coba dilakukan di Laboratorium Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya.
- d. Pemberian agen anestesi, pembuatan luka insisi, dan penjahitan luka, *Euthanasia*, dan pengambilan sampel kulit dilakukan di Laboratorium Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya.
- e. Pembuatan preparat histopatologi kulit, pemotongan blok parafin preparat kulit untuk preparat histopatologi, dan pengamatan preparat histopatologi dilakukan di Laboratorium Histologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya.
- f. Pewarnaan imunohistokimia preparat kutaneus dilakukan di Laboratorium Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya.
- g. Pengujian elastisitas dan uji tarik benang dilakukan di Laboratorium Fakultas Teknik Pertanian Universitas Brawijaya Malang

h. Pengujian SEM benang dilakukan di Laboratorium BIOSAINS Universitas Brawijaya Malang

4.2. Alat dan Bahan

4.2.1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan berupa kandang tikus sebagai tempat pemeliharaan yang berbahan dasar plastik beserta penutup kandang yang dibuat dari kawat jala dengan ukuran 37 x 30 cm untuk masing-masing 30 ekor tikus. Tempat minum, spuit, nampan sebagai wadah tikus saat perlakuan dan nekropsi, mikroskop, *needle* nomor 13G untuk menjahit daerah insisi. Peralatan yang digunakan untuk insisi meliputi, scalpel, gunting bedah, pinset, object glass, cover glass, papan seksi sebagai alas pada saat pembedahan, pot sampel sebagai tempat penyimpanan organ.

4.2.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benang *Vicryl®*, *Polyglycolic Acid* (PGA), madu hitam, pakan bentuk pelet, sekam sebagai alas kandang, formalin 10%, larutan NS, xylol I, II, dan III, alkohol 70% sampai alkohol absolute, Parafin, pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE). Pewarnaan IHK, larutan nitrogen, dan tabung microtube merah.

4.2.3. Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan hewan coba sebanyak 30 ekor tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar jantan memiliki berat badan 150-200 gram untuk perlakuan, dengan kondisi fisiologis optimum. Tikus yang dipilih adalah tikus

yang sehat dengan ciri-ciri bulu bersih mengkilap, mata jernih bersinar, tingkah laku normal dan berat badan bertambah selama beradaptasi.

Jumlah hewan coba yang digunakan sebagai sampel yang menggunakan enam kelompok perlakuan dengan jumlah ulangan untuk masing-masing kelompok perlakuan dapat dihitung dengan rumus berikut

(Kusriningrum, 2008):

$$\begin{aligned}
 t(n-1) &\geq 15 \\
 6(n-1) &\geq 15 \\
 n-1 &\geq 15/6 \\
 n &\geq 2,5 + 1 \\
 n &\geq 3,5 = 4
 \end{aligned}$$

Keterangan:
 t: Jumlah Perlakuan
 n: Jumlah Ulangan

Berdasarkan perhitungan, maka untuk 6 kelompok hewan coba diperlukan jumlah pengulangan sebanyak 4 kali pengulangan dalam setiap kelompok dan disiapkan 1 ekor sebagai cadangan, sehingga dibutuhkan 30 ekor hewan coba.

4.3. Rancangan Penelitian

Penelitian bersifat eksperimental dengan pengacakan terhadap 30 ekor tikus yang terbagi dalam enam perlakuan (t=6) dan tiap perlakuan terdapat empat pengulangan (n=4). Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) karena hewan coba yang digunakan relative homogen dengan perlakuan diberi secara acak (Kusningrum, 2008).

Pengacakan terhadap 30 ekor tikus dan variable yang diamati yaitu ekspresi



Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) dan gambaran histopatologi kulit.

Kelompok perlakuan dapat dilihat pada **Tabel 4. 1.**

Tabel 4. 1. Kelompok perlakuan

Kelompok	Perlakuan
Kontrol Negatif (K-)	Tanpa luka insisi dan terapi
Kontrol Positif (K+)	Luka insisi diberi penjahitan luka dengan benang PGA + antibacterial
Perlakuan 1 (P1)	Luka insisi diberi penjahitan luka dengan benang PGA non madu
Perlakuan 2 (P2)	Luka insisi diberi penjahitan luka dengan benang PGA + madu 2%
Perlakuan 3 (P3)	Luka insisi diberi penjahitan luka dengan benang PGA + madu 4%
Perlakuan 4 (P4)	Luka insisi diberi penjahitan luka dengan benang PGA + madu 8%

4.4. Variabel Penelitian

Variabel penelitian ini terdiri dari:

- a. **Variabel Bebas:** luka insisi, penjahitan dengan benang Vicryl®, PGA tanpa madu, dan PGA + madu 2%, 4%, dan 8%
- b. **Variabel Terikat:** panjang luka insisi, jenis madu, ekspresi TNF- α dan gambaran histopatologi kulit
- c. **Variabel kendali:** tikus putih (*Rattus norvegicus*) berat 150-200 gram, pakan, minum, ukuran benang dan *needle* bedah

4.5. Tahapan Penelitian

4.5.1. Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*), Wistar jantan dengan berat badan berkisar 150-200gram. Hewan coba tersebut dibagi dalam 6 kelompok. Masing-masing kelompok berisikan 5 ekor hewan coba. Hewan coba dirawat di Laboratorium Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang. Hewan coba dipelihara didalam kandang balok plastik beserta penutup dari kawat jala dengan ukuran 37 x 30 cm untuk masing-masing 30 ekor tikus. Kandang ditempatkan pada tempat yang nyaman. Aklimatisasi tikus selama 5 hari untuk penyesuaian tikus dan diberikan obat cacing Albendazole (dosis 150 mg/kgBB, konsentrasi 20 mg/ml) selama 5 hari dimulai sejak hari kedua.

Tikus diberi pakan kelinci setiap hari 2x sehari. Kelinci dan tikus merupakan hewan dengan filum yang sama yaitu *Chordata*, sehingga kesamaan satu sama lain. Tujuan menggunakan pakan kelinci agar berat badan tikus dapat naik lebih cepat, kandungan pada pakan kelinci, seperti protein (12-18%), air (maksimal 12%), lemak (maksimal 4%), kalsium (1,36%), serat kasar (maksial 14%), dan posfor (0,7-0,9%) (Masanto, 2010). sehingga mampu mempercepat peningkatan berat badan pada tikus

4.5.2. Pembuatan Benang

Pembuatan benang *Polyglycolic Acid* (PGA) dilapisi madu mengacu pada prosedur yang dibuat oleh J. Li *et al.* (2016). Benang komersil (*Vicryl*®)

dengan panjang masing-masing 75 cm direndam dalam larutan madu konsentrasi 2%, 4%, dan 8% dalam tabung microtube merah. Kemudian dilakukan proses pendinginan dengan menggunakan nitrogen cair dituang kedalam tabung microtube. Selanjutnya proses *freeze-dried*, dilakukan dengan memasukkan tabung microtube berisi madu dan benang ke dalam vacum atau tabung *dryring* selama 4 jam.

Setelah dilakukan uji SEM, diperoleh hasil *coating* benang dengan madu berhasil yang ditandai dengan adanya serat madu yang menempel pada benang disemua konsentrasi madu yang digunakan (2%, 4%, dan 8%). Hal ini, menunjukkan keberhasilan pada proses *coating* benang dengan madu.

4.5.3 Pembuatan Luka Insisi Pada Hewan Coba

Tikus dianastesi dengan Ketamin (dosis 75 mg/KgBB, konsentrasi 100 mg/ml) dan (Xylazine dosis 5 mg/KgBB, konsentrasi 20 mg/ml) secara intraperitoneal (Institute for Animal Studies, 2014). Kulit tikus bagian dorsum dicukur dan disterilisasi dengan alkohol 70% dan povidone iodine. Luka insisi dibuat sepanjang 1,5 cm dengan menggunakan *scalpel blade*. Luka insisi kemudian dijahit menggunakan benang bedah Vicryl, PGA tanpa diberi madu, dan benang PGA yang dilapisi madu dengan konsentrasi 2%, 4%, dan 8% dengan teknik *simple interrupted suture*. Pengamatan kesembuhan luka dilakukan setiap hari dengan mengukur panjang dan lebar luka, pemberian antibiotik Amoxicillin, dan mengganti *bandage* tikus.

4.5.4 Preparasi Kulit Untuk Pembuatan Preparat Histopatologi

Pengambilan jaringan dilakukan pada hari ke-6 pasca perlakuan insisi kulit dengan *euthanasi* menggunakan teknik dislokasi *servikalis*. Kulit bagian luka insisi kemudian dieksisidan melibatkan sedikit jaringan kulit normal sekitar 2,5 cm dari tepi luka menggunakan menggunakan peralatan bedah. Pemberian anestesi yang sesuai perlu diberikan pada hewan coba saat perlakuan jika menimbulkan sesuatu yang lebih dari sekedar rasa nyeri atau penderitaan yang mengakibatkan hewan stress dan mati. Proses preparasi jaringan tubuh hewan dapat memberikan efek samping seperti nyeri yang bersifat akut atau kronik, penderitaan, stres, cacat yang bersifat permanen dapat mengganggu kelangsungan hidup hewan, sehingga perlu dilakukan *euthanasia* (Siregar, 2018).

Koleksi kulit yang dikoleksi dimasukkan ke dalam cawan petri berisi NS-formalin 10% untuk mencegah terjadinya lipatan pada koleksi kulit dan dipindah ke dalam pot organ setelah 1-2 hari untuk fiksasi jaringan.

4.5.5 Pembuatan dan Pembacaan Preparat Histopatologi Kulit dengan Pewarnaan *Hematoxyline Eosin* (HE)

Koleksi kulit yang telah di fiksasi kemudian di trimming dengan memotong kulit menjadi 3 bagian. Koleksi kulit untuk pewarnaan histopatologi kulit dimasukkan ke dalam *tissue cassette* dan dilanjutkan proses dehidrasi. Sampel kulit didehidrasi menggunakan etanol bertingkat dimulai dari konsentrasi rendah menuju konsentrasi tinggi untuk mencegah

shyok pada jaringan. Proses dehidrasi dimulai dari konsentrasi 70% selama 24 jam, konsentrasi 80%, 90%, dan 95% masing-masing 1 jam. Kemudian dimasukkan ke dalam etanol absolute I dan absolute II masing-masing 1 jam dan absolute III selama 8-12 jam. Selanjutnya tahap *clearing*, sampel direndam dalam larutan xylol berturut dari xylol I, II, dan III masing-masing 20 menit. Tahap *Clearing* berfungsi untuk menghilangkan sisa alkohol dari jaringan.

Tahap *embedding* diawali dengan menginfiltrasi jaringan ke dalam parafin cair I, II, dan III di dalam incubator dengan suhu 56-60°C masing-masing selama 1 jam. Jaringan kulit yang sudah direndam dalam parafin 3, selanjutnya di masukkan ke dalam *histoplate* yang merupakan cetakan sampel terbuat dari bahan besi untuk membentuk blok parafin. Sampel kulit diletakkan dengan posisi jahitan berada di bagian bawah, kemudian direndam dengan parafin cair dan di tutup dengan *tissue cassette* kemudian dibiarkan membeku di dalam *freezer*. Blok parafin yang sudah membeku kemudian diletakkan dalam penjepit mikrotom yang berfungsi untuk memotong blok parafin membentuk lembaran untuk dijadikan sampel preparat. Blok parafin dipotong dengan ketebalan $\pm 5 \mu\text{m}$. Selanjutnya jaringan yang dipotong diletakkan pada *object glass* yang telah ditetesi *egg white albumin* dan tunggu sampai kering.

Preparat selanjutnya memasuki tahap pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) diawali dengan tahap *defarafinisasi* dengan menggunakan larutan xylol.

Sampel dimasukkan ke dalam mangkuk kaca, kemudian dituang larutan xylol I, II, dan III masing-masing 20 menit. Selanjutnya tahap *rehidrasi* dengan menggunakan etanol bertingkat dari konsentrasi tinggi menuju konsentrasi rendah. Tahap *rehidrasi* diawali dengan menuangkan etanol absolute I, II, dan III ke dalam mangkuk kaca berisi preparat masing-masing 5 menit, dilanjutkan dengan menuang etanol konsentrasi 95%, 90%, 80% dan 70% ke dalam mangkuk masing-masing 5 menit. Tahap selanjutnya adalah *staining*, merupakan tahap pemberian warna pada preparat agar inti sel bisa tampak berwarna biru (*basofilik*) dan sitoplasma serta jaringan ikat berwarna merah muda (*eosinofilik*). Proses *staining* diawali dengan menuang *hematoxylin* ke dalam mangkuk selama 15 menit, selanjutnya dituang alkohol asam selama 4 detik kemudian preparat direndam dalam air mengalir selama 20 menit, lalu dituang pewarna *eosin* selama 20 menit. Tahap selanjutnya adalah *dehidrasi*, dilakukan dengan menuangkan larutan alkohol dari konsentrasi rendah menuju konsentrasi yang tinggi. Prosesnya diawali dengan menuang alkohol dari konsentrasi 70%, 80%, 90%, 95%, etanol absolute I dan II ke dalam mangkuk masing-masing 4 detik, dilanjutkan dengan menuang etanol absolute III selama 5 menit. Selanjutnya tahap *clearing* menggunakan larutan xylol berurut dari xylol I dan II selama 10 menit dan xylol III 10 menit atau lebih. Setelah dari xylol III, preparat diangkat, area belakang *object glass* di lap dengan tissue dan ditunggu sampai preparat bagian depannya kering. Tahap terakhir, diberi entelan sebagai perekat dan ditutup dengan *cover glass*.

Pengamatan Histopatologi kulit dilakukan dengan menggunakan mikroskop perbesaran 4x, 10x, dan 100x. Gambaran histopatologis kulit yang diamati dari setiap kelompok adalah kondisi dari setiap lapisan kulit, yaitu jumlah sel radang, jumlah fibroblast, kondisi lapisan dermis dan epidermis kulit. Kondisi setiap kelompok kemudian akan dihitung untuk memberikan scoring berdasarkan parameter yang ditentukan.

Menurut Marini (2019) dan Gupta (2015), scoring *Wound Healing Index* (WHI) dibagi menjadi empat parameter, yaitu:

Tabel 4. 2 Parameter scoring kesembuhan luka pada luka insisi (Marini, 2018 dan Gupta, 2015).

No.	Parameter	Deskriptif	Skoring
1.	Jumlah jaringan granulasi	Jaringan granulasi tinggi	0
		Jaringan granulasi sedang	1
		Jaringan granulasi jarang	2
		Tidak ada jaringan granulasi	3
2.	Infiltrasi sel radang	Infiltrasi sel radang tinggi	0
		Infiltrasi sel radang sedang	1
		infiltrasi sel radang rendah	2
3.	Jumlah fibroblast	Jumlah fibroblast jarang	0
		jumlah fibroblast sedang	1
		jumlah fibroblast tinggi	2
4.	Tebal Epidermis	Tidak ada lapisan epidermis	0
		Lapisan epidermis mulai terbentuk	1
		Penebalan lapisan epidermis	2
		Ketebalan epidermis normal	3

4.5.6 Pembuatan dan Perhitungan Ekspresi *Tumor Necrosis Factor* (TNF- α) dengan pewarnaan Imunohistokimia (IHK)

Pewarnaan IHK menggunakan *object glass* yang berbahan dasar *poly-L-lisn*. Proses pembuatannya diawali dengan rehidrasi, slide preparat direndam pada xylol I, xylol II, dan alkohol absolute I dan II selama 20 menit. Slide preparat ditetesi PBS pH 7,4 selama 1x5 menit, kemudian PBS ditiriskan dengan menggunakan tissue, lalu slide ditetesi dengan serum buffer selama 1x10 menit. Setelah 10 menit, teteskan *peroxidase block* pada preparat selama 50 menit. PBS ditetaskan kembali dan tiriskan menggunakan tissue. Kemudian teteskan antibodi primer *Rat Ab monoclonal* spesifik terhadap TNF- α [Santa Cruz Biotechnology, Inc, TNF- α (kat: 52B83: SC-52746)] (perbandingan pengenceran 50:1) kemudian diinkubasi selama 40 menit. Setelah 40 menit, dilakukan pencucian kembali dengan PBS pH 7,4 sebanyak 3 kali lalu tiriskan. Setelah dicuci, slide preparat ditetaskan dengan antibodi sekunder (*Immuno Staining KIT-Universal* [Skytech]) kemudian diinkubasi selama 40 menit dan dilakukan pencucian kembali dengan PBS pH 7,4 sebanyak 3 kali.

Slide preparat kemudian ditetesi Enzim *Strep Avidin Horse Radish Peroxidase* (SA-HRP) selama 1x40 menit lalu dicuci dengan aquadest mengalir sebanyak 1-2 kali. Kemudian, teteskan substrat pewarna IHK berupa *Diamano Benzidine* (DAB) sebanyak 50 μ l selama 10-15 menit sambil diamati dengan mikroskop, kemudian teteskan aquadest sebanyak 2 kali lalu

bilas dengan aquadest mengalir. Selanjutnya, dilakukan *counter staining* menggunakan *Mayer-Hematoxylen* dengan aquadest untuk mencegah penggumpalan warna selama 2 menit, setelah 2 menit teteskan aquadest, dibilas kembali dengan aquadest yang mengalir dan dikeringkan. Slide selanjutnya di-*mounting* dengan entellan dan ditutup dengan *cover glass*.

Proses pewarnaan IHK yang dilakukan sesuai dengan metode pewarnaan IHK menurut Idris (2014), hanya terdapat perbedaan pada rentan waktu yang digunakan.

Perhitungan ekspresi TNF- α dilakukan dengan mikroskop perbesaran 400x dengan lima bidang pandang pengamatan, ditandai dengan timbulnya warna coklat. Hasil foto dari mikroskop diproses dengan menghitung penilaian rata-rata persentase area menggunakan *immunoratio*.

4.6. Analisa Data

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekspresi TNF- α dan histopatologi kulit. Data ekspresi TNF- α dianalisis menggunakan *Microsoft Excel* dan *SPSS for windows 24* dengan analisis statistik ragam *one-way ANOVA* dengan uji lanjutan *Tukey* $\alpha = 0,05$ ($p < 0,05$) (Kusriningrum, 2008). Data histopatologi kulit dianalisis secara deskriptif dengan melihat perbedaan setiap lapisan kulit dari setiap kelompok perlakuan.

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

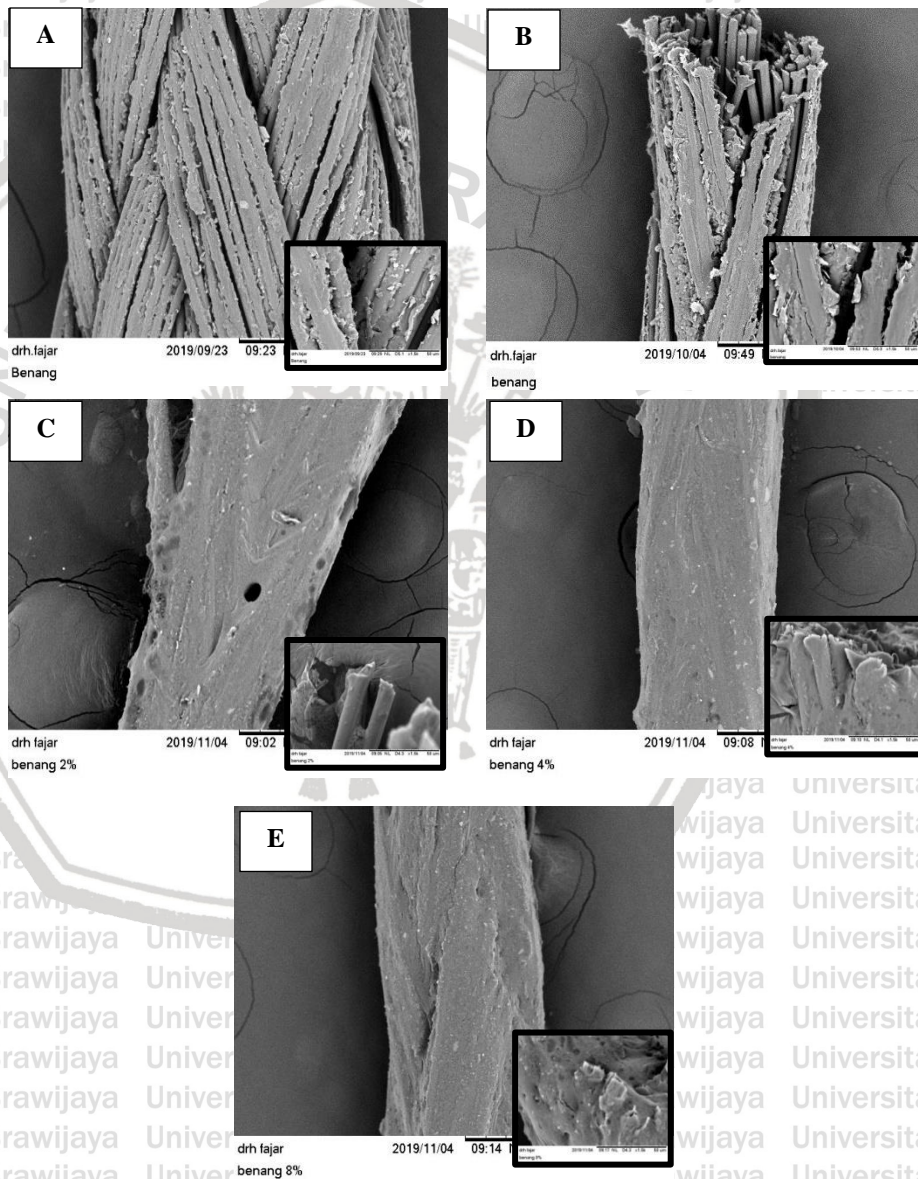
5.1. Hasil Uji SEM Benang Bedah *Coated* Madu dengan Metode *Freeze Drying*

Benang bedah PGA yang digunakan dalam penelitian ini dilapisi (*coating*) dengan madu menggunakan metode *freeze drying*. Menurut Li *et al* (2016), metode *freeze drying* dapat digunakan karena memiliki kelebihan untuk tetap mempertahankan susunan dan morfologi bahan tanpa mengurangi mutu dari hasil pengeringan yang dilakukan. Sebelum dilakukan *freeze drying*, sampel direndam terlebih dahulu dalam larutan nitrogen cair, bertujuan untuk mengikat madu pada pori-pori benang dan membekukan madu tersebut sebelum proses *freeze drying*.

Hasil benang bedah dengan *coating* madu dapat dilihat menggunakan uji *Scanning Electron Microscopy* (SEM) untuk mengetahui apakah benang terlapisi dengan madu atau tidak. *Scanning Electron Microscopy* (SEM) merupakan suatu metode yang menggunakan mikroskop elektron yang digunakan untuk mengidentifikasi morfologi dan susunan dalam skala mikrometer dan nanometer sehingga dapat mengamati susunan dan morfologi dengan sangat detail. Teknik yang digunakan dalam analisis SEM, sumber pencitraan menggunakan electron dan bagian lensanya menggunakan elektromagnetik (Rianita, 2013). Hasil proses pengambilan gambar dengan SEM sangat dipengaruhi oleh jenis sampel yang digunakan. Hal tersebut dikarenakan pembentukan gambar hasil SEM menggunakan teknik fisika

dengan interaksi korpuskular antara sumber elektron dari alat dengan atom bahan yang akan diuji (Sujatno, 2015).

Hasil uji SEM pada pembuatan benang bedah *coating* madu perbesaran 250X dan 1500X adalah sebagai berikut:



Gambar 5. 1. Hasil uji SEM benang bedah PGA. (A) *Vicryl Plus*; (B) *Vicryl* (PGA); (C) PGA+ madu 2%; (D) PGA + 4%; (E) PGA + madu 8%

Pada **Gambar 5. 1** diperoleh hasil dari uji SEM benang bedah yang digunakan, pada benang *vicryl plus* (A) dan *vicryl* (PGA) (B) merupakan benang bedah tanpa dilapisi madu, dari hasil uji SEM tampak jelas pilinan dari benang *monofilament* yang membentuk benang *vicryl* yang *multifilament*.

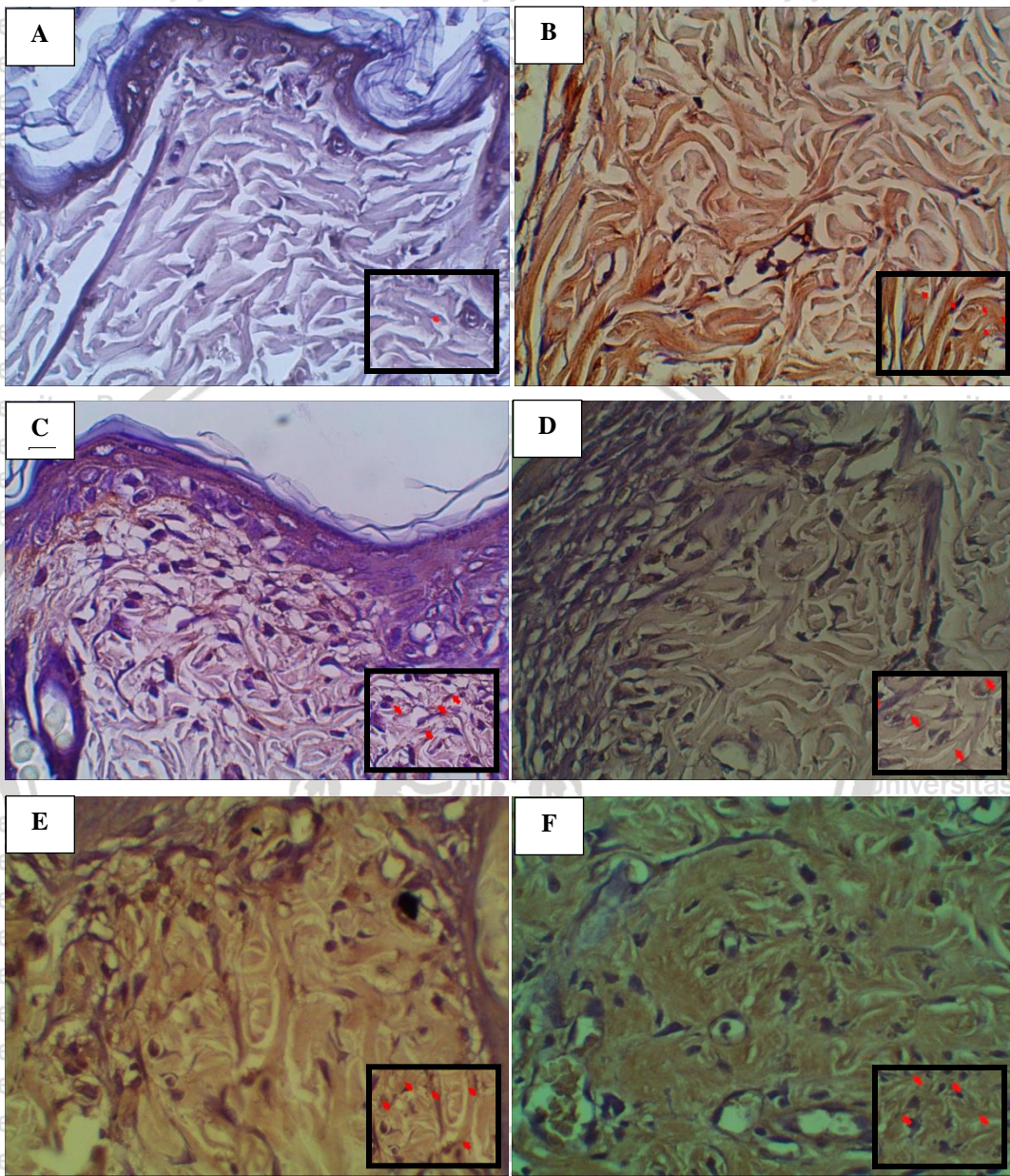
Pada benang PGA yang di lapisi madu 2% (C), madu 4% (D), madu 8% (E), dari hasil uji SEM tampak pilinan pada benang tidak terlihat, hal tersebut dikarenakan madu meresap secara merata dan menutupi seluruh area permukaan benang sehingga pilinan benang *monofilament* tidak terlihat.

Berdasarkan hasil dari uji SEM pada setiap benang menyimpulkan bahwa proses *coated* yang dilakukan pada benang bedah PGA berhasil dan meresap secara merata pada benang tersebut.

5.2. Pengaruh Aplikasi Benang Bedah PGA *coated* Madu Terhadap Luka Insisi Berdasarkan *Tumor Necrosis Factor – Alpha* (TNF- α) pada Kulit Tikus Putih (*Rattus norvegicus*).

Hasil ekspresi *Tumor Necrosis Factor – Alpha* (TNF- α) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan aplikasi benang bedah PGA *coated* madu pada luka insisi diamati dengan teknik pewarnaan Immunohistokimia (IHK) secara *in-direct*. Prinsip pewarnaan IHK adalah reaksi antara antibody yang diberikan dengan antigen yang bersangkutan. Hasil penelitian mengenai aplikasi benang bedah *coated* madu pada luka insisi tikus pada ekspresi TNF- α ditunjukkan dengan ekspresi warna kecoklatan pada area kulit yang dapat dilihat pada

Gambbar 5. 2.



Gambar 5.2 Ekspresi TNF- α Jaringan Kulit Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) dengan Metode Immunohistokimia (IHK) (Perbesaran 400X);

Keterangan: (A) kelompok tanpa diberi perlakuan (kelompok negatif); (B) kelompok dijahit dengan benang vicryl plus (kelompok positif); (C) kelompok dijahit dengan benang PGA tanpa madu (P1); (D) kelompok dijahit dengan benang PGA + madu 2% (P2); (E) kelompok dijahit dengan benang PGA + madu 4% (P3); (F) kelompok dijahit dengan benang + madu 8% (P4). (↑) ekspresi TNF- α pada kulit.

Berdasarkan **Gambar 5. 2** merupakan hasil ekspresi dari TNF- α yang ditandai dengan warna kecoklatan, disebabkan interaksi antara antibody monoclonal TNF- α dengan antigen sehingga terbentuk ikatan yang bersifat kompleks yang akan dikenali oleh enzim *Strep Avidin-Horse Radish Peroxidase* (SA-HRP) kemudian terwarnai oleh substrat kromagen *Diaminobendizine* (DAB) sehingga membentuk warna kecoklatan pada area yang terekspresi TNF- α (Unitly, 2010).

Hasil yang diperoleh pada kontrol negatif (A) terdapat area kecoklatan yang menandakan adanya ekspresi dari TNF- α , pada kelompok negatif masih terekspresi TNF- α dikarenakan setiap sel memiliki TNF- α namun dalam kadar yang rendah yang berfungsi meminimalkan terjadinya inflamasi dalam proses normal kematian sel (apoptosis) (Suwanti, 2015). Pada kelompok positif (B) merupakan kelompok yang dijahit dengan benang *vicryl plus*, tampak ekspresi dengan warna coklat yang masih tinggi dibandingkan hasil dari kelompok lainnya. Hal tersebut dikarenakan pada kelompok kontrol positif (B) masih berada di fase inflamasi dalam proses penyembuhan luka insisi, sehingga kadar TNF- α masih sangat tinggi di jaringan kulit. Hasil yang sama dengan kelompok (E) yang dijahit dengan benang PGA + madu 4% dan kelompok (F) yang dijahit dengan benang PGA + madu 8%, tampak pada **Gambar 5.2** hasil imunohistokimia (IHK) kedua kelompok tersebut memiliki ekspresi berwarna coklat yang masih cukup tinggi, hal tersebut menandakan kedua kelompok belum memasuki fase *proliferasi* yang optimal, sehingga masih kadar TNF- α

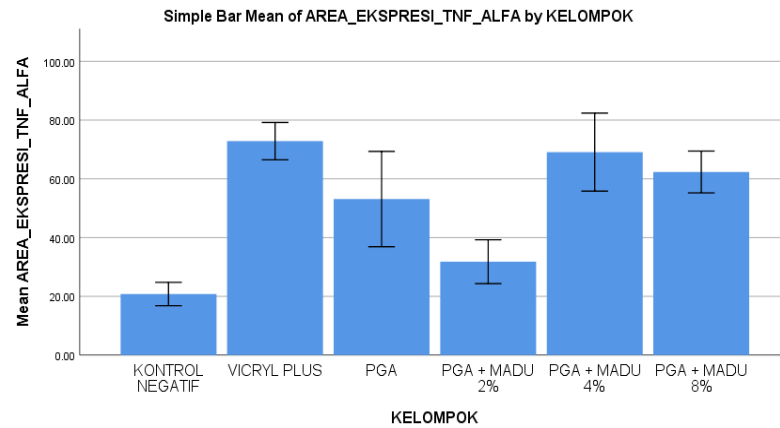
masih cukup banyak di jaringan kulit (Fatimatuazzahro, 2014). Hasil **Gambar 5.2** pada kelompok (C) kelompok yang dijahit dengan benang PGA tanpa madu dan kelompok (D) yang dijahit dengan benang PGA+ madu 2%, pada hasil immunohistokimia (IHK) tampak area ekspresi yang berwarna cokelat lebih rendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya. Hal tersebut menandakan kedua kelompok tersebut sudah memasuki tahap *proliferasi* ataupun *remodeling*, sehingga kadang TNF- α sudah mulai rendah pada jaringan kulit (Fatimatuazzahro, 2014).

Hasil dari ekspresi TNF- α diukur menggunakan *software immunoratio*, kemudian hasil dianalisa secara statistik menggunakan *one-way ANOVA* dengan nilai $p < 0,05$ dan dilanjutkan dengan uji *tukey* ($\alpha = 0,05$). Hasil dari pengukuran dapat dilihat pada **Tabel 5. 1**

Tabel 5. 1 Hasil Uji Tukey terhadap Ekspresi *Tumor Necrosis Factor* (TNF- α)

Kelompok	Area Ekspresi TNF- α (Rata-rata \pm SD)	Penurunan terhadap K(+) (%)
Kontrol negatif (K-)	20,78 \pm 3,97 ^a	-
Kontrol positif (K+) (<i>Vicryl Plus</i>)	72,83 \pm 6,35 ^c	-
Perlakuan 1 (P1) (PGA tanpa madu)	53,11 \pm 16,22 ^b	27,08%
Perlakuan 2 (P2) (Benang PGA + madu 2%)	31,79 \pm 7,46 ^a	56,35%
Perlakuan 3 (P3) (Benang PGA + madu 4%)	69,08 \pm 13,28 ^{bc}	5,15%
Perlakuan 4 (P4) (Benang PGA + madu 8%)	62,32 \pm 7,11 ^{bc}	14,43%

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



Gambar 5. 3 Grafik ekspresi TNF- α pada setiap kelompok perlakuan. Keterangan: PGA coated madu 2% memiliki hasil paling tinggi dan mendekati angka normal.

Berdasarkan hasil statistik diperoleh hasil kelompok positif (K+) memiliki perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok kontrol negatif (K-), kelompok benang PGA (*vicryl*) (P1), dan kelompok benang PGA + madu 2% (P2). Kelompok benang PGA + madu 2% (P2) juga memiliki perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok *vicryl plus* (K+), namun memiliki perbedaan yang tidak signifikan ($p \geq 0,05$) dengan kelompok kontrol negatif (K-). Sedangkan pada kelompok benang PGA + madu 4% (P3) memiliki perbedaan yang tidak signifikan ($p \geq 0,05$) dengan kelompok benang PGA + madu 8% (P4).

Pada **Tabel 5. 1** menunjukkan hasil uji statistik terhadap ekspresi TNF- α pada setiap kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol negatif (K-) digunakan sebagai gambaran dari kulit normal sehingga dijadikan sebagai standar nilai dari peningkatan dan penurunan ekspresi TNF- α pada setiap kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol negatif (K-) tetap memiliki nilai presentasi terhadap ekspresi TNF- α walaupun tanpa diberi perlakuan dengan nilai rata-rata

20,78±3,97%. Hal tersebut dikarenakan dalam jaringan kulit yang normal terdapat susunan sel-sel makrofag kulit yang juga memiliki TNF- α yang digunakan dalam proses apoptosis sel penyusun jaringan kulit (Suwanti, 2015).

Pada kelompok potitif (K+) merupakan kelompok yang dijahit menggunakan benang bedah *vicryl plus*. Kelompok positif juga dijadikan acuan terhadap penurunan dari ekspresi TNF- α pada kelompok perlakuan lainnya untuk mengetahui efektivitas dari setiap perlakuan. Kelompok positif memiliki nilai rata-rata 72,83±6,35% dan memiliki perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok (K-) dan kelompok benang PGA+madu 2% (P2) dengan ekspresi TNF- α yang masih sangat tinggi jika dibandingkan dengan kelompok (K-) dan (P2). Hal tersebut dikarenakan benang *vicryl plus* merupakan benang bedah yang mengandung *Triclosan* sebagai antiseptik dan anti bakteri, sehingga dapat menekan pertumbuhan jumlah bakteri pada area luka. Bakteri yang tumbuh pada area luka akan ditekan, namun menyebabkan munculnya sel-sel radang untuk memfagositosis bakteri tersebut sehingga jumlah sel radang akan tetap meningkat. Selain itu, efek samping dari *triclosan* dapat menyebabkan iritasi pada kulit yang menyebabkan fase inflamasi tetap berlangsung melebihi batas fase normal. Keadaan tersebut menjadi penyebab tingginya kadar sel radang dan tingginya ekspresi TNF- α pada kelompok *vicryl plus* (Dann, 2011).

Pada kelompok (P1) yaitu kelompok yang dijahit dengan benang PGA tanpa madu memiliki nilai rata-rata 53,11±16,22% mengalami penurunan sebesar 27,08% dari kelompok *vicryl plus* dan memiliki perbedaan yang

signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok (K-), (K+) dan kelompok (P2) namun memiliki perbedaan yang tidak signifikan ($p \geq 0,05$) pada kelompok (P3) dan (P4). Hal tersebut menandakan kelompok benang PGA (*vicryl*) sudah memasuki tahap *proliferasi* atau *remodeling*. Kelompok yang dijahit menggunakan benang PGA berbentuk *multifilament* dapat menekan proses inflamasi dan benang PGA di degradasi secara hidrolisis sehingga dapat lebih mudah di degradasi sehingga proses inflamasi berlangsung cepat. Selain itu, benang PGA memiliki kandungan *Calcium Stearate* yang melapisi area permukaan benang menyebabkan permukaan benang lebih halus bertujuan untuk mengurangi iritasi kulit yang terjadi ketika proses menjahit dan dapat mempercepat proses degradasi benang dalam tubuh (Shi, 2015).

Pada kelompok (P2) dijahit dengan benang PGA + madu 2% memiliki nilai rata-rata ekspresi $31,79 \pm 7,46\%$ mengalami penurunan sebesar 56,35% dari kelompok *vicryl plus* (K+) dan memiliki persamaan paling dekat dengan (K-) dengan perbedaan yang signifikan ($p < 0,5$) pada kelompok (K+). Hal tersebut menandakan kelompok (P2) sudah memasuki fase *proliferasi* atau *remodeling*. Kandungan madu dapat mempercepat proses penyembuhan luka melalui kandungan flavonoid sebagai antiinflamasi dengan menekan produksi dari leukosit di area luka yang akan menekan terjadinya proses inflamasi (Nurwahidah, 2018). Saponin dalam kandungan madu mampu menekan produksi bakteri dan mempercepat proses *angiogenesis* (Santoso, 2018). Kandungan madu lainnya adalah glukosa sebagai antibakteri dan sumber nutrisi

sehingga asupan oksigen dan nutrisi menuju area luka terpenuhi, glukosa madu mampu menyerap kandungan air yang berlebih pada area luka sehingga luka tetap dalam kondisi yang lembab sehingga meminimalkan pertumbuhan bakteri di area luka. Oleh sebab itu, proses inflamasi dapat berlangsung lebih cepat (Zakariya, 2009).

Pada **Tabel 5. 1** Hasil pada kelompok (P3) dan (P4) memiliki persentasi yang hampir sama. Kelompok (P3) yaitu kelompok yang dijahit menggunakan benang PGA + madu 4% memiliki nilai rata-rata $69,08 \pm 13,28\%$ mengalami penurunan sebesar 5,15% dari kelompok *vicryl plus*. Hasil dari kelompok (P4) yaitu kelompok yang dijahit dengan benang PGA + madu 8% memiliki nilai rata-rata $62,32 \pm 7,11\%$ mengalami penurunan 14,43% yang dimana pada kelompok (P3) dan (P4) terdapat perbedaan yang tidak signifikan ($p > 0,05$), namun berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok (K-) dan (P2). Kelompok (P3) dan (P4) juga memiliki perbedaan yang tidak signifikan ($p > 0,05$) dengan kelompok (K+). Dapat dikatakan kelompok (P3) dan (P4) sudah mulai memasuki tahap proliferasi, namun belum secara sempurna. Hal tersebut disebabkan konsentrasi madu yang di *coated* pada benang terlalu tinggi sehingga memberikan efek toksik pada jaringan kulit. Madu juga mengandung *quersetin* yang dapat memberikan efek toksik pada luka apabila diberikan dalam kadar konsentrasi yang tinggi (Izzati, 2015). Kadar madu yang berlebih menyebabkan adanya penumpukan suatu antigen yang tidak dapat diserap maksimal oleh jaringan, menyebabkan sel radang muncul dalam jumlah yang

tinggi dan memproduksi TNF- α dalam kadar yang tinggi juga, sehingga fase inflamasi menjadi lebih lama dibandingkan dengan batas normalnya (Rosa, 2018).

Berdasarkan uraian hasil analisa statistik dengan uji *one-way* ANOVA, dapat disimpulkan aplikasi benang PGA *coated* madu 2% mampu menurunkan ekspresi TNF- α pada luka insisi tikus putih (*Rattus norvegicus*) dimana hasil ekspresi dari TNF- α tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif (K-).

5.3. Pengaruh Aplikasi Benang Bedah PGA *coated* Madu Terhadap Luka Insisi Berdasarkan Gambaran Histopatologi Kulit Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*).

Pengaruh aplikasi benang bedah PGA *coated* madu terhadap luka insisi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dapat diamati secara deskriptif dan scoring kesembuhan luka melalui gambaran histopatologi kulit. Pengamatan histopatologi dilakukan dengan mengamati preparat kulit pada hari ke-6 pasca dijahit menggunakan mikroskop cahaya dengan tiga perbesaran, yaitu 40X, 100X, dan 400X. Parameter yang diamati adalah keberadaan sel radang, fibroblast, dan tebal epidermis. Hasil pengamatan dikelompokkan dalam fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodeling.

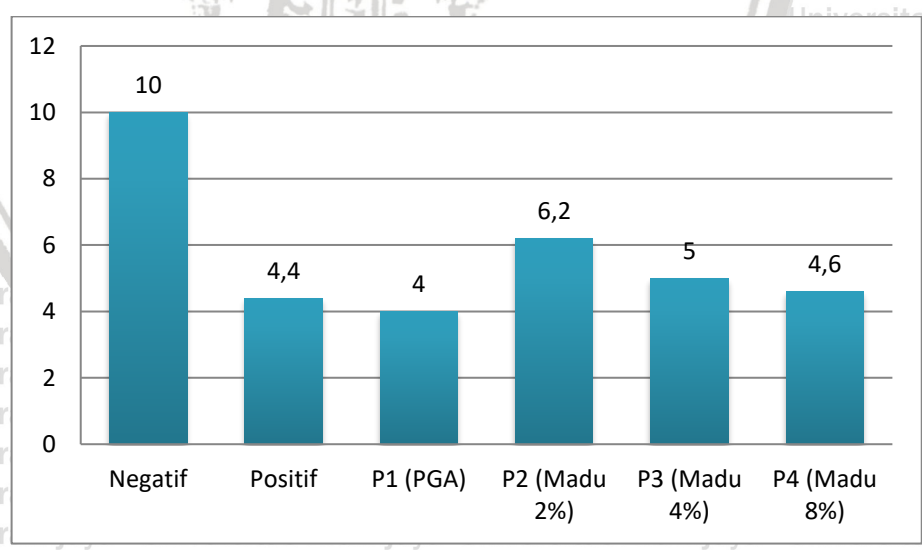
Kondisi setiap kelompok kemudian akan dihitung untuk memberikan scoring berdasarkan parameter yang ditentukan sesuai dengan scoring *Wound Healing*

Index (WHI) menurut Marini (2019) dan Gupta (2015) dapat dilihat pada

Lampiran. 10. Hasil scoring kesembuhan luka dapat dilihat pada **Tabel 5.2**

Tabel 5.2 Scoring kesembuhan luka pada luka insisi tikus putih berdasarkan gambaran histopatologi kulit

No.	kelompok	parameter (Rata-rata)				
		Jaringan Granulasi	Sel radang	Jumlah fibroblast	Tebal epidermis	total (Σ)
1	Kontrol Negatif K(-)	3	2	2	3	10
2	Kontrol Positif (K+)	0,6	0,8	1,4	1,6	4,4
3	P1 (PGA tanpa madu)	0,4	0,2	1,4	2	4
4	P2 (PGA+madu 2%)	1,6	1,2	1,6	1,8	6,2
5	P3 (PGA+madu 4%)	1	0,8	1,4	1,8	5
6	P4 (PGA+madu 8%)	0,6	0,8	1,6	1,6	4,6

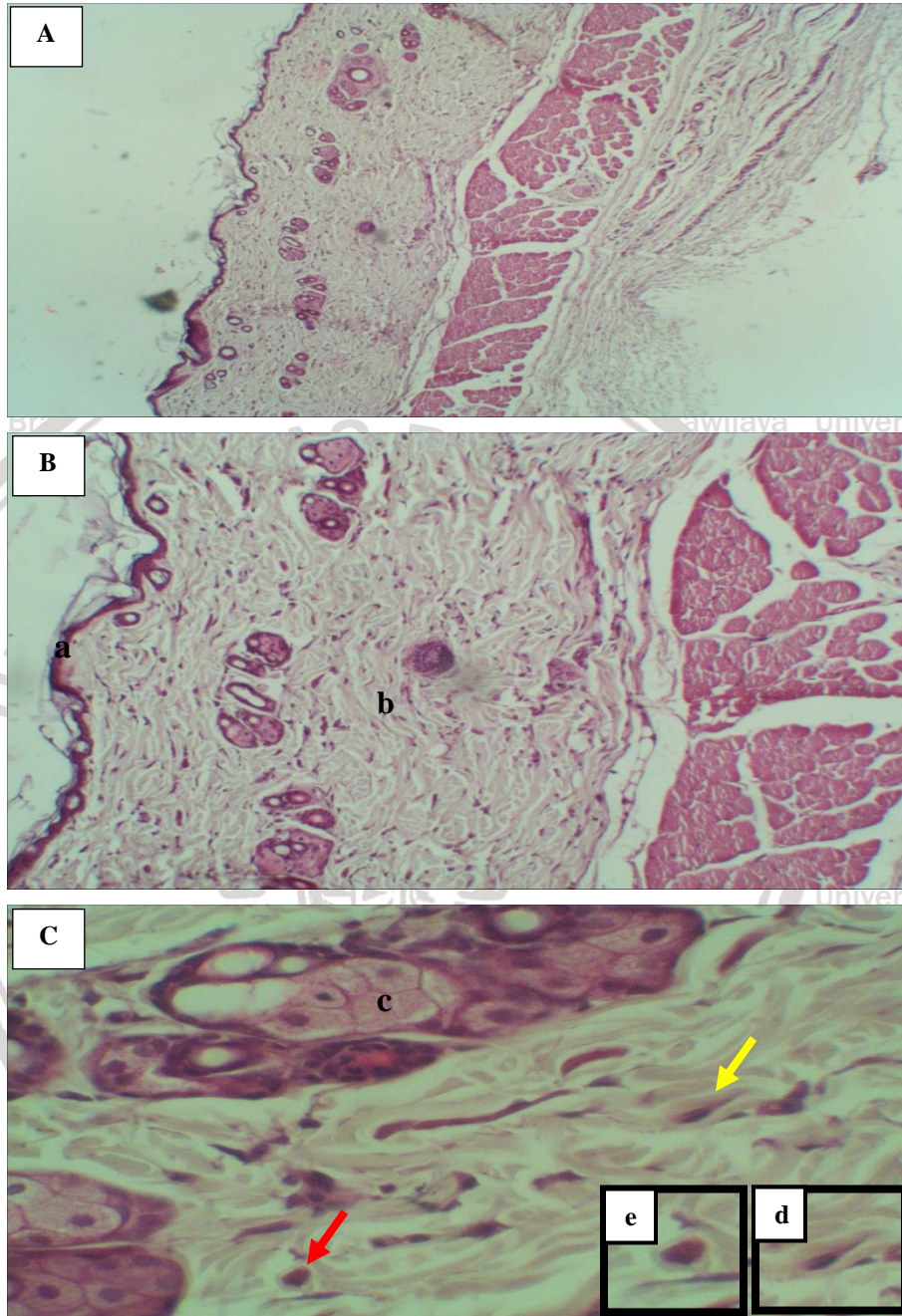


Gambar 5.4 Grafik scoring kesembuhan luka insisi berdasarkan gambaran histopatologi kulit tikus.



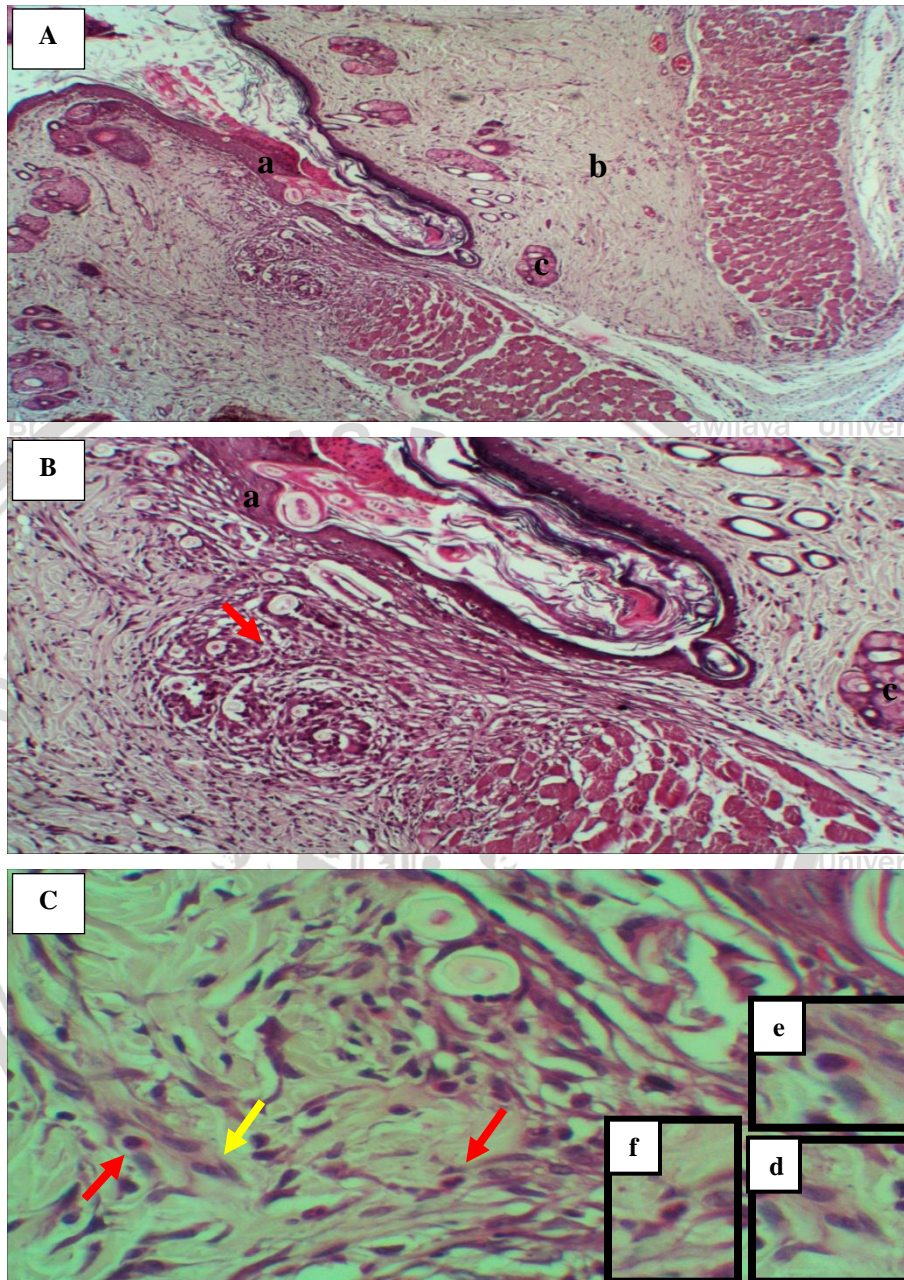
Hasil scoring rata-rata < 5 untuk kondisi luka yang masih dalam fase inflamasi, scoring rata-rata ≥ 5 untuk kondisi luka yang sudah memasuki tahap proliferasi dan maturasi (*remodeling*).

Berdasarkan **Tabel 5.3** kelompok kontrol negatif merupakan gambaran histologi kulit normal. Pada kelompok kontrol positif (K+) dan kelompok (P1) benang PGA tanpa madu masih dalam fase inflamasi (< 5). Sedangkan pada kelompok (P2) benang PGA + madu 2%, (P3) benang PGA + madu 4%, dan (P4) benang PGA + madu 8% sudah mulai memasuki tahap proliferasi dan remodeling (≥ 5). Kelompok kontrol negative (K-) memiliki scoring tertinggi dari seluruh kelompok dengan nilai rata-rata scoring adalah 10, karena kontrol negative (K-) merupakan gambaran kulit normal tanpa diberi perlakuan. Pada kelompok P2 memiliki nilai scoring tertinggi setelah kontrol negative (K-) dengan nilai rata-rata scoring 6,2. Sedangkan pada kelompok P1 (*Vicryl* / PGA tanpa madu) memiliki nilai scoring terendah dari seluruh kelompok perlakuan, dengan nilai rata-rata scoring adalah 4.



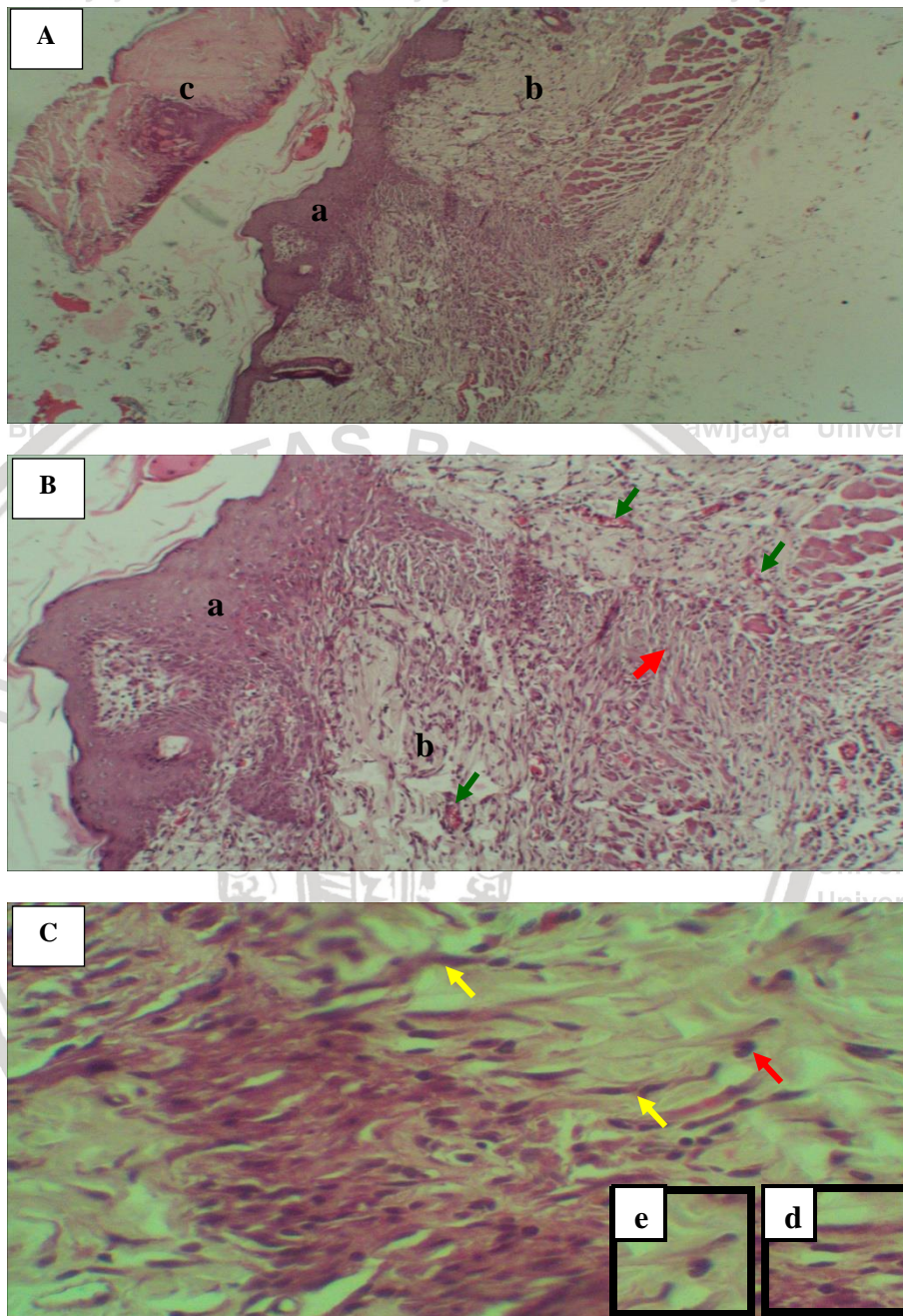
Gambar 5.5 Histopatologi Kulit Kelompok Kontrol Negatif (K-) tanpa perlakuan. Perbesaran (A) 40X; (B) 100X; (C) 400X.

Keterangan: scoring 10 (jaringan granulasi jarang: 3; sel radang sedikit: 2; banyak fibroblast: 2; epidermis normal: 3). (a): epidermis; (b): dermis; (c): kelenjar sebaseous; (d) ↑; fibroblast; (e) ↑: sel radang (makrofag)



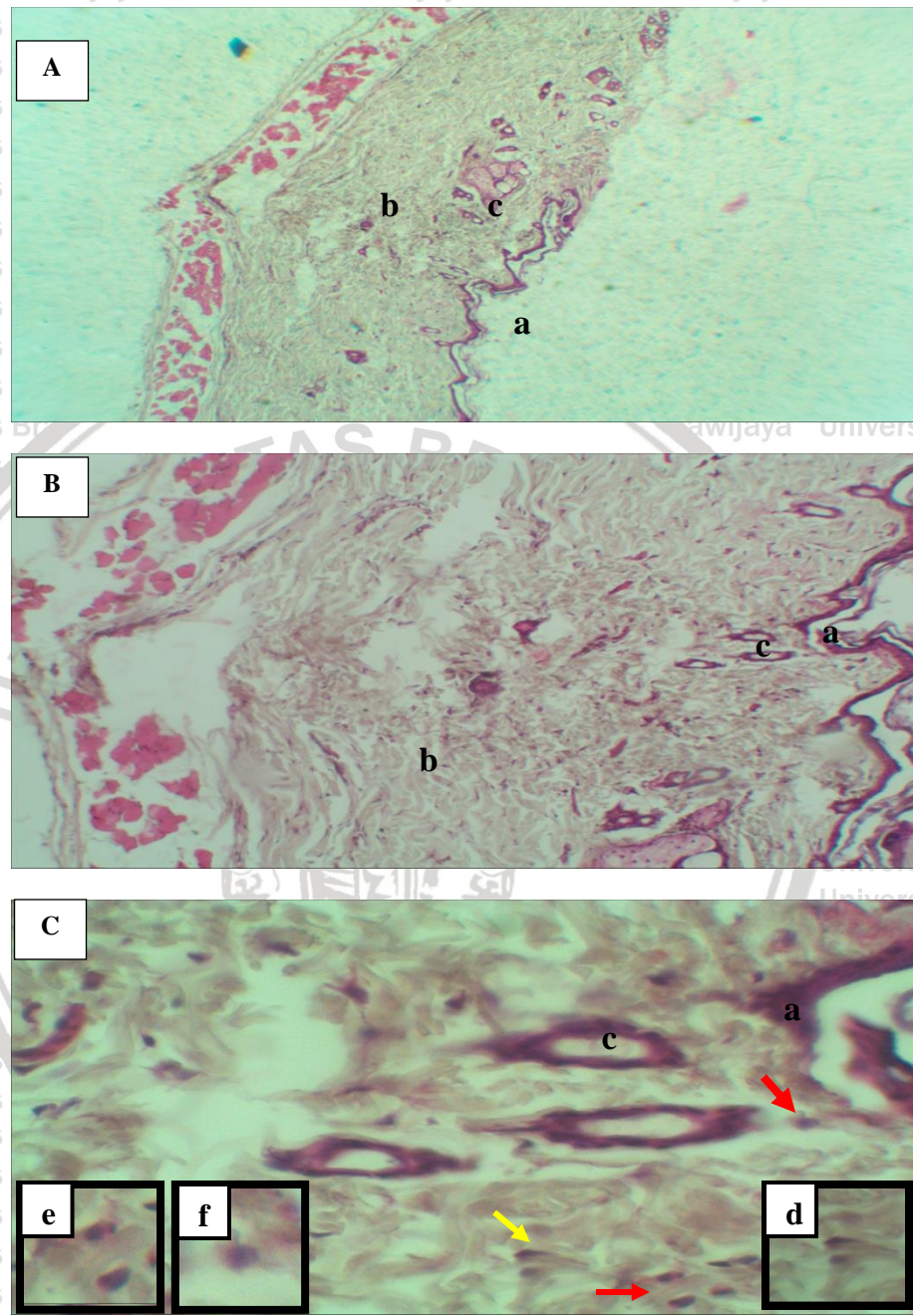
Gambar 5. 6 Histopatologi kulit kelompok Kontrol Positif (K+) *vicryl plus*. Perbesaran (A) 40X; (B) 100X; (C) 400X

Keterangan: Scoring 4 (Banyak jaringan granulasi: 0; banyak sel radang: 0; banyak fibroblast: 2; epidermis menebal: 2). (a) epidermis; (b) drmsis; (c) kelenjar sebaceous; (d): fibroblast; (e) sel radang (e) makrofag, f) neutrofil).



Gambar 5. 7 Histopatologi kulit kelompok (P1) benang PGA tanpa madu (Vicryl). Perbesaran (A) 40X; (B) 100X; (C) 400X

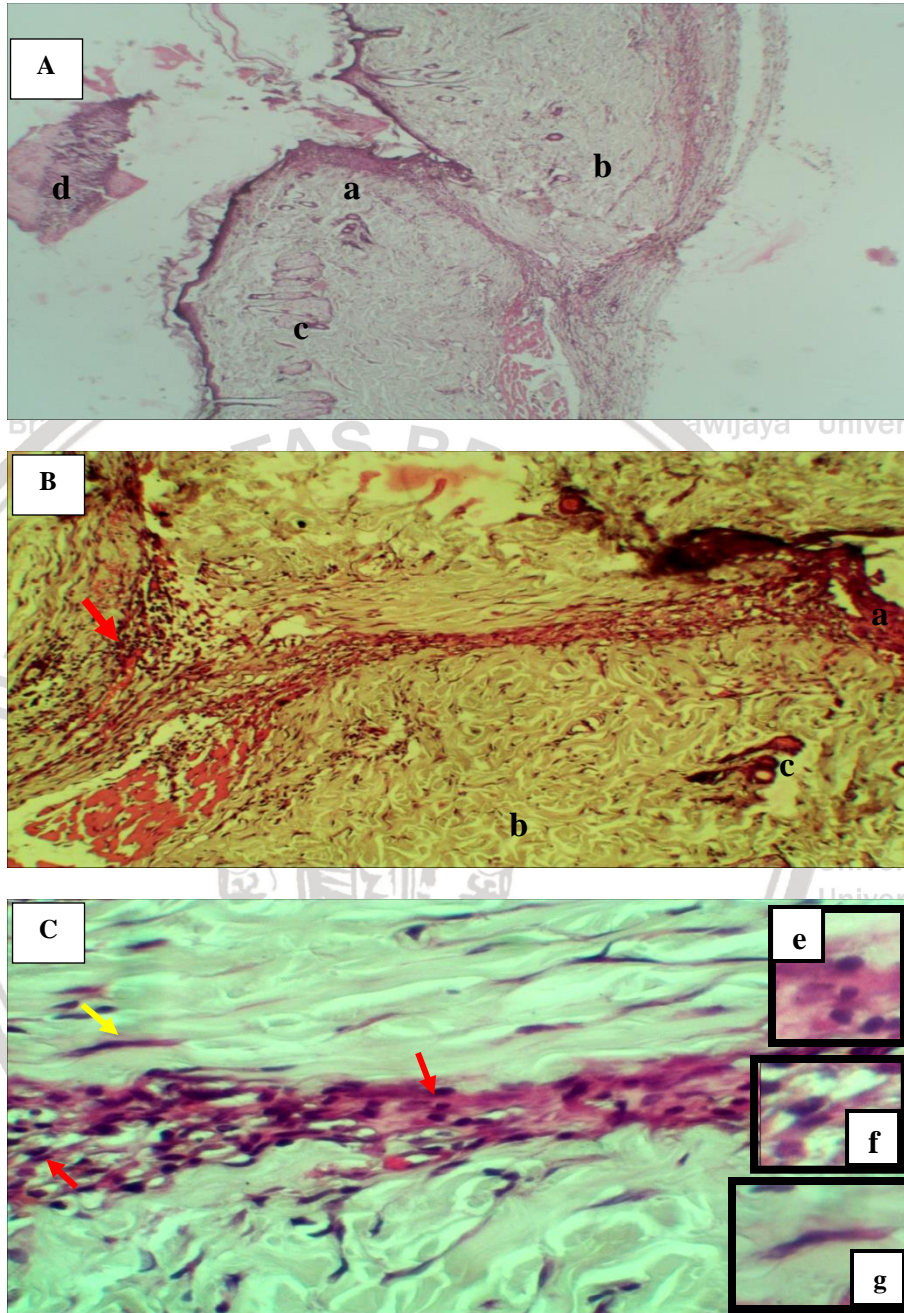
Keterangan: Scoring 4 (Banyak jaringan granulasi: 0; banyak sel radang: 0; banyak jaringan fibroblast: 2; lapisan epidermis menebal: 2). (a) epidermis; (b) dermis; (c) keropeng; (d) fibroblast; (e) sel radang (makrofag); (f) angiogenesis.



Gambar 5. 8 Histopatologi kulit kelompok (P2) benang PGA + madu 2%. Perbesaran (A) 40X; (B) 100X; (C) 400X.

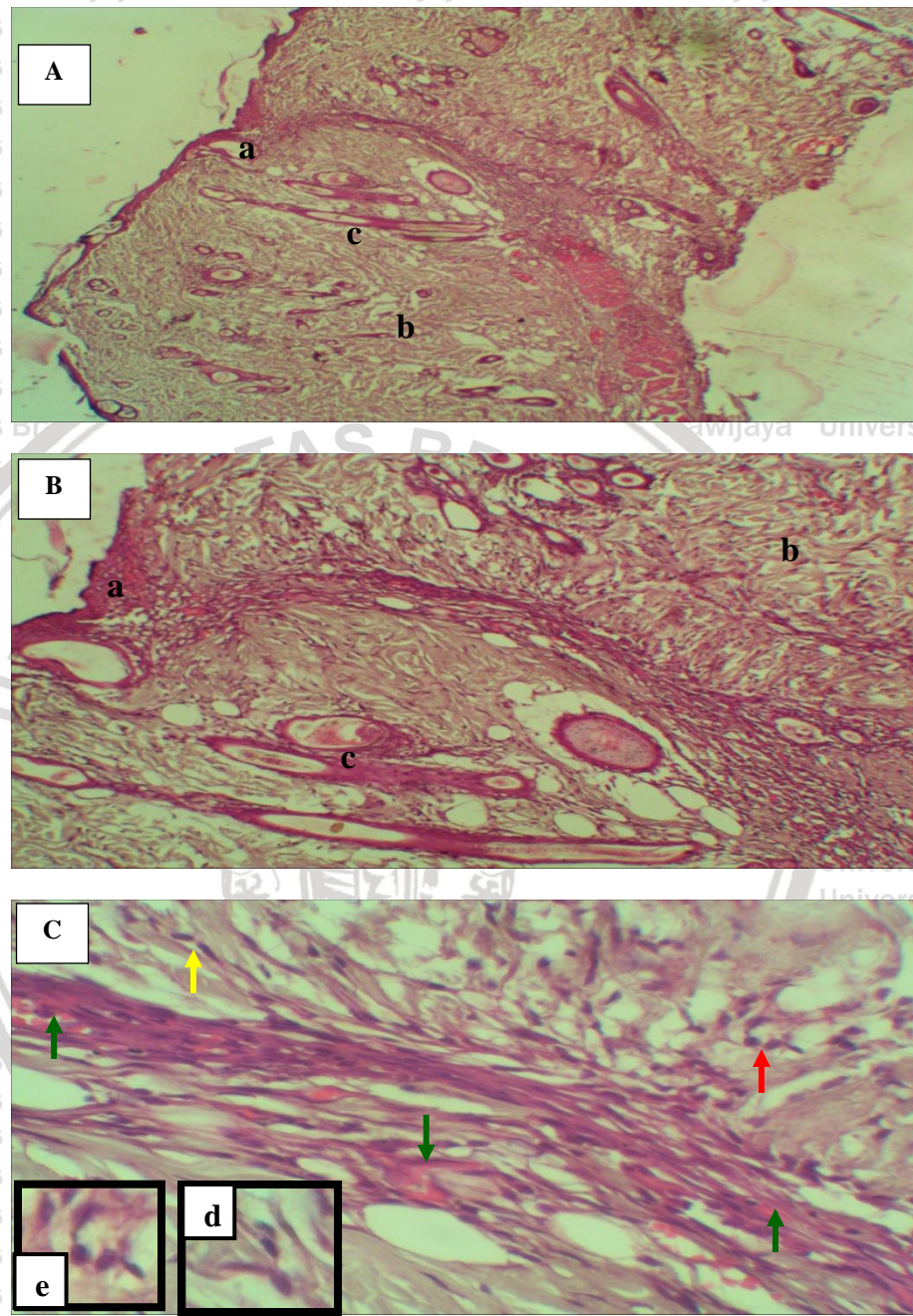
Keterangan: Skoring 8 (jaringan granulasi jarang: 2; sedikit sel radang: 2; jumlah fibroblast sedang: 1; epidermis normal: 3). (a) epidermis; (b) dermis; (c) kelenjar sebaceous; (d) fibroblast; (↑) sel radang (e: neutrofil, f: makrofag).





Gambar 5. 9 Histopatologi kulit kelompok (P3) benang PGA + madu 4%. Perbesaran (A) 40X, (B) 100X, (C) 400X.

Keterangan: Scoring 5 (jaringan granulasi sedang: 1; jumlah sel radang sedang: 1; jumlah fibroblast sedang: 1; epidermis menebal: 2). (a) epidermis; (b) dermis; (c) kelenjar sebaceous; (d) keropeng; (↑) sel radang (e: makrofag, f: neutrofil); (g) fibroblast



Gambar 5. 10 Histopatologi kulit kelompok (P4) benang PGA + madu 8%. Perbesaran (A) 40X; (B) 100X; (C) 400X.

Keterangan: Score 4 (banyak jaringan granulasi: 0; banyak sel radang: 0; banyak jaringan fibroblast: 2; epidermis menebal: 2). (a) epidermis; (b) dermis; (c) kelenjar sebaceous; (d) fibroblast; (e) sel radang (makrofag), (↑) angiogenesis.

Secara normal, proses kesembuhan luka segera dimulai setelah terjadi perlakuan. Prosesnya diawali dengan pembentukan fibrin untuk menutup luka dan infiltrasi sel radang terutama neutrofil. Neutrofil akan muncul pertama kali untuk membersihkan area luka dari antigen seperti bakteri, sel-sel yang sudah mati dan mengeluarkan sitokin pro inflamasi seperti *Tumor Necrosis Factor – Alpha* (TNF- α) dan *Interleukin 1-Beta* (IL-1 β) untuk membantu dan mengatur proses inflamasi yang biasanya berlangsung pada hari 1-5 pasca luka terjadi. Infiltrasi neutrofil hanya berlangsung beberapa hari, kemudian neutrofil akan mati dan difagositosis oleh makrofag. Makrofag berfungsi mempercepat proses kesembuhan luka dengan menurunkan kadar neutrofil dan peningkatan jumlah makrofag (Wahyuni, 2016).

Hasil pengamatan preparat histopatologi kulit, tampak pada kelompok kontrol negatif (K-) (**Gambar 5.5**) memiliki scoring 10 (rata-rata 10), dikarenakan kontrol negatif (K-) merupakan gambaran histopatologi kulit normal sebagai standar dari gambaran histopatologi kulit dari kelompok perlakuan lainnya. Struktur kulit normal terdiri dari dua lapisan yaitu epidermis dan dermis. Lapisan epidermis merupakan lapisan terluar yang tersusun atas keratinosit dan epitel *squamus simpleks*. Lapisan epidermis tersusun atas pembuluh darah, syaraf, endotel, kelenjar sebaceous, sel radang, serta kolagen yang dihasilkan oleh fibroblast (Chumairoh, 2010). Pada kondisi normal, sel radang seperti makrofag kulit akan tetap di temukan. Makrofag di area kulit dibagi menjadi makrofag di lapisan dermis dan sel

langerhans sebagai makrofag di lapisan epidermis kulit. Makrofag pada kulit normal, berfungsi sebagai media pertahanan kulit, fagositosis partikel dan sel yang mati dan proses apoptosis (Marquet *et al.*, 2014). Neutrofil juga dapat ditemui dalam kulit normal, namun dalam jumlah yang sedikit karena umumnya neutrofil ditemui dalam jaringan ikat yang akan bermigrasi bebas di pembuluh darah dan jaringan di sekitar untuk merespon suatu kondisi (Suwanti, 2015). Fibroblast tetap ditemukan dalam kondisi kulit normal, fibroblast berfungsi menyintesis kolagen untuk menjaga kekuatan pada kulit serta juga berfungsi dalam proses apoptosis (Chumairoh, 2010).

Pada kelompok kontrol (K+) dengan benang *Vicryl plus* (**Gambar 5.6**) memiliki scoring 4 (rata-rata 4,4) yang berarti masih dalam fase inflamasi (scoring<5). Hal tersebut tampak pada gambaran histopatologi kulit kontrol positif masih memiliki jaringan granulasi yang sangat tinggi, terdapat banyak sel-sel radang yang dapat ditemukan, terdapat sel-sel fibroblast banyak yang tersusun secara acak, dan memiliki epidermis yang lebih tebal dibandingkan dengan kelompok negatif (K-). Menurut Suwiti (2010), fase inflamasi merupakan respon lokal terhadap kerusakan jaringan serta merupakan bagian yang penting dari proses kesembuhan luka dan pertahanan tubuh. Fase inflamasi ditandai dengan aktivasi makrofag untuk menghasilkan sitokin bertujuan untuk mengeluarkan sinyal kimiawi (kemotaksis) sehingga merespon munculnya sel-sel radang seperti neutrofil yang akan menuju area luka dan memfagositosis bakteri dan sel-sel yang sudah mati. Neutrofil bekerja

dengan sangat cepat, namun juga cepat mati setelah memfagositosis. Makrofag akan muncul dan memfagositosis neutrofil yang sudah mati diikuti oleh limfosit (Wahyuni, 2016).

Menurut Primadina (2019), fase inflamasi umumnya berlangsung selama 1-5 hari. Namun pada kontrol positif (K+) masih dalam fase inflamasi pada hari ke-6 pasca perlakuan. Hal tersebut disebabkan karena pada benang *Vicryl plus* mengandung *triclosan* sebagai anti bakteri, namun efek samping dari *triclosan* dan ukuran benang yang cukup besar dapat menyebabkan iritasi pada kulit (Dann, 2011). Proses fagositosis bakteri oleh *triclosan* menimbulkan kemunculan neutrofil secara terus-menerus akibat produk yang dihasilkan oleh bakteri dan sel-sel yang rusak atau mati, sehingga kelompok kontrol positif memiliki infiltrasi sel radang yang masih sangat tinggi dan kadar jaringan granulasi juga yang masih sangat tinggi. Setelah melewati fase inflamasi, kemampuan *triclosan* dalam menekan bakteri membantu luka dalam fase proliferasi, sehingga setelah memasuki tahap proliferasi menuju maturasi luka sudah dapat dikontrol dengan baik.

Tingginya jaringan granulasi dikarenakan inflamasi yang berlangsung lama, menyebabkan jaringan fibroblast diproduksi dalam kadar yang tinggi, namun belum memasuki fase proliferasi. Proses peradangan (inflamasi) dapat berlangsung lebih lama akibat adanya iritasi, infeksi dan benda asing atau mekanik, dikarenakan rangsangan mekanik (kemotaksis) tidak hanya berasal

dari sitokin dan *grow factor* yang berasal dari granulasi platelet, namun juga dari rangsangan yang dilepas oleh protein bakteri (Suwiti, 2010).

Pada kelompok (P1) dengan benang PGA (*Vicryl*) tanpa madu (**Gambar 5. 7**) memiliki scoring 4 (rata-rata 4) yang berarti masih dalam fase inflamasi (scoring<5). Hal tersebut tampak pada gambaran histopatologi dengan jaringan granulasi yang tinggi, banyaknya infiltrasi sel radang, jaringan fibroblast yang banyak namun tersusun secara acak, terjadinya penebalan epitel dan tidak ditemukan kelenjar sebaceous di area luka insisi. Secara macros, luka yang dijahit menggunakan benang PGA sudah mulai menutup, namun tidak dapat memastikan kondisi luka secara histopatologi yang ternyata masih terdapat infiltrasi sel radang dan kadar jaringan granulasi yang masih sangat tinggi dibandingkan dengan kelompok lainnya, kondisi tingginya sel radang disebabkan karena benang PGA tidak memiliki kandungan apapun sebagai bahan aktif dalam benang, hal ini memungkinkan mikroba dan kerusakan jaringan oleh sel pada area luka tidak dapat diminimalkan kecuali perlindungan dari luar (*bandage*, *lingkungan* *pakan*), sehingga memerlukan waktu lebih lama dalam proses fagositosis bakteri dan sel-sel yang sudah rusak atau mati (Agustin, 2016).

Sel-sel radang yang ditemukan didominasi oleh *Mononuclear*, namun tidak dapat dibedakan secara spesifik apakah makrofag tipe I atau makrofag tipe II yang menandakan sudah mulai memasuki tahap proliferasi atau masih pada tahap inflamasi. Jaringan granulasi tinggi juga diakibatkan oleh fase

inflamasi yang berlangsung lama, sehingga jaringan fibroblast yang diproduksi sudah tinggi meski belum memasuki fase proliferasi. Setelah fase inflamasi, pembentukan jaringan fibroblast dan penebalan epidermis berlangsung secara normal pada kelompok dengan benang *Vicryl*, karena ukuran benang yang lebih kecil bertujuan untuk mengurangi iritasi kulit saat menjahit dan kandungan *Calcium Stearate* yang melapisi benang sehingga lebih halus dan dapat mempercepat proses absorpsi benang dalam jaringan (Shi,2015).

Pada kelompok (P2), (P3), dan (P4) merupakan kelompok yang menggunakan benang *PGA coated* madu. Berdasarkan gambaran histopatologi kulit, penggunaan benang *coated* madu memiliki efektifitas mempercepat proses penyembuhan luka, kecuali pada kelompok (P4) dengan konsentrasi madu 8%. Kelompok (P2) dan (P3) benang *coated* madu sudah memasuki tahap proliferasi dan *remodeling*, namun pada kelompok (P4) masih dalam fase inflamasi. Kelompok (P2) yang menggunakan benang *PGA coated* madu 2% (**Gambar 5. 8**) memiliki scoring 8 (rata-rata 6,2) yang menandakan luka sudah memasuki fase *remodeling* (skoring \geq 5). Berdasarkan hasil histopatologi kulit dengan jaringan granulasi yang mulai jarang, infiltrasi sel radang yang sedikit, jumlah jaringan fibroblast yang sedang, dan ketebalan epidermis yang sudah seperti epidermis normal serta terdapat kelenjar *sebaceous* di sekitar area luka. Hasil rata-rata *scoring* pada kelompok (P1) masih belum bisa mendekati *scoring* pada kelompok kulit normal (K-), hal

tersebut dikarenakan fase *remodeling* dari luka pada kelompok (P2) belum mencapai waktu *remodeling* yang sempurna, sehingga susunan kulit pada jaringan luka belum mencapai seperti susunan kulit yang normal (Wahyuni, 2016).

Luka yang sudah memasuki fase *remodeling* pada kelompok (P2) merupakan efektivitas dari kandungan madu yaitu flavonoid, saponin, dan glukosa yang berperan aktif dalam proses persembuan luka. Fase maturasi normalnya terjadi pada hari ke-21 hingga 1 tahun pasca trauma (Wahyuni, 2016), namun dengan penggunaan *coating* madu 2% proses maturasi sudah dimulai sejak hari ke-6 pasca perlakuan. Menurut Yunanda (2016), fase maturasi (*remodeling*) ditandai dengan penurunan kadar fibroblast akibat sintesis kolagen pada area kulit untuk pembentukan jaringan parut bertujuan untuk memaksimalkan kekuatan dan integritas struktural dari jaringan baru pengisi luka.

Kandungan flavonoid dalam madu berfungsi sebagai antiinflamasi dan antioksidan yang dapat melindungi dari paparan radikal bebas sehingga dapat menekan proses inflamasi (Fazriyanti, 2015). Selain itu, flavonoid juga dapat meningkatkan fungsi dari sel-sel pertahanan kulit dan dapat menurunkan permeabilitas kapiler sehingga perdarahan dapat dicegah dan dapat memperbaiki kerusakan kapiler (Zakariya, 2009). Flavonoid bekerja dengan memberikan ion hidrogen untuk menetralkan efek toksik akibat radikal bebas pada area luka, sehingga sel radang dan sitokin (TNF- α) yang diproduksi juga

akan menurun. Hal ini akan menekan proses inflamasi dan membantu mempercepat proses regenerasi sel pada area luka (Permata,2019). Saponin dalam kandungan madu berfungsi sebagai immunostimulator dalam kesembuhan luka. saponin juga berfungsi sebagai pemacu pembentukan kolagen dan pembentukan pembuluh darah baru (*angiogenesis*) (Santoso, 2018). Kandungan madu lainnya adalah glukosa sebagai antibakteri dan sumber nutrisi sehingga asupan oksigen dan nutrisi menuju area luka terpenuhi, glukosa madu mampu menyerap kandungan air yang berlebih pada area luka sehingga luka tetap dalam kondisi yang lembab sehingga meminimalkan pertumbuhan bakteri di area luka. Oleh sebab itu, proses inflamasi dapat berlangsung lebih cepat (Zakariya, 2009).

Pada kelompok (P3) dengan *coated* madu 4% (**Gambar 5. 9**) memiliki scoring 5 (rata-rata 5) menandakan kelompok (P3) sudah memasuki tahap proliferasi (Scoring \geq 5). Hal tersebut tampak pada hasil histopatologi kulit dengan kadar jaringan granulasi, jaringan fibroblast dan infiltrasi sel radang yang sedang, dan masih mengalami penebalan pada lapisan epidermis. Kelenjar *sebaceous* pada kelompok (P3) sudah terbentuk dan terusun di sekitar area luka. Menurut Syailindra (2017), fase proliferasi dimulai pada hari ke-3 hingga ke-14 pasca trauma. Fase proliferasi, fibroblast, *angiogenesis* dan re-epitelisasi sangat berpengaruh dalam proses penyembuhan luka (Gunawan, 2019).

Pada fase proliferasi jumlah sel radang akan menurun akibat makrofag yang sudah mulai digantikan oleh jaringan fibroblast yang akan memproduksi serabut kolagen di area luka. Jaringan fibroblast juga akan semakin berkurang dikarenakan fibroblast sudah meninggalkan jaringan granulasi dan adanya proses pembentukan pembuluh darah baru (*angiogenesis*). Proses sintesis fibroblast menjadi kolagen dan *angiogenesis* memiliki arti yang penting dalam kesembuhan luka. Keduanya dipengaruhi oleh aktivitas *growth factor* yang dihasilkan oleh makrofag. Pembentukan pembuluh darah baru merupakan suatu respon untuk memberikan asupan nutrisi jaringan yang sedang beregenerasi dan asupan oksigen yang cukup untuk mencegah kondisi hipoksia pada area luka (Primadina, 2019). Proses re-epitelisasi juga mempengaruhi fase proliferasi, karena semakin cepat proses re-epitalisasi, luka akan semakin cepat tertutup. Pada fase proliferasi epitel pada epidermis akan mengalami penebalan akibat proses mobilisasi, migrasi, mitosis, dan diferensiasi sel epitel, kemudian ketebalan epidermis akan kembali ke ukuran normal saat memasuki fase maturasi (*remodeling*). Semakin tebal epitel pada lapisan epidermis, semakin cepat proses re-epitalisasi sehingga proses kesembuhan luka semakin cepat (Gunawan, 2019).

Berdasarkan hasil histopatologi kelompok (P3) (**Gambar 5.9**) infiltrasi sel radang masih cukup tinggi walaupun sudah memasuki fase proliferasi. Hal tersebut akibat kandungan flavonoid dan saponin dalam madu berfungsi sebagai immunostimulator sehingga kedua zat ini dapat merangsang migrasi neutrofil

pada fase inflamasi menyebabkan kadar neutrofil menjadi lebih banyak (Izzati, 2015).

Hasil pada kelompok (P4) dengan *coated* madu 8% (**Gambar 5. 10**) yang memiliki nilai scoring 4 (rata-rata 4,6) menandakan kelompok (P4) masih pada fase inflamasi (scoring<5). Hal tersebut dapat diamati pada hasil histopatologi kulit dengan kadar jaringan granulasi dan infiltrasi sel radang yang masih tinggi, jaringan fibroblast yang juga masih cukup tinggi dengan susunan yang acak dan lapisan epidermis mulai menebal. Kelenjar *sebaceous* pada kelompok (P4) mulai terbentuk di sekitar area luka. Pada fase inflamasi kelompok (P4) infiltrasi sel radang dan jaringan granulasi pada area luka masih sangat tinggi, hal tersebut dikarenakan konsentrasi yang terlalu tinggi pada madu sehingga memberikan efek toksik pada jaringan kulit yang memicu produksi sel-sel radang yang tinggi (Rosa, 2018). Sehingga pada perawatan pasca operasi perlu ditekankan pada fase inflamasi menghindari kondisi luka kronis.

Setelah melewati fase inflamasi, produksi jaringan fibroblast dan proses re-epitelisasi pada fase proliferasi pada kelompok *coated* madu (P2), (P3), dan (P4) dapat berlangsung secara normal. Hal tersebut disebabkan oleh kandungan Saponin pada madu yang dapat membantu produksi *growth factor* dan membantu proses *angiogenesis* (Santoso, 2018). Kandungan glukosa (fruktosa) pada madu berfungsi sebagai nutrisi jaringan, kedua kandungan ini membantu dalam fase proliferasi sehingga aliran darah dan nutrisi dapat disalurkan menuju area luka serta dapat menghindari luka dari kondisi hipoksia (Zakariya, 2009).

Konsentrasi madu yang terlalu tinggi dapat memberikan efek toksik pada jaringan kulit, disebabkan oleh kandungan madu yang terlalu tinggi menyebabkan adanya penumpukan suatu antigen yang tidak dapat diserap maksimal oleh jaringan, menyebabkan sel radang muncul dalam jumlah yang tinggi sehingga menginisiasi produksi sel radang secara terus-menerus untuk memfagositosis antigen pada area luka (Rosa, 2018). Madu memiliki kandungan *quersetin* yang dapat memberikan efek toksik pada jaringan luka apabila diberikan dalam kadar konsentrasi yang tinggi (Izzati, 2015). Fase inflamasi merupakan salah satu fase penting dalam proses kesembuhan, sel radang dalam fase inflamasi akan muncul akibat adanya manifestasi antigen sehingga mekanisme perlindungan tubuh terhadap kerusakan seluler akan melepaskan sel radang menuju area luka untuk memperbaiki kerusakan dengan cara fagositosis. Infiltrasi sel radang akan semakin banyak seiring dengan kerusakan jaringan yang semakin tinggi pada jaringan di area luka akibat benda asing atau zat lain yang bersifat toksik (Permata, 2019).

Berdasarkan gambaran histopatologi kulit dari setiap kelompok, kelompok perlakuan 3 (P3) benang PGA dengan *coated* madu 2% sudah memasuki tahap *remodeling* dan memiliki gambaran yang hampir samadengan kontrol negatif (K-). Hal ini menunjukkan bahwa aplikasi *coated* madu konsentrasi 2% efektif untuk mempercepat proses penyembuhan luka berdasarkan histopatologi kulit.

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Aplikasi benang bedah *coated* madu 2% pada luka insisi tikus putih dapat menurunkan kadar TNF- α dilihat dari hasil gambaran imunohistokimia pada kulit dibandingkan dengan kontrol positif
2. Aplikasi benang bedah *coated* madu 2% pada luka insisi tikus putih berpengaruh dalam mempercepat proses kesembuhan luka dilihat dari hasil gambaran histopatologi kulit dibandingkan dengan koontrol positif.

6.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, saran yang dapat diberikan adalah perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk menghasilkan data yang lebih lengkap mengenai efektifitas dan efek toksisitas dalam aplikasi benang *coated* madu dalam proses kesembuhan luka.

DAFTAR PUSTAKA

Agustin R, Dewi N, dan Rahardja SD. 2016. Efektivitas Ekstrak Ikan Haruan (*Channa striata*) dan Ibuprofen Terhadap Jumlah Sel Neutrofil pada Proses Penyembuhan Luka. *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*. 1(1): 68-74

Carol A. F. and T. M. Wright. 1997. Cytokines in Acute and Chronic Inflammation. *Frontiers in Bioscience 2*, dl2-26: 12-26

Chumairoh, S. L. , 2010. *Hubungan Antara Perubahan Gambaran Histologis Kulit Dengan Tingkat Kesukaran Terlepasnya Bulu Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus)*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

Dann, A. B. and A. Hontela. 2011. Triclosan: Environmental Exposure, Toxicity and Mechanisms of Action. *Jurnal of Applied Toxicology* (31): 285-311.

Dorland, W. 2006. *Kamus Kedokteran Dorland*. Jakarta: EGC.

Erlinawati. L. 2016. *Paduan Getah Pepaya (Carica papaya) dan Polyvinyl Alcohol (PVA)-Glycolic Acid (GA) Sebagai Bahan Baku Benang Jahit Operasi yang Absorbable*. [Skripsi]. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang

Fatimatuzzahro, N. 2014. *Ekspresi Tumor Necrosis Factor- α dan Interleukin-1 β Sebagai Respon Pulpa Setelah Aplikasi Asam Fosfat 37% dan Ethylene Diamine Tetraacetic Acid 19%*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Jember

Fazriyanti, N. , 2015. *Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Madu dan Lama Fermentasi Terhadap pH, Total Asam, Gula Reduksi dan Potensi Antibakteri Kefir Air Leri*. [Skripsi]. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang

Fitria, L. dan M. Sarto. 2014. Profil Hematologi Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar Jantan dan Betina Umur 4, 6, dan 8 Minggu. *Biogenesis Jurnal Ilmiah Biologi*, 2(2): 94-100

Fitria, L. Mulyati, Cut M. Tiraya dan A. S. Budi. 2015. Profil Reproduksi Jantan Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar Stadia Muda, Pradewasa, dan Dewasa. *Jurnal Biologi Papua*, 7(1): 29-36

Gokturk, E. dan H. Erdal. 2017. Biomedical applications of polyglycolic acid (PGA). *Sakarya Universitesi Fen Bilimleri Entitusu Dergisi*, 21(6): 1237-1244

Gunawan, S. A., I. K. Berata, I. W. Wirata. 2019. Histopatologi Kulit pada Kesembuhan Luka Insisi Tikus Putih Pasca Pemberian *Extracellular Matrix*(ECM) yang Berasal dari Vesica Urinaria Babi. *Indonesia Medicus Veterinus* 8(3): 313-324.

Gupta, A and P. Kumar. 2015. Assessment of the Histological State of the Healing Wound. *Plast Aesthet Res* 2 (5): 239- 242

Idris, F. 2014. *Gambaran Toksikopatologi Organ Hati dan Ginjal Mencit C3H Pasca Pemberian Capsaicin*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.

Institute for Animal Studies. 2014. *Recommended Methods of Anesthesia, Analgesia, and Euthanasia for Laboratory Animal Species*. New York. Albert Einstein Collage of Medicine.

Irawati, L., N. Acang, N. Irawati. 2008. *Ekspresi Tumor Necrosis Faktor-Alfa (TNF- α) dan Inter Leukin-10 (IL-10) Pada Infeksi Malaria Falciparum*. Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Padang

Izzati, U. 2015. *Efektivitas Penyembuhan Luka Bakar Salep Ekstrak Etanol Daun Senggani (Melastoma malabathricum L.) pada Tikus (Rattus norvegicus) Jantan Galur Wistar*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. Pontianak.

Kencana, R. S. N. 2016. *Perbandingan Tingkat Penyembuhan Luka Pasca Alveoplasti Dengan Suture Absorbable dan Non-Absorbable*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Hasanuddin. Makassar.

Kusurningrum, R. S. 2008. *Buku Ajar Perancangan Percobaan*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Dani Abadi: Surabaya

Li, J., S. W. Linderman, C. Zhu, H. Liu, S. Thomopoulos, dan Y. Xia. 2017. Surgical Sutures with Porous Sheaths for the Sustained Release of Growth Factors. *Adv Mater*, 28(23):4620-4624.

Liana, Y. dan Y. A. Utama. 2018. Efektifitas Pemberian Ekstrak Daun Betadine (*Jatropha munitifida linn*) Terhadap Ketebalan Jaringan Granulasi dan Jarak Tepi Luka Pada Penyembuhan Luka Sayat Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *JKK*. 5(3): 114-123.

Marini, L., P. Sahrman, M. A. Rojas, C. Cavalcanti, G. Pompa, P. Papi and A. Pilloni. 2019. Early Wound Healing Score (EHS): An Intra- and Inter-Examiner Reliability Study. *Dentistry Journal* 7(86): 2-10

Marquet, F., Manh, T. P. V., Masonnasse, P., Elhmouzi-Younes, J., Urien, C., Bouguyon, E., Jouneau, L., Bourge, M., Simon, G., Ezquerra, A., Lecardonnell, J., Bonneau, M., Dalod, M., Schwartz-Cornil, I., Bertho, N. 2014. Pig Skin Includes Dendritic Cell Subsets Transcriptomically Related to Human CD1a and CD14 Dendritic Cells Presenting Different Migrating Behaviors and T Cell Activation Capacities. *Journal Immunology*. 193: 5883-5893.

Masanto, R., dan Agus, A. 2010. *Beternak Kelinci Potong*. Penebar Swadaya. Jakarta

Nugraha, G. A. F. 2016. *Efek Pemberian Ekstrak Etanol 70% Daun Karamunting (Rhodomyrtus tomentosa (Aiton) Hassk) Topikal Terhadap Gambaran Histopatologi Ketebalan Serat Kolagen Penyembuhan Luka Insisi Kulit Tikus Putih Galur Wistar* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Univrsitas Tanjungpura. Pontianak.

Nurwahidah. 2018. *Efektivitas Antara Pemberian Biskuit Tempe dengan Madu terhadap Penurunan Frekuensi BAB Anak Balita Diare di RSUD Haji Makassar* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Alauddin. Makassar.

Pavletic, M. M. 2018. *Atlas of Small Animal Wound Management and Reconstructive Surgery Fourth Edition*. Wiley Blackwel., Hoboken, 18

Permata, F. S. dan A. Febrianto. 2019. Salep Ekstrak Kulit Buah Naga (*Hyllicereus costaricensis*) Menurunkan Ekspresi Interleukin-2 (IL-2) dan Jumlah Sel Radang Mononuklear Terhadap Luka Terbuka di Kulit Tikus Strain Wistar. *Vet Bio Clin J*. 1(2): 24-34.

Primadina, N., A. Basori, dan D. S. Perdanakusuma. 2019. Prose Penyembuhan Luka Ditinjau Dari Aspek Mekanisme Seluler dan Molekuler. *Qanum Medika* 3(1): 31-43

Qomariah, S. 2014. *Efektivitas Salep Ekstrak Batang Patah Tulang (Euphorbia tirucalli) Pada Penyembuhan Luka Sayat Tikus Putih (Rattus norvegicus)*[Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Semarang. Semarang.

R. Lubis, K. 2017. *Gambaran Histopatologi Tumor Ganas Kulit di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara dan RSUP Haji Adam Malik Medan Tahun 2014-2016*[Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Sumatera Utara. Medan

Ramadhani, N. , S. A. Sumiwi. 2016. Aktifitas Antiinflamasi Berbagai Tanaman Diduga Berasal Dari Flavanoid. *Farmaka* 14(2): 111-123

Rianita, Y. , C. S. Widodo dan Masruroh. 2013. *Studi Identifikasi Komposisi Obat dan Limbah Balur Benzoquinon (BQ) Hasil Terapi Pembaluran Dengan Scanning Electron Microscopy (SEM)*. Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Brawijaya. Malang.

Rosa, S. A. , S. Adi, Achadiyahani, A. F. Khairani dan U. A. Lantika. 2018. Efek Gel Kentang Kuning (*Solanum tuberosum* L.) terhadap Proses Penyembuhan Luka pada Mencit (*Mus musculus*). *Global Medical and Health Communication (GMHC)* 6 (1): 21-27

Sabilarrusyidi, W. A. Kentjono. 2014. Teknik Insisi Kulit Untuk Operasi Daerah Kepala dan Leher. *Jurnal THT – KL* 7(2): 66 – 79.

Saha, P. dan A. Smith. 2019. TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α) A Paradox in Thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2018 (38):2542-2543.

Shi, X. , G. Zhang, C. Siligardi, G. Ori and A. Lazzeri. 2015. Comparison of Precipitated Calcium Carbonate/Polylactic Acid and Halloysite/Polylactic Acid Nanocomposites. *Journal of Nanomaterials.* 2015: 1-11

Siregar, K. S. 2018. *Teknik Eutanasi dan Nekropsi Tikus (*Rattus norvegicus*) di National Laboratory Animal Center (NLAC), Mahidol University, Thailand Periode 20 November – 2 Desember 2017*. [Skripsi]. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

Sitorus, M. G. 2018. *Perbandingan Waktu Penyembuhan Luka Pasca Odontektomi Dengan Menggunakan Benang Silk dan Cutgut di Rumah Sakit Umum Pirngadi Medan*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Sumatera Utara. Medan

Sujatno, A. , R. Salam, Bandriyana dan A. Dimiyati 2015. Studi *Scanning Electron Microscopy* (SEM) Untuk Karakterisasi Proses Oksidasi Paduan Zirkonium. *Jurnal Forum Nuklir (JFN)* 9 (2): 44-50

- Suwanti, L. T. dan Mufasirin. 2015. Peningkatan TNF- α dan Indeks Apoptosis Pada Tulang Mencit yang Diinfeksi *Toxoplasma gondii*. *Jurnal Kedokteran Hewan* 9 (2): 101-104
- Suwiti, N. K. 2010. Deteksi Histologik Kesembuhan Luka Pada Kulit Pasca Pemberian Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* linn). *Buletin Veteriner Udayana* 2 (1): 1-9
- Syailindra, F. 2017. *Perbedaan Penyembuhan Luka Sayat Secara Makroskopis Antara Pemberian Topikal Ekstrak Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia dengan Povidon Iodine Pada Tikus Putih Jantan (Rattus norvegicus) Galur Sprague dawley*[Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Lampung. Bandar Lampung
- Unitly, A. J. A. dan D. E. Sahertian. 2010. Deteksi Kandungan Antioksidan Superoksida Dismutase (SOD) Pada Organ Ginjal Tikus *Rattus norvegicus* dengan Pewarnaan Imunohistokimia. *Seminar Nasional Basic Science II 2 Juli 2010*: 14-20
- Wahyuni, S. 2016. *Pengaruh Pemberian Salep Fitoplankton Chlorella vulgaris Terhadap Penyembuhan Luka Sayat (Incisi) Pada Mencit (Mus musculus albinus)*[Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Wibowo, N. , A. Comariyati. 2017. Pengaruh Olesan Minyak Cengkeh (*Syzygium Aromaticum* L) Terhadap Proses Penyembuhan Luka Insisi Pada Hewan Coba Mencit (*mus musculus*) Strain Balb/c. *Jurnal Keperawatan Muhammadiyah 2 (1): 2017*
- Yunanda, V. dan T. Rinanda. 2016. Aktivitas Penyembuhan Luka Sediaan Topikal Ekstrak Bawang Merah (*Allium cepa*) terhadap Luka Sayat Kulit Mencit (*Mus Musculus*). *Jurnal Veteriner* 17 (4): 606-614
- Zakariya, M. , I. K. Sudiana, E. D. Wahyuni. 2009. Efektifitas Perawatan Luka Insisi Dengan Madu dan Povidon Iodin 10%. *Jurnal Ners*. 4(1): 1-8
- Zhao, Z. *et al.* 2019. The Proinflammatory Cytokine TNF- α Induces DNA Demethylation Dependent and Independent Activation of Interleukin-32 Expression. *J. Biol. Chem Papers in Press*. 2019: 1-18
- Zulfa, E. Nurachmah, dan D. Gayatri. 2008. Perbandingan Penyembuhan Luka Terbuka Menggunakan Balutan Madu atau Balutan Normal Salin-Povidon Iodine. *Jurnal Keperawatan Indonesia*, 12 (1); 34-39



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LAMPIRAN

Lampiran 1. Sertifikasi *ethical clearance* penelitian



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
 UNIVERSITAS BRAWIJAYA
 FAKULTAS KEDOKTERAN
 KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
 Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
 Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755
 http://www.fk.ub.ac.id e-mail : kep.fk@ub.ac.id

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
 ("ETHICAL CLEARANCE")

No. 276 / EC / KEPK / 10 / 2019

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

JUDUL : Karakterisasi dan Aplikasi Benang Bedah *Poly Glycolic Acid* (PGA) yang Diperkaya Madu terhadap Percepatan Kesembuhan Luka Insisi Fase Proliferasi.

PENELITI UTAMA : drh. Fajar Shodiq Permata., M.Biotech

ANGGOTA :

- 1. Dr. Nasikhudin, S.Pd., M.Sc
- 2. drh. M. Arfan Lesmana., M.Sc
- 3. drh. Ajeng Aeka N., M.Sc
- 4. drh. Andreas Bandang Hardian, M.VSc
- 5. Wibi Riawan, S.Si., M.Sc
- 6. Michael Gunawan
- 7. Kartika Ningsih
- 8. Saras Suciati
- 9. Vivi Oktavia
- 10. Nurika Yuli Purwanti

UNIT / LEMBAGA : Fakultas Kedokteran Hewan - Universitas Brawijaya Malang.

TEMPAT PENELITIAN : Laboratorium Histologi FKH UB, Laboratorium Fisika Material FMIPA UM, dan Laboratorium Biokimia FK UB

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Malang, 2019
 Ketua


 Prof. Dr. dr. Moch. Istiaqid ES, Sp.S, Sp.BS(K), SH, M.Hum, Dr(Hk)
 NIPK. 20130226854611001

Catatan :
 Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan
 Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy. Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol)



Lampiran 2. Hasil pengujian analisa kualitatif madu

2.1 Madu Hitam dan Madu Randu



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA
 Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu
KOTA BATU 65313

Nomor : 074 / 91D / 102.7 / 2019
 Sifat : Biasa
 Perihal : Surat Keterangan Analisa Kualitatif

Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :

1. Identitas Pemohon



Nama	NIP / NIM	Instansi
drh. Fajar Shidiq Permata, M.Biotech	198705012015041001	Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya Malang
drh. M. Arfan Lesmana, M.Sc	2013098410041001	
drh. Ajeng Aeka N. M.Sc	2013048608212001	
Michael Gunawan	165130100111024	
Kartika Ningsih	165130101111013	
Nurika Yuli Purwanti	165130101111063	
Vivi Oktavia	165130101111062	
Saras Suciati	165130107111033	

2. Identitas Sampel
 Nama daerah sampel : Madu Hitam dan Madu Randu
 Bentuk sampel : Cair
 Tanggal penerimaan : 09 September 2019
 Tanggal pemeriksaan : 11 September 2019

3. Hasil

No	Identifikasi Senyawa	Parameter	Sampel	Hasil
1.	Flavonoid	Merah Bata, Merah Muda, Merah Tua	Madu Hitam Madu Randu	Positif Negatif

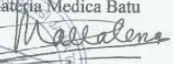
4. Lampiran

Nama Sampel	Flavonoid
Madu Hitam	
Madu Randu	

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, 12 September 2019
 Kepala UPT Laboratorium Herbal
 Materia Medica Batu

Dr. Husin RM, Drs. Apt. MKes.
 NIP.19611102.199103.1.003



2.2. Madu Bunga Kaliandra

UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA
 Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu
KOTA BATU 65313

Nomor : 074 / 89D / 102.7 / 2019
 Sifat : Biasa
 Perihal : Surat Keterangan Analisa Kualitatif

Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :

1. Identitas Pemohon




Nama	NIP / NIM	Instansi
drh. Fajar Shidiq Permata, M.Biotech	198705012015041001	Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya Malang
drh. M. Arfan Lesmana, M.Sc	2013098410041001	
drh. Ajeng Aeka N, M.Sc	2013048608212001	
Michael Gunawan	165130100111024	
Kartika Ningsih	165130101111013	
Nurika Yuli Purwanti	165130101111063	
Vivi Oktavia	165130101111062	
Saras Suciati	165130107111033	


2. Identitas Sampel
 Nama daerah sampel : Madu Bunga Kaliandra
 Bentuk sampel : Cair
 Tanggal penerimaan : 20 Agustus 2019
 Tanggal pemeriksaan : 21 Agustus 2019

3. Hasil

No	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil
1.	Alkaloid		
	Meyer	Endapan Putih	Positif
	Dragendrof	Endapan Jingga	Negatif
	Bouchardat	Endapan Cokelat	Positif
2.	Flavonoid	Merah Bata, Merah Muda, Merah Tua	Negatif
3.	Saponin	Busa Permanen	Positif

4. Lampiran

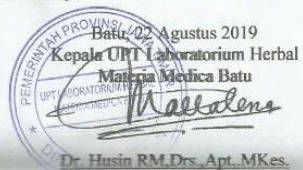
Nama Sampel	Alkaloid		
	Meyer	Dragendrof	Bouchardat
Madu Bunga Kaliandra			

Nama Sampel	Flavonoid	Saponin
	Madu Bunga Kaliandra	

5. Pustaka

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

Demikian disampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.


 Kepala UPT Laboratorium Herbal
 Materia Medica Batu
 Dr. Husin RM.Drs. Apt. MKes.

2.3. Madu Hitam

REPUBLIC OF INDONESIA
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA
Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396, Batu
KOTA BATU

65313

Nomor : 074 / 95D / 102.7 / 2019
Sifat : Biasa
Perihal : Surat Keterangan Analisa Kualitatif

Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :

1. Identitas Pemohon





Nama	NIP / NIM	Instansi
drh. Fajar Shidiq Permata, M.Biotech	198705012015041001	Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya Malang
drh. M. Arfan Lesmana, M.Sc	2013098410041001	
drh. Ajeng Acka N, M.Sc	2013048608212001	
Michael Gunawan	165130100111024	
Kartika Ningsih	165130101111013	
Nurika Yuli Purwanti	165130101111063	
Vivi Oktavia	165130101111062	
Saras Suciati	165130107111033	

2. Identitas Sampel
Nama daerah sampel : Madu Hitam
Bentuk sampel : Cair
Tanggal penerimaan : 13 September 2019
Tanggal pemeriksaan : 17 September 2019

3. Hasil

No	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil
1.	Alkaloid		
	Meyer	Endapan Putih	Negatif
	Dragendrof	Endapan Jingga	Negatif
	Bouchardat	Endapan Cokelat	Negatif
2.	Saponin	Busa Permanen	Positif

4. Lampiran

Nama Sampel	Alkaloid			Saponin
	Meyer	Dragendrof	Bouchardat	
Madu Hitam				

5. Pustaka

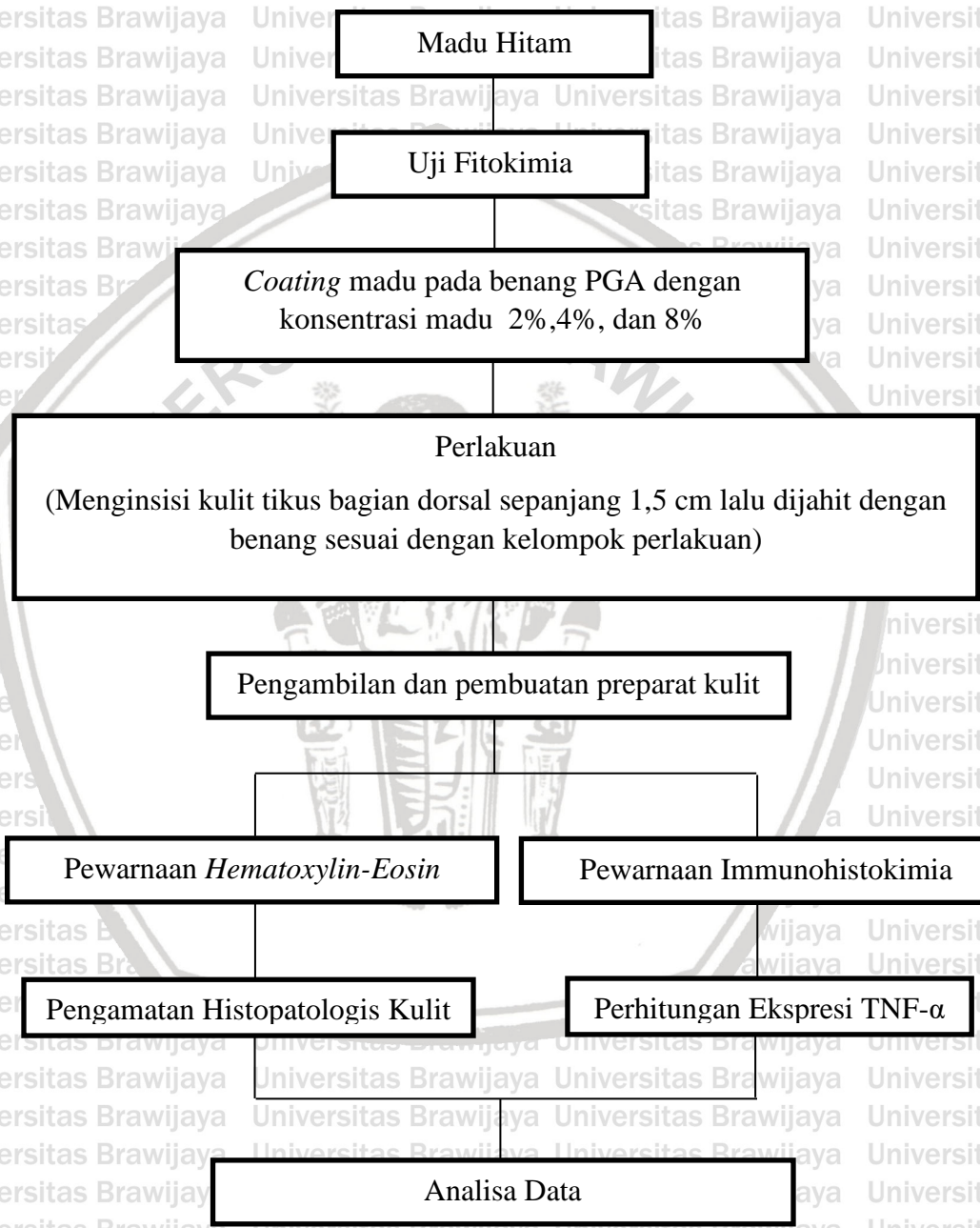
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1978. "Materia Medika Indonesia", Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.

Demikian disampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

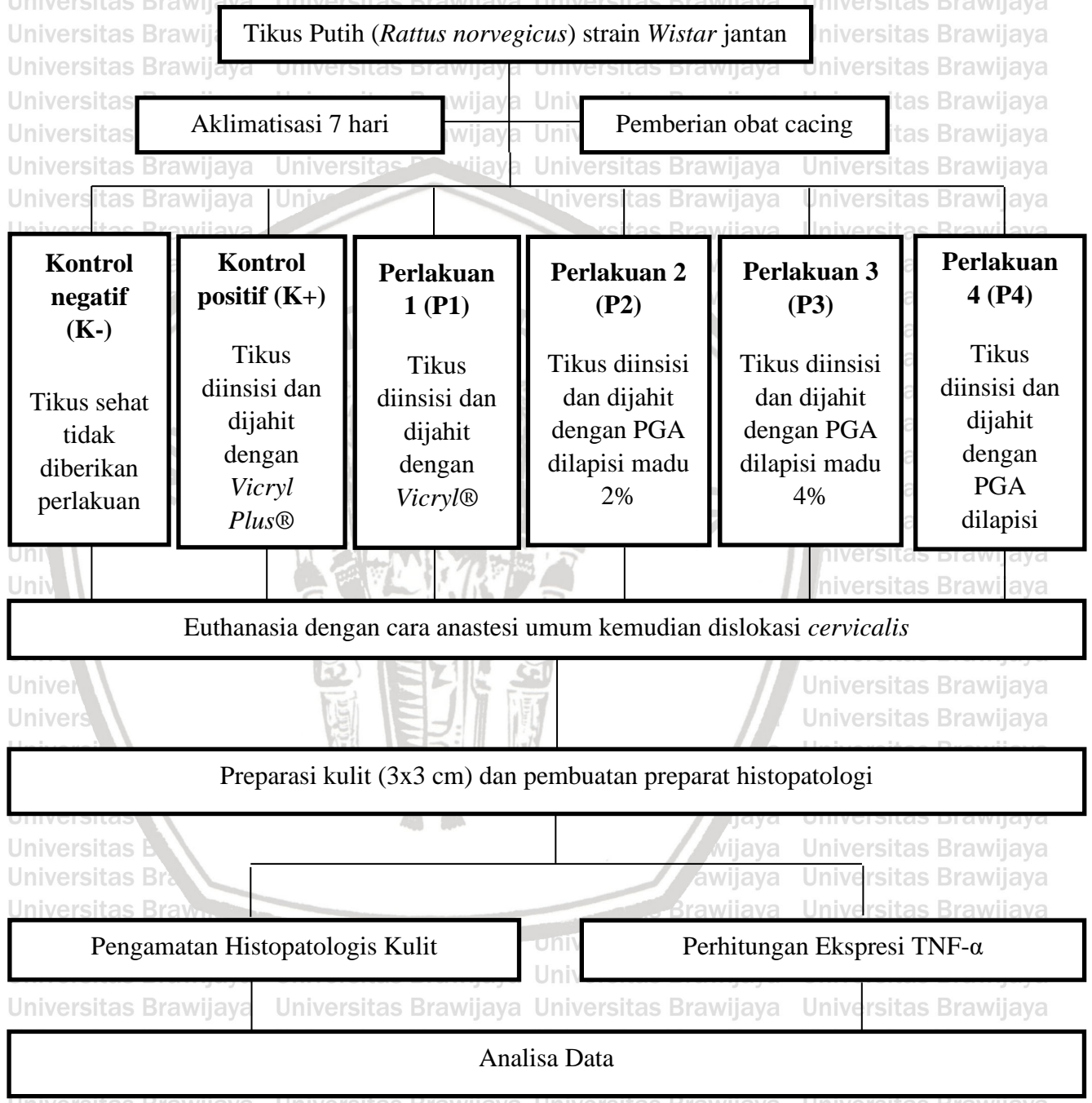
Batu, 18 September 2019
Kepala UPT Laboratorium Herbal
Materia Medica Batu
[Signature]
Dr. Husein RM Drs., Apt. MKes.
NIP.19611102 199103 1 003

Lampiran 3. Alur Penelitian dan Skema Perlakuan

A. Alur Penelitian



B. Skema Perlakuan



Lampiran 4. Perhitungan Dosis *Coating* Benang dengan Madu Hitam

1. Konsentrasi 2%

a. Benang

Panjang benang (t) = 760 mm

Diameter (d) = 0,09 mm → jari-jari (r) = 0,045

Luas permukaan benang = (2 . π . r) t
 = (2 . 3,14 . 0,045) 760
 = 0,2826 x 760
 = 214,8 mm²

b. Volume *coating* madu 2%

1% = 1 liter/m²

= 1 ml/1000mm²

2% benang:

Volume = % x luas permukaan benang
 = 2 x $\frac{1 \text{ ml}}{1000 \text{ mm}^2}$ x 214,8 mm²
 = 0,4296 ml

2. Konsentrasi 4%

a. Benang

Panjang benang (t) = 755 mm

Diameter (d) = 0,09 mm → jari-jari (r) = 0,045

Luas permukaan benang = (2 . π . r) t
 = (2 . 3,14 . 0,045) 755
 = 0,2826 x 755
 = 213,4 mm²

b. Volume *coating* madu 4%

1% = 1 liter/m²

= 1 ml/1000mm²



4% benang:

$$\begin{aligned} \text{Volume} &= \% \times \text{luas permukaan benang} \\ &= 4 \times \frac{1 \text{ ml}}{1000 \text{ mm}^2} \times 213,4 \text{ mm}^2 \\ &= 0,8536 \text{ ml} \end{aligned}$$

3. Konsentrasi 8%

a. Benang

$$\begin{aligned} \text{Panjang benang (t)} &= 75,5 \text{ mm} \\ \text{Diameter (d)} &= 0,09 \text{ mm} \rightarrow \text{jari-jari (r)} = 0,045 \end{aligned}$$

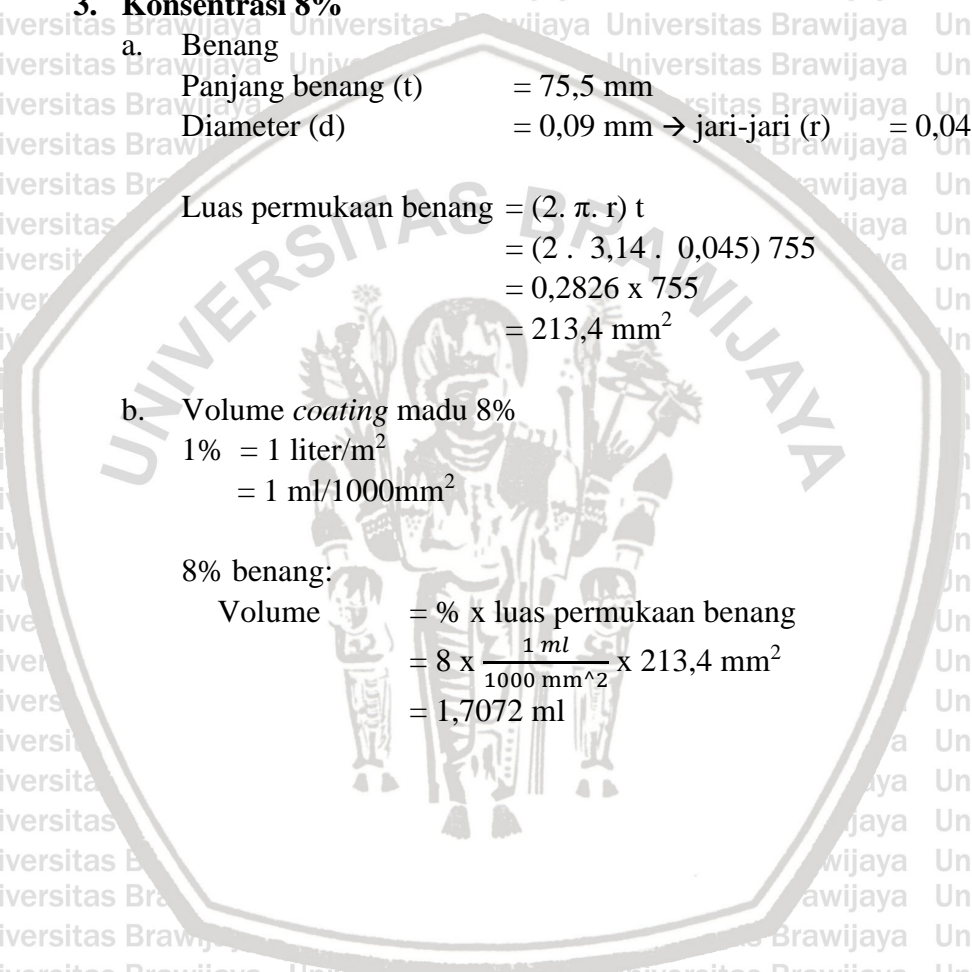
$$\begin{aligned} \text{Luas permukaan benang} &= (2 \cdot \pi \cdot r) \cdot t \\ &= (2 \cdot 3,14 \cdot 0,045) \cdot 755 \\ &= 0,2826 \times 755 \\ &= 213,4 \text{ mm}^2 \end{aligned}$$

b. Volume coating madu 8%

$$\begin{aligned} 1\% &= 1 \text{ liter/m}^2 \\ &= 1 \text{ ml/1000mm}^2 \end{aligned}$$

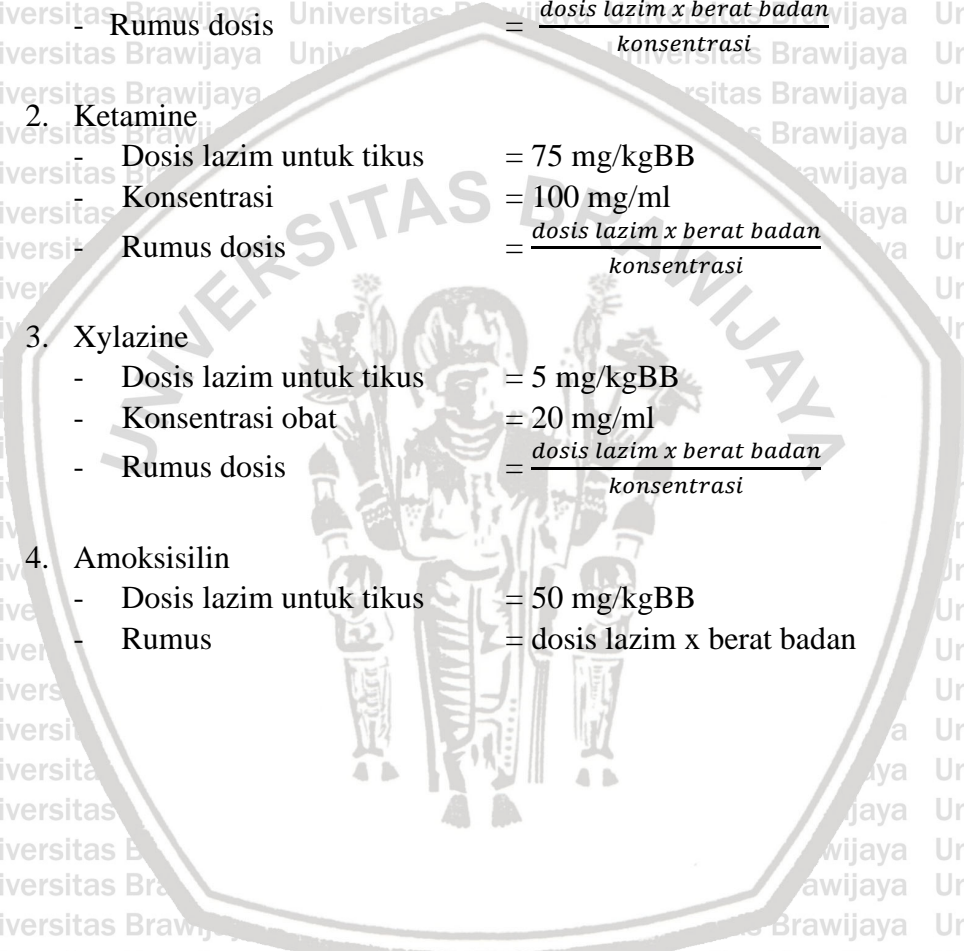
8% benang:

$$\begin{aligned} \text{Volume} &= \% \times \text{luas permukaan benang} \\ &= 8 \times \frac{1 \text{ ml}}{1000 \text{ mm}^2} \times 213,4 \text{ mm}^2 \\ &= 1,7072 \text{ ml} \end{aligned}$$



Lampiran 5. Dosis Albendazole, Ketamine, Xylazine, dan Amoksisilin pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)







1. Albendazole
 - Dosis lazim untuk tikus = 150 mg/kgBB
 - Konsentrasi = 20 mg/ml
 - Rumus dosis = $\frac{\text{dosis lazim} \times \text{berat badan}}{\text{konsentrasi}}$
2. Ketamine
 - Dosis lazim untuk tikus = 75 mg/kgBB
 - Konsentrasi = 100 mg/ml
 - Rumus dosis = $\frac{\text{dosis lazim} \times \text{berat badan}}{\text{konsentrasi}}$
3. Xylazine
 - Dosis lazim untuk tikus = 5 mg/kgBB
 - Konsentrasi obat = 20 mg/ml
 - Rumus dosis = $\frac{\text{dosis lazim} \times \text{berat badan}}{\text{konsentrasi}}$
4. Amoksisilin
 - Dosis lazim untuk tikus = 50 mg/kgBB
 - Rumus = dosis lazim x berat badan



Lampiran 6. Foto Perlakuan Penelitian

		
<p>Pemberian anestesi umum secara intraperitoneal</p>	<p>Cukur area yang akan di incisi</p>	<p>Sterilisasi area yang akan di incisi dengan iodin</p>
		
<p>Incisi sepanjang 1,5 cm di area dorsum</p>	<p>Ukur luka incisi untuk memastikan panjang luka</p>	<p>Luka dijahit secara <i>simple interrupted</i> 3 simpul</p>
		
<p>Luka dibandage untuk menghindari kontaminasi</p>	<p>Panjang luka diukur setiap hari untuk melihat perkembangan luka</p>	

Lampiran 7. Foto Proses Pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE)

		
Metode <i>trimming</i>	Metode dehidrasi	Metode <i>clearing</i>
		
Proses pewarnaan HE	Pemberian entelan pada preparat	Preparat dikeringkan sebelum diamati



Lampiran 8. Foto Proses Pewarnan Imunohistokimia (IHK)

		
Rehidrasi preparat pada larutan xylol	Rehidrasi preparat pada alkohol absolute	Preparat ditetesi serum buffer sebagai <i>blocking</i>
		
Preparat Peroxidase Block ditetesi	Tetesan Ab primer (Ab <i>mouse monoclonals</i> spesifik terhadap TNF- α (kat: Sc-52746))	Tetesan Ab sekunder berupa Kit-Ab (<i>Universal Immunostaining - Kit</i>)
		
Tetesan enzim S-HRP	Tetesan entelan untuk melekatkan <i>cover glass</i>	Diamkan semalaman preparat sebelum diamati

Lampiran 9. Hasil Uji Statistik dengan *One Way ANOVA* Pada Ekspresi TNF- α

9.1. Uji Normalitas

Tests of Normality

KELOMPOK	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
AREA_EKSPRESI_TNF_ F_ALFA KONTROL	.285	5	.200*	.850	5	.195
NEGATIF						
VICRYL PLUS	.202	5	.200*	.973	5	.894
PGA	.214	5	.200*	.972	5	.889
PGA + MADU 2%	.219	5	.200*	.970	5	.877
PGA + MADU 4%	.265	5	.200*	.896	5	.388
PGA + MADU 8%	.179	5	.200*	.942	5	.683

*. This is a lower bound of the true significance.
 a. Lilliefors Significance Correction

9.2. Uji Homogenitas Varian

Test of Homogeneity of Variances

AREA_EKSPRESI_TNF_ ALFA		Levene			
		Statistic	df1	df2	Sig.
ALFA	Based on Mean	1.876	5	24	.136
	Based on Median	.945	5	24	.470
	Based on Median and with adjusted df	.945	5	13.028	.484
	Based on trimmed mean	1.834	5	24	.144

Berdasarkan uji normalitas dan homogenitas, diperoleh hasil dengan nilai yang signifikan ($p > 0,05$) menandakan H_0 diterima. Sehingga data tersebut sudah memenuhi syarat untuk pengujian ANOVA.

9.3. Deskriptif

Descriptives								
AREA_EKSPRESI_TNF_ALFA								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
KONTROL NEGATIF	5	20.7840	3.97898	1.77945	15.8434	25.7246	14.78	23.96
VICRYL PLUS	5	72.8360	6.35719	2.84302	64.9425	80.7295	63.66	81.28
PGA	5	53.1160	16.22602	7.25650	32.9687	73.2633	30.64	74.76
PGA + MADU 2%	5	31.7920	7.46397	3.33799	22.5243	41.0597	21.24	40.96
PGA + MADU 4%	5	69.0840	13.28059	5.93926	52.5940	85.5740	48.12	81.46
PGA + MADU 8%	5	62.3280	7.11436	3.18164	53.4944	71.1616	52.10	69.52
Total	30	51.6567	21.56703	3.93758	43.6034	59.7099	14.78	81.46

9.4. One Way ANOVA

ANOVA

AREA_EKSPRESI_TNF_ALFA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11080.048	5	2216.010	22.078	.000
Within Groups	2408.917	24	100.372		
Total	13488.965	29			

9.5. Uji Tukey

AREA_EKSPRESI_TNF_ALFA

Tukey HSD^a

KELOMPOK	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
KONTROL NEGATIF	5	20.7840		
PGA + MADU 2%	5	31.7920		
PGA	5		53.1160	
PGA + MADU 8%	5		62.3280	62.3280
PGA + MADU 4%	5		69.0840	69.0840
VICRYL PLUS	5			72.8360
Sig.		.522	.158	.570

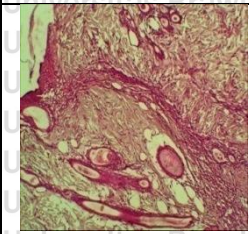
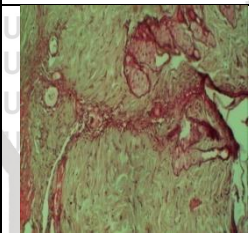
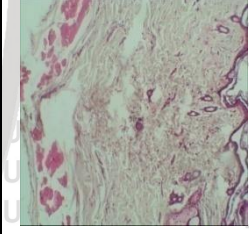
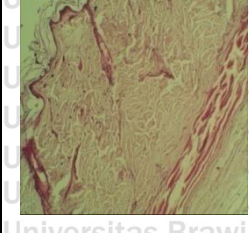
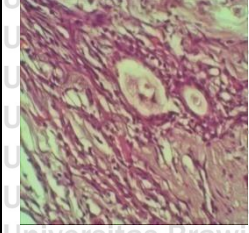
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

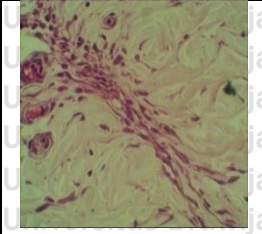
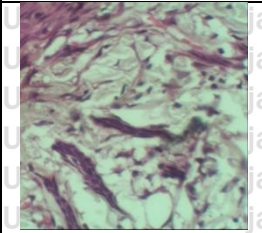
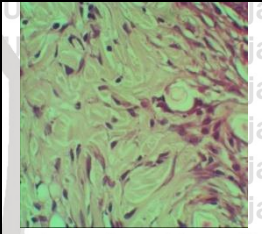
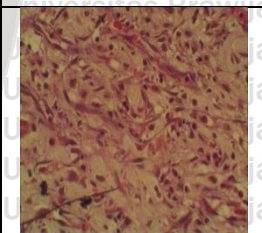
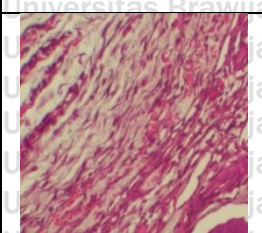
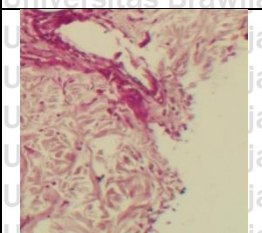
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

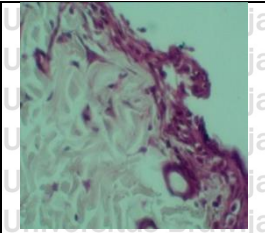
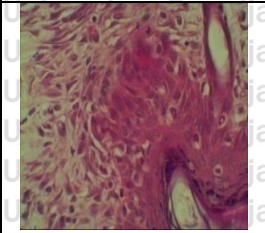
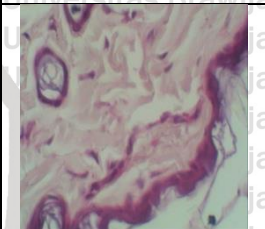


Lampiran 10. Hasil Skoring dan Pengamatan Histopatologi pada Kulit

A. Parameter scoring kesembuhan luka menurut Marini (2018) dan Gupta (2015)

No.	Parameter	Deskriptif	Skoring	Gambar
1.	Jumlah jaringan granulasi	Jaringan granulasi tinggi	0	
		Jaringan granulasi sedang	1	
		Jaringan granulasi jarang	2	
		Tidak ada jaringan granulasi	3	
2.	Infiltrasi sel radang	Infiltrasi sel radang tinggi	0	

		Infiltrasi sel radang sedang	1	
		infiltrasi sel radang rendah	2	
3.	Jumlah fibroblast	Jumlah fibroblast jarang	0	
		jumlah fibroblast sedang	1	
		jumlah fibroblast tinggi	2	
4.	Tebal Epidermis	Tidak ada lapisan epidermis	0	

	Lapisan epidermis mulai terbentuk	1	
	Penebalan lapisan epidermis	2	
	Ketebalan epidermis normal	3	

B. Hasil scoring kesembuhan luka pada luka insisi tikus putih

		SKORING				
Kelompok	Ulangan	Jaringan granulasi (0-3)	Sel radang (0-2)	Jumlah Fibroblas (0-2)	Tebal Epidermis (0-3)	Total
NEGATIF	Negatif 1	3	2	2	3	10
	Negatif 2	3	2	2	3	10
	Negatif 3	3	2	2	3	10
	Negatif 4	3	2	2	3	10
	Negatif 5	3	2	2	3	10
	TOTAL		15	10	10	15
RATA-RATA		3	2	2	3	10
K (+) <i>Vicryl plus</i>	(+) 1A	1	1	1	2	5
	(+) 2C	0	0	2	2	4
	(+) 3D	1	1	1	2	5

	(+) 4E	1	2	1	0	4
	(+) 5F	0	0	2	2	4
	TOTAL	3	4	7	8	22
RATA-RATA		0,6	0,8	1,4	1,6	4,4
(P1) PGA tanpa madu	1G	0	0	1	2	3
	2H	1	0	2	2	5
	3I	0	0	2	2	4
	4J	1	1	1	2	5
	5K	0	0	1	2	3
	TOTAL	2	1	7	10	20
RATA-RATA		0,4	0,2	1,4	2	4
(P2) PGA + madu 2%	1A	2	2	2	3	9
	2B	2	2	1	3	8
	3C	1	0	2	1	4
	4D	2	2	2	0	6
	5E	1	0	1	2	4
	TOTAL	8	6	8	9	32
RATA-RATA		1,6	1,2	1,6	1,8	6,2
(P3) PGA + madu 4%	1F	0	0	2	1	3
	2G	1	1	1	2	5
	3H	2	2	1	2	7
	4I	0	0	2	2	4
	5J	2	1	1	2	6
	TOTAL	5	4	7	9	25
RATA-RATA		1	0,8	1,4	1,8	5
(P4) PGA + madu 8%	1K	1	1	1	2	5
	2L	1	0	2	2	5
	3M	0	0	2	2	4
	4N	1	1	1	2	5

	50	0	2	2	0	4
TOTAL		3	4	8	8	23
RATA-RATA		0,6	0,8	1,6	1,6	4,6



C. Deskripsi Hasil Histopatologi Setiap Lapisan Kulit dari Masing-masing Kelompok

No.	Parameter	Lapisan Kulit	Kontrol Negatif (K-)	Kontrol Positif (K+)	P1 (PGA / Vicryl)	P2 (PGA+Madu 2%)	P3 (PGA+Madu 4%)	P4 (PGA+Madu 8%)
1.	Jaringan Granulasi	Epidermis	Tidak terdapat jaringan granulasi	Jaringan granulasi cukup tinggi dan terdapat keropeng	Jaringan granulasi cukup tinggi, <i>angiogenesis</i> , dan terdapat keropeng	Tidak terdapat jaringan granulasi	Jaringan granulasi dalam kadar sedang, proses <i>angiogenesis</i> lebih dominan pada lapisan epidermis	Jaringan granulasi dalam kadar sedang, proses <i>angiogenesis</i> lebih dominan pada lapisan epidermis
		Dermis (S. Papillaris)	Tidak terdapat jaringan granulasi	jaringan granulasi masih sangat tinggi di area incisi (dominan sel radang)	jaringan granulasi masih sangat tinggi di area incisi (dominan sel radang dan <i>angiogenesis</i>).	Jaringan granulasi sangat jarang	Jaringan granulasi mulai berkurang dengan kadar sel radang yang mulai menurun	jaringan granulasi pada area incisi masih sangat tinggi oleh sel radang dan <i>angiogenesis</i>
		Dermis (S. Retikularis)	Tidak terdapat jaringan granulasi	Jaringan granulasi masih sangat tinggi dan mulai terbentuk	Jaringan granulasi masih sangat tinggi, mulai terbentuk fibroblast, dan	Jaringan granulasi masih sangat tinggi, mulai terbentuk sel fibroblast, dan <i>sebaceous</i> di	Jaringan granulasi sangat jarang dan sudah terbentuk sel	Jaringan granulasi mulai berkurang dengan kadar sel radang

				fibroblast.	lebih banyak	lapisan dermis.	yang mulai	<i>angiogenesis</i>
		Hipodermis	Tidak terdapat jaringan granulasi	Jaringan granulasi cukup tinggi	Jaringan granulasi di dominasi oleh sel radang.	Tidak terdapat jaringan granulasi	jaringan granulasi yang masih terbentuk lebih dominan pada sel radang	jaringan granulasi pada area insisi masih sangat tinggi dengan proses dan <i>angiogenesis</i>
2.	Infiltrasi Sel Radang	Epidermis	sel radang berupa makrofag kulit (<i>sel langerhans</i>)	Sel radang cukup banyak, di dominasi oleh sel makrofag	Sel radang sangat tinggi, di dominasi sel makrofag	sel radang berupa makrofag kulit (<i>sel langerhans</i>)	Infiltrasi sel radang yang masih cukup banyak (sedang), dominan oleh sel makrofag	Infiltrasi sel radang yang masih banyak (tinggi), dominan oleh sel makrofag
		Dermis (S. Retikularis)	Sel radang berupa sel makrofag kulit	Sel radang masih sangat banyak, di dominasi oleh sel makrofag dan neutrofil	Sel radang masih sangat tinggi yang tersusun dibawah lapisan epidermis dan menyebar di area insisi, dominasi sel	Sel radang sangat jarang ditemukan pada area dermis, dominan oleh sel makrofag	Sel radang sudah mulai berkurang dan hanya tersebar pada area insisi, dominan sel neutrofil dan makrofag	Infiltrasi sel radang masih sangat tinggi pada area insisi dan sekitarnya, dominan sel neutrofil dan makrofag

					makrofag dan neutrofil.		
	Dermis (S. Papillaris)	Sel radang berupa sel makrofag kulit	Sel radang lebih banyak dibanding dengan S. reticularis, dominan sel neutrosil dan makrofag.	Sel radang sangat tinggi dan menyebar di seluruh area S. papillaris, dominan sel makrofag dan neutrofil.	Sel radang sangat jarang ditemukan pada area dermis, dominan oleh sel makrofag	Sel radang mulai berkurang dan hanya terdapat pada area incisi, dominansi sel makrofag dan neutrofil	Infiltrasi sel radang masih sangat tinggi pada area incisi dan sekitarnya, dominan sel neutrofil dan makrofag
	Hipodermis	Sel radang berupa sel makrofag kulit	Sel radang tinggi dan menyebar.	Sel radang menyebar dalam jumlah yang masih banyak.	Sel radang sangat sedikit pada area hipodermis.	Infiltrasi sel radang pada lapisan ini masih cukup tinggi dibandingkan pada lapisan lainnya	Area hypodermis masih sangat tipis, sehingga infiltrasi sel radang pada jaringan lebih mendominasi
3.	Jaringan Fibroblast	Epidermis Tidak terdapat jaringan fibroblast di lapisan epidermis	tidak terdapat jaringan fibroblast di lapisan epidermis	Tidak terdapat jaringan fibroblast di epidermis	Tidak terdapat jaringan fibroblast di epidermis	Tidak terdapat jaringan fibroblast di epidermis	Tidak terdapat jaringan fibroblast di epidermis
	Dermis (S. Retikularis)	jaringan fibroblast	Jaringan fibroblast	Jaringan fibroblast	Jaringan fibroblast	jaringan fibroblast	Jumlah fibroblast



		dalam kadar normal	cukup banyak, tersusun acak	mulai banyak, namun kolagen yang terbentuk masih jarang.	semakin berkurang dan kadar kolagen yang semakin meningkat	sudah mulai berkurang dan kolagen sudah mulai terbentuk	masih cukup tinggi dengan kolagen yang masih tersusun acak dan terdapat banyak <i>angiogenesis</i>
	Dermis (S. Papillaris)	Jaringan fibroblast lebih banyak dibandingkan dengan S. papillaris	Jaringan fibroblast lebih padat dibandingkan namun tersusun acak	Jaringan fibroblast yang terbentuk lebih padat dan tersusun acak.	Fibroblast lebih sedikit pada lapisan ini, namun kolagen semakin padat.	jaringan fibroblast semakin berkurang sebanding dengan peningkatan jumlah kolagen yang semakin rapat	Jaringan fibroblast masih cukup banyak dengan kolagen yang masih renggang pada lapisan ini dan terdapat proses <i>angiogenesis</i>
	Hipodermis	Berupa jaringan ikat longgar yang lebih jarang dibandingkan dengan lapisan dermis.	Jumlah jaringan fibroblast masih sangat rendah	Jaringan fibroblast mulai mengisi area hipodermis	Jaringan ikat yang terbentuk berupa jaringan ikat longgar sehingga tampak jarang-jarang.	Jaringan ikat longgar pada hipodermis mulai tersusun merata di semua area.	area hipodermis masih sangat tipis, sehingga fibroblast pada area ini masih sangat sedikit.



4.	Tebal Epidermis	Epidermis	Ketebalan epidermis normal	Mulai terjadi penebalan lapisan epidermis yang sudah menyatu .	Terjadi penebalan lapisan epidermis dan sudah menyatu sempurna	Ketebalan epidermis sudah kembali pada ukuran normal	Terjadi penebalan lapisan epidermis dan sudah menyatu sempurna	Terjadi penebalan lapisan epidermis yang sudah menyatu
	Lapisan lainnya	Lapisan Dermis dan Hipodermis	Lapisan dermis dan hypodermis menyatu sempurna.	Lapisan dermis belum terbentuk dengan sempurna dan masih terdapat granulasi insisi.	Lapisan dermis dan hypodermis belum tersusun secara sempurna dan masih terdapat granulasi insisi.	Lapisan dermis dan hypodermis sudah menyatu dengan sempurna dan susunan kolagen yang sudah sangat kuat, jaringan granulasi juga sudah terlihat pada area dermis.	Lapisan dermis sudah menyatu dengan sempurna, namun susunan dari lapisan dermis belum sempurna dan masih terdapat granulasi insisi.	Susunan sel-sel pada dermis belum tersusun secara sempurna, namun bagian dermis sudah mulai menyatu dengan jaringan granulasi pada area insisi