

**PENGARUH PEMBERIAN SALEP KEFIR KOMBINASI LIDAH
BUAYA (*Aloe vera* L.) TERHADAP PERKEMBANGAN
EPIDERMIS DAN JUMLAH FIBROBLAS
SEBAGAI PENYEMBUHAN LUKA
INSISI PADA TIKUS
(*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

**Oleh :
RIZKA SURYANING DEWI
125130101111048**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

**Pengaruh Pemberian Salep Kefir Kombinasi Lidah Buaya (*Aloe vera L.*)
Terhadap Perkembangan Epidermis dan Jumlah Fibroblas Sebagai
Penyembuhan Luka Insisi Pada Tikus (*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :

RIZKA SURYANING DEWI

125130101111048



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

LEMBAR PENGESAHAN LAPORAN SKRIPSI

**Pengaruh Pemberian Salep Kefir Kombinasi Lidah Buaya (*Aloe vera L.*)
Terhadap Perkembangan Epidermis dan Jumlah Fibroblas Sebagai
Penyembuhan Luka Insisi Pada Tikus (*Rattus norvegicus*)**

Oleh :

RIZKA SURYANING DEWI

125130101111048

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 24 Oktober 2016
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Agung Pramana W. M, M.Si
NIP. 196506161991111001

drh. Analis Wisnu W., M.Biomed
NIP. 19800904 200812 1 001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

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

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Rizka Suryaning Dewi

Nim : 125130101111048

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

Pengaruh Pemberian Salep Kefir Kombinasi Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) Terhadap Perkembangan Epidermis Dan Jumlah Fibroblas Sebagai Penyembuhan Luka Insisi Pada Tikus (*Rattus norvegicus*)

Dengan ini menyatakan bahwa:

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

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang,
Yang menyatakan,

Rizka Suryaning Dewi
NIM.125130101111048

**Pengaruh Pemberian Salep Kefir Kombinasi Lidah Buaya (*Aloe vera L.*)
Terhadap Perkembangan Epidermis dan Jumlah Fibroblas Sebagai
Penyembuhan Luka Insisi Pada Tikus
(*Rattus norvegicus*)**

ABSTRAK

Luka adalah rusaknya sebagian jaringan tubuh yang disebabkan oleh trauma benda tajam atau tumpul, perubahan temperatur, zat kimia, ledakan, sengatan listrik, atau gigitan hewan. Luka dibagi menjadi dua yaitu luka terbuka dan luka tertutup. Contoh luka tertutup adalah hematom dan contoh luka terbuka ialah luka insisi. Luka insisi yaitu terdapat robekan lurus pada kulit dan jaringan di bawahnya. Penyembuhan luka terkait dengan regenerasi sel sampai fungsi organ tubuh kembali pulih, ditunjukkan salep kefir kombinasi lidah buaya digunakan sebagai terapi penyembuhan luka karena memiliki kemampuan sebagai antiinflamasi dan regenerasi sel. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh terapi salep kefir kombinasi lidah buaya terhadap peningkatan perkembangan epidermis dan penurunan jumlah fibroblas dalam penyembuhan luka insisi. Penelitian ini bersifat eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Hewan model menggunakan tikus *strain wistar* jantan dengan umur 8-12 minggu dan berat badan 150-250 gram yang dibagi dalam lima kelompok perlakuan. Penelitian ini menggunakan lima kelompok tikus, yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan salep kefir kombinasi lidah buaya 25%, 37,5%, dan 50% pada daerah luka insisi dan diberikan sehari satu kali. Hasil pengamatan histopatologi dianalisis secara kuantitatif menggunakan *Microsoft excel* dan *SPSS for windows* dengan analisis statistik ragam ANOVA satu arah dan uji lanjutan uji *Tukey* $\alpha = 0,05$. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian salep kefir kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 37,5% dapat berpengaruh secara signifikan dalam meningkatkan perkembangan epidermis dan menurunkan jumlah fibroblas pada tikus yang dilukai pada daerah punggung. Kesimpulan dari penelitian ini adalah salep kefir kombinasi lidah buaya dapat digunakan sebagai penyembuhan luka insisi pada tikus.

Kata Kunci : Luka Insisi, Salep Kefir Kombinasi Lidah Buaya, Epidermis, Fibroblas.

**Therapeutic Effect of Topical Application Kefir Combination of
Aloe Vera (*Aloe vera L.*) an Development of Epidermis and
Total Fibroblasts as Incision Wound Healing
In Rats (*Rattus norvegicus*)**

ABSTRACT

Wound is a partial destruction of body tissues caused by sharp objects or blunt trauma, changes in temperature, chemicals, explosion, electric shock, or an animal bite. Wound is divided into two open cuts and wounds covered. Examples of closed wounds are hematoma and open wounds example is the incision. The incision is there are rips straight on the skin and underlying tissues. Wound healing associated with cell regeneration to recover organ function, Kefir combination of aloe vera therapy is used as a therapy for wound healing has ability as an anti-inflammatory and cell regeneration. This study aims to determine the effect of combination therapy kefir Aloe vera to the increased development of the epidermis and a decrease in the number of fibroblasts in wound healing incision. This study was an experimental study with completely randomized design. Animal models using male Wistar rat strain with 8-12 weeks of age and body weight of 150-250 grams were divided into five treatment groups. This study used five groups of rats, the negative control group, positive control group, the treatment group kefir combination therapy Aloe vera 25%, 37.5%, and 50% in the incision area and be given once a day. The observation of histopathology quantitatively analyzed using Microsoft Excel and SPSS for windows with a statistical analysis of variance one-way ANOVA and Tukey test advanced test $\alpha = 0.05$. The results showed that the combination therapy kefir Aloe vera with a concentration of 37.5% can significantly affect in improving the development of the epidermis and decrease the number of fibroblasts in mice that were injured in the hip area. The conclusion of this study is kefir combination of Aloe vera therapy can be used as an incision wound healing in rats.

Keyword : Wound Healing, Kefir Combination Aloe vera , Epidermis, Fibroblast.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang mengatur segala urusan manusia dan atas segala limpahan rahmat, taufik, serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan SKRIPSI ini yang berjudul **“Pengaruh Pemberian Salep Kefir Kombinasi Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) Terhadap Perkembangan Epidermis dan Jumlah Fibroblas Sebagai Penyembuhan Luka Insisi Pada Tikus (*Rattus norvegicus*)”**. Sholawat dan salam semoga tetap tercurah kepada Nabi Agung Muhammad SAW.

Selama penelitian dan penyusunan skripsi ini, halangan dan rintangan terus menerus terjadi pada diri penulis, sehingga dalam penulisannya melibatkan banyak pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terimakasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada:

1. Dr. Agung Pramana Warih Marhendra, M.Si selaku pembimbing I dan drh. Analis Wisnu Wardhana, M.Biomed selaku pembimbing II yang telah banyak memberikan bimbingan, nasehat dan arahan kepada penulis.
2. drh. Dodik Prasetya, M.Vet dan Agri Kaltaria Anisa, S. Farm, Apt selaku dosen penguji atas tanggapan dan saran yang diberikan.
3. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan yang selalu memberikan dukungan tiada henti demi kemajuan FKH UB tercinta.
4. Secara khusus penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Ayah Subroto yang penulis banggakan dan Ibu Lestari tercinta yang telah

banyak memberikan dukungan, Kakak Deris, dan Adik Rima doa dan pengorbanan baik secara moril maupun materil sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik.

5. Sahabat dalam penelitian Olive, Ema, Fera, Lovy teman seperjuangan melaksanakan penelitian atas segala dukungan, semangat dan motivasi.
6. Keluarga besar Cerolas angkatan 2012 FKH UB Lilis, mbak Shintany, Sandra, Bona, teman kosan Nisa, bupal menejemen, dan ERRAO yang telah menjadi keluarga baru selama proses pendidikan di Kedokteran Hewan dan menjadi pendorong untuk meraih kesuksesan.

Akhirnya hanya kepada Allah SWT kita kembalikan semua urusan dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, khususnya bagi penulis dan para pembaca pada umumnya, semoga Allah SWT meridhoi dan dicatat sebagai ibadah disisi-Nya, Amin.

Malang, 24 Oktober 2016

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xiv
 BAB I. PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan masalah	4
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan	5
1.5 Manfaat	5
 BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	 6
2.1 Luka Insisi.....	6
2.2 Patomekanisme Luka Insisi	8
2.3 Penyembuhan Luka	10
2.4 Kefir	13
2.5 Lidah Buaya (<i>Aloe vera L.</i>).....	15
2.6 Penyerapan Obat Topikal.....	16
2.7 Hewan Coba Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>).....	19
 BAB III. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN	20
3.1 Kerangka konsep	20
3.2 Hipotesis Penelitian	23
 BAB IV. METODE PENELITIAN	 24
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	24
4.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	24
4.3 Sampel Penelitian	25
4.4 Rancangan Penelitian.....	25
4.5 Variabel Penelitian	26
4.6 Tahapan Penelitian	26
4.7 Prosedur Kerja.....	27
4.7.1 Persiapan Hewan Coba.....	27

4.7.2 Pembuatan Kefir Kombinasi Lidah Buaya	27
4.7.3 Pembuatan Salep Kefir Kombinasi Lidah Buaya.....	28
4.7.4 Perlakuan Luka Insisi pada Hewan Coba	28
4.7.5 Terapi Salep Kefir Kombinasi Lidah Buaya.....	29
4.7.6 Pengambilan dan Pembuatan Preparat Kulit	29
4.7.7 Tahap Perhitungan Perkembangan Epidermis	31
4.7.8 Tahap Perhitungan Jumlah Fibroblas	32
4.7.9 Analisis Data	32
BAB V PEMBAHASAN	33
5.1 Pengaruh Pemberian Salep Kefir Kombinasi Lidah Buaya Terhadap Perkembangan Epidermis pada Luka Insisi Kulit Tikus	35
5.2 Pengaruh Pemberian Salep Kefir Kombinasi Lidah Buaya Terhadap Jumlah Fibroblas pada Luka Insisi Kulit Tikus....	41
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	49
6.1 Kesimpulan	49
6.2 Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN	54

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
2.1	Komposisi Kimia dan gizi kefir	14
4.1	Rancangan Penelitian.....	26
5.1	Perkembangan Epidermis Pada Kelompok Tikus Perlakuan.....	38
5.2	Jumlah Fibroblas Pada Kelompok Tikus Perlakuan.....	43



DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
2.1	Fase Inflamasi	11
2.2	Fase Proliferasi	13
2.3	Fase Remodelling.....	13
4.1	Gambaran Makroskopis Kulit Tikus Luka Insisi	33
4.2	Gambaran Mikroskopis Perkembangan Epidermis Kulit Tikus	35
4.3	Gambaran Mikroskopis Jumlah Fibroblas Kulit Tikus.....	41



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

Halaman

1. Sertifikat Laik Etik Penggunaan Hewan Coba.....	55
2. Surat Keterangan Determinasi Lidah Buaya.....	56
3. Kerangka Operasional Rancangan Penelitian.....	57
4. Perhitungan Dosis Salep Kefir Kombinasi Lidah Buaya.....	58
5. Pembuatan Preparat dan Pewarnaan <i>Hematoxyline Eosin</i> (HE) Histopatologi Jaringan Kulit	61
6. Hasil uji statistika pengaruh salep kefir kombinasi lidah buaya terhadap perkembangan epidermis pada jaringan kulit tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) luka insisi.....	63
7. Hasil uji statistika pengaruh salep kefir kombinasi lidah buaya terhadap jumlah fibroblas pada jaringan kulit tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) luka insisi.....	67

DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

Singkatan	Keterangan
%	: Persen
g	: Gram
mg	: Miligram
µg	: Mikrogram
ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
HE	: Hematoksilin-Eosin
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
ADP	: <i>Adenosin Diphosphate</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor alfa</i>
TGF- α	: <i>Transforming Growth Factor alfa</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor beta</i>
PDGF	: <i>Platelet Derived Growth Factor</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
KGF	: <i>Keratinocyte Growth Factor</i>
MMP	: <i>Matrix Metalloprotenase</i>
GAG	: <i>Glycosaminoglycan</i>

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Manusia ataupun hewan tidak pernah terlepas dari trauma, contohnya luka. Luka adalah rusaknya sebagian jaringan tubuh. Luka dapat disebabkan oleh trauma benda tajam atau tumpul, perubahan temperatur, zat kimia, ledakan, sengatan listrik, atau gigitan hewan. Ketika terjadi luka akan menimbulkan efek seperti hilangnya seluruh atau sebagian fungsi organ dan lainnya berupa pendarahan dan pembekuan darah, kontaminasi bakteri, dan kematian sel. Luka dibagi menjadi dua yaitu luka terbuka dan luka tertutup. Contoh luka terbuka ialah luka insisi yaitu terdapat robekan lurus (*linier*) pada kulit dan jaringan di bawahnya, contoh luka tertutup adalah hematoma yaitu pecahnya pembuluh darah di bawah kulit (Sjamsuhidayat, 2010).

Angka kejadian luka di dunia cukup tinggi dari sebuah penelitian di Amerika menunjukkan prevalensi pasien dengan luka adalah 3.50 per 1000 populasi penduduk. Mayoritas luka pada penduduk dunia adalah luka karena pembedahan atau trauma (48%). Lembaga asosiasi luka di Amerika MedMarket Diligence tahun 2009 melakukan penelitian tentang insiden luka di dunia berdasarkan etiologi penyakit, dan didapat data untuk luka bedah (*incised wound*) ada 110,30 juta kasus (Chrysman, 2010).

Luka insisi akibat pembedahan menyebabkan perubahan hemodinamik, metabolik dan imunologik, masalah yang sering muncul pada luka paska pembedahan diantaranya adalah luka yang mengalami stress selama masa

penyembuhan akibat nutrisi yang tidak adekuat, gangguan sirkulasi dan perubahan metabolisme yang dapat meningkatkan resiko lambatnya penyembuhan luka. Luka yang tidak sembuh dalam waktu yang lama dengan berbagai etiologi dikhawatirkan mengalami komplikasi, komplikasi luka dapat menimbulkan berbagai dampak negatif (Potter dan Peny, 2006).

Penyembuhan luka adalah proses tubuh untuk memperbaiki kerusakan jaringan agar dapat berfungsi kembali. Adapun fase penyembuhan luka meliputi fase inflamasi, proliferasi, dan remodelling. Proses reepitelisasi terjadi migrasi, yang dimulai dari sisa folikel rambut yang terletak di lapisan dermis dan tepi luka pada stratum basalis menuju ke stratum korneum yang terletak di bagian terluar epidermis (Rahayu dkk., 2010).

Fibroblas memiliki peran penting dalam fase proliferasi. Fibroblas berasal dari sel mesenkim yang belum berdiferensiasi. Fibroblas akan menghasilkan bahan dasar serat kolagen yang akan mempertautkan tepi luka dan akan membentuk jaringan ikat yang baru, memberikan kekuatan serta integritas pada semua luka sehingga menghasilkan proses penyembuhan yang baik. Fibroblas akan segera menghilang setelah matriks kolagen mengisi kavitas luka dan pembentukan neovaskular akan menurun melalui proses apoptosis (Putra dkk., 2010).

Penanganan atau perawatan ekterna pada luka dapat menggunakan obat yang sudah cukup dikenal oleh masyarakat, salah satunya adalah dengan povidon iodine. Povidon iodine mengandung iodine bebas dan *Polyvinylpyrrolidone* (PVP) yang memiliki efek antimikroba kuat, namun bahan ini juga memiliki efek toksik

terhadap sel-sel tubuh dan dapat menyebabkan dermatitis sehingga diperlukan alternatif lain untuk menyembuhkan luka.

Kefir merupakan produk susu fermentasi dapat dibuat dari bahan baku susu dengan menambahkan bibit kefir (*kefir grains*) yang terdiri dari bakteri asam laktat dan khamir (Sawitri, 2011). Kefir mengandung vitamin C yang mampu membantu penyembuhan luka melalui oksidasi dengan kofaktor Fe^{2+} yang menyebabkan dikeluarkannya sejumlah anion radikal oksigen superoksida (O_2^-) yang akan meningkatkan sintesis kolagen (Suriasih, 2015). Kefir memiliki aktifitas antikarsinogenik, dan polisakarida sebagai antiinflamasi (Rodrigues, 2005).

Lidah buaya (*Aloe vera L.*) merupakan tumbuhan yang tidak asing lagi bagi masyarakat Indonesia. Di beberapa negara, lidah buaya seringkali digunakan sebagai langkah pertolongan pertama pada bagian tubuh yang terluka (luka sayat maupun luka bakar). Lidah buaya mengandung banyak zat-zat aktif yang sangat bermanfaat dalam mempercepat penyembuhan luka karena mengandung antara vitamin E dan C berperan sangat penting sebagai *growth factor*. *Growth factor* ini berkontribusi dalam penyembuhan luka dengan menstimulasi fibroblas (*connective tissue cells*) untuk memproduksi kolagen lebih banyak, dan meningkatkan reepitelisasi epidermis yang akan meningkatkan proses *remodeling* pada luka dan mengisi daerah luka. Bekerja secara sinergis, lidah buaya mempertahankan suasana *moist* pada luka dan pada saat yang sama membawa oksigen untuk penetrasi ke dalam luka, menambah regenerasi sel (Atik, 2010).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian salep kefir kombinasi lidah buaya (*Aloe vera L.*) terhadap perkembangan epidermis dan jumlah fibroblas sebagai penyembuhan luka insisi pada tikus (*Rattus norvergicus*).

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian salep kefir kombinasi lidah buaya (*Aloe vera L.*) dapat meningkatkan perkembangan epidermis sebagai penyembuhan luka insisi pada tikus (*Rattus norvegicus*) ?
2. Apakah pemberian salep kefir kombinasi lidah buaya (*Aloe vera L.*) dapat menurunkan jumlah fibroblas sebagai penyembuhan luka insisi pada tikus (*Rattus norvegicus*) ?

1.3 Batasan Masalah

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

- 1) Hewan model yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain *wistar* umur 8-12 minggu dengan berat badan 150-250 g yang diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang. Penggunaan hewan coba dalam penelitian ini telah mendapatkan sertifikat laik etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya dengan nomor 560-KEP-UB.
- 2) Luka insisi dibuat sepanjang 2 cm, kedalaman hingga mencapai subkutan menggunakan *scalpel* di daerah punggung tikus (Sudrajat, 2006).

- 3) Pemberian terapi salep kefir kombinasi lidah buaya (*Aloe vera L.*) dengan konsentrasi 25%, 37,5%, 50% dilakukan sehari 1 kali pada daerah luka insisi selama 7 hari.
- 4) Perkembangan epidermis dinilai dengan cara mengukur ketebalan epidermis yang baru tumbuh pada tepi luka menggunakan ImageRaster® dan jumlah fibroblas dihitung dengan ImageRaster® pada pembesaran 400x.
- 5) Variabel yang diamati dalam penelitian adalah perkembangan epidermis dan jumlah fibroblas.

1.4 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pemberian salep kefir kombinasi lidah buaya (*Aloe vera*) dapat meningkatkan perkembangan epidermis sebagai penyembuhan luka insisi pada tikus (*Rattus norvegicus*).
2. Mengetahui pemberian salep kefir kombinasi lidah buaya (*Aloe vera L.*) dapat menurunkan jumlah fibroblas sebagai penyembuhan luka insisi pada tikus (*Rattus norvegicus*).

1.5 Manfaat Penelitian

Memberikan informasi kepada pembaca tentang pemanfaatan salep kefir kombinasi lidah buaya (*Aloe vera L.*) sebagai terapi penyembuhan luka insisi.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Luka

Luka adalah terputusnya kontinuitas jaringan karena cedera atau pembedahan. Luka diklasifikasikan berdasarkan struktur anatomis, sifat, proses penyembuhan, dan lama penyembuhan. Berdasarkan sifat, luka dibagi menjadi abrasi, kontusio, insisi, laserasi, *puncture*, sepsis, dan lain-lain. Klasifikasi berdasarkan struktur lapisan kulit, meliputi superfisial, yang melibatkan lapisan epidermis; *partial thickness*, yang melibatkan lapisan epidermis dan dermis; dan *full thickness* yang melibatkan epidermis, dermis, lapisan lemak, fascia, dan bahkan sampai ke tulang (Kartika, 2015).

Berdasarkan proses penyembuhan, dapat dikategorikan menjadi tiga menurut Kartika (2015) adalah:

- a) Penyembuhan primer (*healing by primary intention*) yaitu tepi luka bisa menyatu kembali, permukaan bersih, tidak ada jaringan yang hilang. Biasanya terjadi setelah suatu insisi. Penyembuhan luka berlangsung dari internal ke eksternal.
- b) Penyembuhan sekunder (*healing by secondary intention*) yaitu sebagian jaringan hilang, proses penyembuhan berlangsung mulai dari pembentukan jaringan granulasi di dasar luka dan sekitarnya.
- c) *Delayed primary healing (tertiary healing)* yaitu penyembuhan luka berlangsung lambat, sering disertai infeksi.

Klasifikasi luka bedah berdasarkan tingkat kontaminasi menurut (Potter dan Perry (2006) adalah

- 1) *Clean Wounds* (Luka bersih) yaitu luka bedah tidak terinfeksi yang tidak terjadi proses inflamasi dan kontaminasi dari saluran pernafasan, pencernaan, genital, dan saluran kemih. Kemungkinan terjadinya infeksi luka sekitar 1% - 5%.
- 2) *Clean-contaminated Wounds* (Luka bersih terkontaminasi) merupakan luka bedah di saluran respirasi, pencernaan, genital dalam kondisi terkontrol, kontaminasi tidak selalu terjadi, kemungkinan timbulnya infeksi luka adalah 3% - 11%.
- 3) *Contaminated Wounds* (Luka terkontaminasi) merupakan luka terbuka, *fresh*, luka akibat kecelakaan dan operasi dengan teknik aseptik namun terjadi kontaminasi dari saluran cerna; pada kategori ini juga termasuk insisi akut, inflamasi nonpurulen. Kemungkinan infeksi luka 10% - 17%.
- 4) *Dirty or Infected Wounds* (Luka kotor atau infeksi) yaitu terdapatnya mikroorganisme pada luka.

Klasifikasi berdasarkan lama penyembuhan, luka dibedakan menjadi akut dan kronis. Luka dikatakan akut jika penyembuhan terjadi dalam 2-3 minggu. Sedangkan luka kronis adalah luka yang tidak ada tanda-tanda sembuh dalam jangka lebih dari 4-6 minggu. Luka insisi bisa dikategorikan luka akut jika proses penyembuhan berlangsung sesuai dengan proses penyembuhan normal, tetapi bisa juga dikatakan luka kronis jika penyembuhan terlambat (*delayed healing*) atau jika menunjukkan tanda-tanda infeksi (Kartika, 2015).

2.2 Patomekanisme Luka Insisi

Insisi yang dilakukan pada daerah punggung mengakibatkan terjadinya luka sehingga menyebabkan pendarahan dari pembuluh darah yang rusak. Kerusakan jaringan akan menyebabkan keluarnya platelet yang mengakibatkan terjadinya proses hemostasis. Hemostasis adalah proses penghentian darah dari pembuluh darah yang rusak dengan melibatkan tiga langkah utama yaitu spasme vaskular, pembentukan sumbat trombosit dan koagulasi darah (Sherwood, 2011).

Langkah utama proses hemostasis yaitu mekanisme vasokonstriksi atau spasme vaskular. Spasme vaskular mengurangi aliran darah melalui pembuluh darah yang cedera. Pembuluh darah yang terpotong atau robek akan segera berkonstriksi. Mekanisme spasme vaskular ini memperlambat darah mengalir melalui defek dan memperkecil kehilangan darah. Permukaan endotel yang saling berhadapan juga saling menekan vasokonstriksi sehingga permukaan tersebut menjadi lekat satu sama lain dan semakin memperbaiki pembuluh darah yang rusak. Tindakan fisik ini tidak cukup untuk mencegah secara sempurna pengeluaran darah melalui pembuluh darah yang rusak. Langkah kedua adalah pembentukan sumbat trombosit. Apabila terjadi kerusakan endotel pembuluh darah maka trombosit akan teraktivasi dan melekat pada kolagen sehingga membentuk sumbat trombosit pada pembuluh darah yang rusak. Ketika trombosit mulai menggumpal maka akan mengeluarkan zat-zat kimia seperti ADP, yang menyebabkan permukaan trombosit darah yang terdapat disekitar menjadi lekat sehingga trombosit tersebut melekat ke lapis pertama gumpalan trombosit. Trombosit-trombosit yang melekat ini akan melepaskan lebih banyak ADP dan

menyebabkan perlekatan antar trombosit melalui mekanisme umpan balik positif. Langkah terakhir adalah koagulasi darah. Koagulasi darah dimulai pada saat proses agregasi trombosit yang mengeluarkan platelet faktor 3, platelet faktor 3 akan mengaktifkan protombin yang kemudian akan mengaktifkan trombin. Trombin merupakan komponen jenjang pembekuan yang akan mengubah fibrinogen menjadi fibrin dan akan mengaktifkan faktor XIII. Faktor XIII akan mengubah fibrin jala longgar menjadi fibrin jala stabil (Sherwood, 2011).

Proses hemostasis telah terjadi kemudian proses inflamasi. Respon seluler, ciri-ciri fase inflamasi adalah masuknya leukosit ke daerah luka. Setelah terjadinya luka sel neutrofil akan muncul pada tepi insisi, dan bermigrasi menuju bekuan fibrin. Sel basal pada tepi irisan epidermis mulai menunjukkan peningkatan aktivitas mitosis kemudian dalam waktu 24-48 jam, sel epitel dari kedua tepi irisan mulai bermigrasi dan berproliferasi disepanjang dermis. Neutrofil sebagian besar telah digantikan oleh makrofag dan jaringan granulasi pada hari ke-3. Serat kolagen pada tepi insisi telah muncul, namun mengarah vertikal dan tidak menjembatani insisi. Proliferasi sel epitel akan berlanjut, menghasilkan suatu lapisan epidermis penutup yang menebal (Robbins, 2004).

Neovaskularisasi mencapai puncaknya pada hari ke-5, hal ini dikarenakan jaringan granulasi telah mengisi ruang insisi. Serabut kolagen menjadi lebih banyak dan mulai menjembatani insisi. Epidermis mengembalikan ketebalan normalnya karena diferensiasi sel permukaan menghasilkan epidermis matur yang disertai dengan keratinisasi permukaan. Selama minggu kedua, terjadi penumpukan kolagen di dalam jaringan parut bekas insisi dan regresi saluran

pembuluh darah dan pada akhir bulan pertama, jaringan parut bekas insisi terdiri dari jaringan ikat yang sebagian besar tanpa disertai sel radang dan ditutupi oleh suatu epidermis yang normal. Lapisan dermis yang terinsisi akan menghilang permanen dan kekuatan regang pada luka meningkat bersama perjalanan waktu (Robbins, 2004).

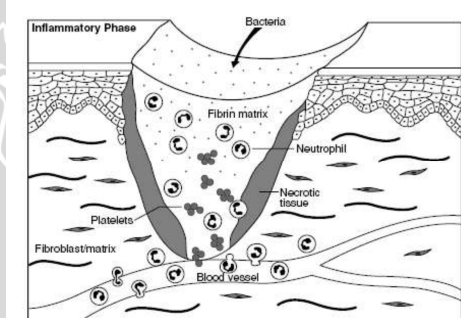
2.3 Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka adalah suatu usaha untuk memperbaiki kerusakan jaringan akibat adanya cedera. Hasil penyembuhan luka yang terganggu seperti luka akut yang penanganannya terlambat dan luka kronis pada umumnya luka tersebut akan gagal untuk maju ke tahapan penyembuhan luka yang normal. Ketika luka terjadi akan mengakibatkan efek seperti hilangnya seluruh atau sebagian fungsi organ dan lainnya berupa respon stres simpatis, pendarahan dan pembekuan darah, kontaminasi bakteri, kematian sel.

Proses setelah luka yang terjadi adalah proses penyembuhan luka yang dapat di bagi dalam 3 fase yaitu fase inflamasi, proliferasi, dan remodelling jaringan. Apabila terjadi luka perlu penanganan yang tepat dan benar agar tidak terjadi komplikasi misalnya infeksi, hematoma, seroma, pendarahan, dehiscence (terjadinya lubang akibat lepasnya lapisan luka operasi, yang dapat terjadi sebagian, di permukaan, atau di seluruh lapisan dengan robekan total), evisceration (ekstrusi alat viscera keluar dari tubuh, khususnya melalui suatu insisi bedah), dan keloid (Chrysman, 2010).

2.3.1 Fase inflamasi

Inflamasi merupakan reaksi awal bila tubuh terkena luka. Fase ini terjadi segera setelah cedera dan dapat berlangsung selama 4-6 hari (Broughton dkk., 2006). Reaksi awal terjadinya inflamasi yaitu adanya vasodilatasi lokal, keluarnya darah dan cairan menuju ruangan ekstrasvaskuler, dan terhambatnya aliran limfatik. Semua ini mengakibatkan timbulnya tanda-tanda utama untuk terjadinya suatu inflamasi. Respon inflamasi akut ini biasanya antara 24-48 jam dan dapat menetap diatas 2 minggu untuk beberapa kasus. Fase ini merupakan tahap awal yang alami untuk mengangkat jaringan debris dan mencegah infeksi yang invasif (Gurtner, 2007).



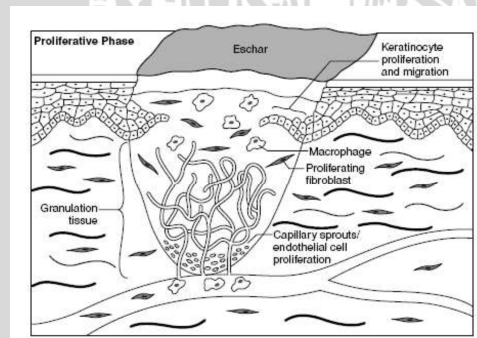
Gambar 2.1 Fase inflamasi (Gurtner, 2007)

2.3.2 Fase proliferasi

Fase proliferasi berlangsung umumnya mulai hari ke-4. Luka insisi *partial thickness*, migrasi keratinosit yang berada pada tepi luka telah mulai bekerja beberapa jam pasca trauma, menginduksi terjadinya re-epitelisasi yang biasanya menutup luka dalam 5-7 hari. Setelah reepitelisasi, membran basalis terbentuk antara lapisan epidermis dan dermis. Pembentukan kembali dermis dibantu oleh proses angiogenesis. Fase ini matriks fibrin yang didominasi oleh platelet dan makrofag digantikan oleh jaringan granulasi yang tersusun dari kumpulan

fibroblas, makrofag, dan sel endotel yang membentuk matriks ekstraseluler dan neovaskuler (Gurtner, 2007).

Fibroblas memiliki peran yang sangat penting dalam fase proliferasi. Fibroblas memproduksi matriks ekstraseluler yang akan mengisi kavitas luka dan untuk migrasi keratinosit. Makrofag memproduksi *growth factor* seperti PDGF dan TGF- β yang menginduksi fibroblas untuk berproliferasi, migrasi dan membentuk matriks ekstraseluler. Fibroblas mencerna matriks fibrin dan menggantikannya dengan GAG dengan bantuan MMP. Matriks ekstraseluler akan digantikan oleh kolagen tipe III yang juga diproduksi oleh fibroblas. Kolagen tipe III akan digantikan oleh kolagen tipe I pada fase maturasi (Schultz, 2007). Fibroblas akan segera menghilang setelah matriks kolagen mengisi kavitas luka dan pembentukan neovaskular akan menurun melalui proses apoptosis. Selanjutnya fase proliferasi mulai berhenti dan fase *remodeling* mulai berjalan (Gurtner, 2007).

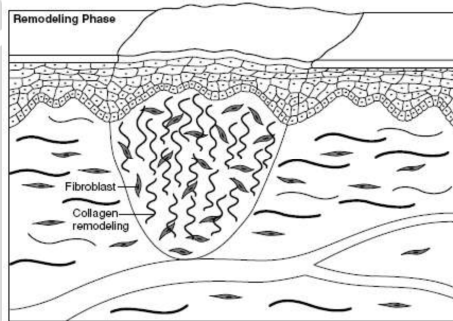


Gambar 2.2 Fase proliferasi (Gurtner, 2007)

2.3.3 Fase maturasi (*remodeling*)

Fase ketiga adalah fase *remodeling*. Selama fase ini jaringan baru yang terbentuk akan disusun seperti jaringan asalnya. Fase maturasi ini berlangsung

mulai hari ke-21 hingga 1 tahun. Fase ini dimulai setelah kavitas luka terisi oleh jaringan granulasi dan proses reepitelialisasi telah berhenti. Perubahan yang terjadi adalah penurunan kepadatan sel dan vaskularisasi, pembuangan matriks temporer yang berlebihan dan penataan serat kolagen sepanjang garis luka untuk meningkatkan kekuatan jaringan baru. Fase akhir penyembuhan luka ini dapat berlangsung selama bertahun-tahun (Gurtner, 2007).



Gambar 2.3 Fase remodeling (Gurtner, 2007)

2.4 Kefir

Kefir merupakan produk fermentasi susu yang mengandung probiotik yang berguna bagi kesehatan tubuh. Kefir adalah susu yang difermentasi dengan grains kefir yang terdiri dari bakteri asam laktat dan ragi. Kefir terbuat dari susu sapi atau kambing yang difermentasi oleh bakteri. Bakteri yang digunakan adalah *Lactobacillus acidophilus* dan *Saccharomyces*. Proses fermentasinya menggunakan starter biji kefir (*kefir grain/kefir granule*), yaitu butiran putih atau krem dari kumpulan bakteri dan beberapa jenis ragi (Sawitri, 2011).

Kefir mengandung senyawa peptida yang mampu mencegah terbentuknya senyawa radikal bebas seperti superoksida vitamin A yang terkandung dalam kefir mempunyai peran penting dalam sintesis kolagen, tanpa adanya vitamin A maka kolagen muda yang diekskresikan ke daerah luka oleh fibroblas berjumlah sedikit.

Oksidasi vitamin C dengan kofaktor Fe^{2+} menyebabkan dikeluarkannya sejumlah anion radikal oksigen superoksida (O_2^-). Ketika O_2^- melebihi jumlah oksigen yang tersedia, sintesis kolagen akan meningkat. Zinc yang terkandung dalam kefir mampu mempengaruhi produksi dari berbagai sitokin oleh sel mononuklear dan meningkatkan ekspresi *endogenous* faktor pertumbuhan seperti insulin like GH pada granulasi jaringan. Vitamin E sebagai antioksidan dipertimbangkan untuk menetralkan oksigen radikal bebas guna mencegah kerusakan jaringan. Peran protein dalam penyembuhan luka juga sangat penting karena pada kasus protein yang buruk dapat memperpanjang fase kronik penyembuhan luka. Beberapa fungsi protein dalam penyembuhan luka adalah membantu proliferasi fibroblas, sintesis kolagen, angiogenesis dan fase remodeling (Suriasih, 2015). Kefir memiliki aktifitas antimikrobal, antikarsinogenik, dan polisakarida sebagai antiinflamasi (Rodrigues, 2005).

Tabel 2.1 Komposisi kimia dan gizi kefir (Semih dan Cagindi, 2003)

Komponen	100 g	Komponen	100 g
Energi	65 kal	Mineral content (g)	
Lemak (1%)	3.5	Calcium	0.12
Protein (%)	3.3	Phospor	0.10
Laktosa (%)	4.0	Magnesium	12
Air (%)	87.5	Pottasium	0.15
		Sodium	0.05
Asam (g)	0.8	Chloride	0.10
Etil alkohol (g)	0.9		
Lactic acid (g)	1	Trace elements	
Kolestrol (mg)	13	Iron (mg)	0.05
Fosfat (mg)	40	Copper (μg)	12
		Molybdenum (μg)	5.5
Minya asam amino (g)		Manganase (μg)	5
Triptopan	0.05	Zinc (mg)	0.36
Fenilalanin +tirosin	0.35		
Leucine	0.34		
Isoleucine	0.21	Aromatic compounds	

Threonine	0.17	Acetaldehyde	
Methionine +cystine	0.12	Diacetyl	
Lysine	0.27	Acetoin	
Valine	0.22		
Vitamin			
A	0.06	B12	0.5
Carotene	0.02	Niacin	0.09
B1	0.04	C	1
B2	0.17	D	0.08
B6	0.05	E	0.11

2.5 Lidah Buaya (*Aloe vera* L.)

Lidah buaya terdapat di daerah yang berhawa panas, tumbuhan lidah buaya biasa tumbuh dan menjadi tumbuhan liar. Namun, masyarakat juga biasa menanam tumbuhan ini di pekarangan sebagai tanaman hias. Nama lain atau sinonim dari *Aloe vera* adalah *Aloe barbandesis* Miller atau *Aloe vulgaris* Lamnk. Nama daerah tumbuhan ini adalah letah buaya (Sunda) dan liat buaya (Jawa). Lidah buaya mudah tumbuh di Indonesia dan di beberapa Negara, misalnya: sabila/sabila pina (Filipina), lu hul (Tionghoa), aloe/aloes (Inggris). Tumbuhan ini dapat tumbuh pada suhu relatif hangat (Wijayakusuma, 2007).

Tumbuhan lidah buaya ini sepiantas mirip dengan *Agave*, hanya ukurannya lebih kecil. Daunnya berdaging tebal, tepinya berduri tajam, dan berwarna hijau muda berbintik-bintik putih. Daun panjang dan sempit, tebal lebih kurang 5 cm, lebih kurang 10 cm melebar pada pangkal, panjang 30-50, bunga berwarna kuning segar, tersusun jarang-jarang dalam bulir yang langsing. Di dalam daunnya terdapat gel yang berupa lendir yang jernih sehingga terlihat transparan (Dalimartha, 2008).

Lidah buaya (*Aloe vera L.*) seringkali digunakan sebagai langkah pertolongan pertama pada bagian tubuh yang terluka (luka sayat maupun luka bakar). Lidah buaya mengandung vitamin E dan C yang sangat penting untuk regenerasi sel. Vitamin C berperan penting sebagai *growth factor*. *Growth factor* ini berkontribusi dalam penyembuhan luka dengan menstimulasi fibroblas (*connective tissue cells*) untuk memproduksi kolagen lebih banyak, dimana akan meningkatkan proses *remodelling* pada luka dan mengisi daerah luka. Bekerja secara sinergis, lidah buaya mempertahankan suasana *moist* pada luka dan membawa oksigen untuk penetrasi ke dalam luka, menambah regenerasi sel. Vitamin E berfungsi sebagai imunostimulator yang meningkatkan respon imun Th1 sebagai pertahanan terhadap patogen intraseluler seperti virus, bakteri dan parasit yang berfungsi sebagai antibiotik dan dapat memicu pengeluaran faktor pertumbuhan *Keratinocyte Growth Factor (KGF)* sehingga sangat berperan dalam memicu proses reepitelisasi yang lebih cepat disertai dengan menghambat terjadinya proses infeksi (Rahayu dkk., 2010).

2.6 Penyerapan Obat Topikal

Obat topikal terdiri dari vehikulum (bahan pembawa) dan zat aktif. Zat aktif merupakan komponen bahan topikal yang memiliki efek terapeutik, sedangkan zat pembawa adalah bagian inaktif dari sediaan topikal dapat berbentuk cair atau padat yang membawa bahan aktif berkontak dengan kulit. Idealnya zat pembawa mudah dioleskan, mudah dibersihkan, tidak mengiritasi serta menyenangkan secara kosmetik. Selain itu, bahan aktif harus berada di dalam zat pembawa dan kemudian mudah dilepaskan (Yanhendri, 2012).

Farmakokinetik sediaan topikal secara umum menggambarkan perjalanan bahan aktif dalam konsentrasi tertentu yang diaplikasikan pada kulit dan kemudian diserap ke lapisan kulit, selanjutnya didistribusikan secara sistemik. Mekanisme ini penting dipahami untuk membantu memilih sediaan topikal yang akan digunakan dalam terapi. Secara umum perjalanan sediaan topikal setelah diaplikasikan melewati tiga kompartemen yaitu: permukaan kulit, stratum korneum, dan jaringan sehat. Stratum korneum dapat berperan sebagai *reservoir* bagi vehikulum tempat sejumlah unsur pada obat masih berkontak dengan permukaan kulit namun belum berpenetrasi tetapi tidak dapat dihilangkan dengan cara digosok atau terhapus oleh pakaian. Unsur vehikulum sediaan topikal dapat mengalami evaporasi, selanjutnya zat aktif berikatan pada lapisan yang dilewati seperti pada epidermis, dermis. Pada kondisi tertentu sediaan obat dapat membawa bahan aktif menembus hipodermis. Sementara itu, zat aktif pada sediaan topikal akan diserap oleh vaskular kulit pada dermis dan hipodermis (Schaefer dkk., 2008).

Saat sediaan topikal diaplikasikan pada kulit, terjadi 3 interaksi (Sharma, 2008):

1. *Solute vehicle interaction*: interaksi bahan aktif terlarut dalam vehikulum. Idealnya zat aktif terlarut dalam vehikulum tetap stabil dan mudah dilepaskan. Interaksi ini telah ada dalam sediaan.
2. *Vehicle skin interaction*: merupakan interaksi vehikulum dengan kulit. Saat awal aplikasi fungsi reservoir kulit terhadap vehikulum.
3. *Solute Skin interaction*: interaksi bahan aktif terlarut dengan kulit (*lag phase*, *rising phase*, *falling phase*).

Saat suatu sediaan dioleskan ke kulit, absorpsinya akan melalui beberapa fase (Yanhendri, 2012) :

a. *Lag phase*

Periode ini merupakan elemen sediaan dioleskan dan belum melewati stratum korneum, sehingga pada saat ini belum ditemukan bahan aktif obat dalam pembuluh darah.

b. *Rising phase*

Fase ini dimulai saat sebagian sediaan menembus stratum korneum, kemudian memasuki kapiler dermis, sehingga dapat ditemukan dalam pembuluh darah.

c. *Falling phase*

Fase ini merupakan fase pelepasan bahan aktif obat dari permukaan kulit dan dapat dibawa ke kapiler dermis.

Penetrasi sediaan topikal melewati beberapa macam jalur sebagai berikut (Sharma, 2008):

a. Penetrasi secara transepidermal

Penetrasi transepidermal dapat secara interseluler dan intraseluler. Penetrasi interseluler merupakan jalur yang dominan, obat akan menembus stratum korneum melalui ruang antar sel pada lapisan lipid yang mengelilingi sel korneosit. Difusi dapat berlangsung pada matriks lipid protein dari stratum korneum. Setelah berhasil menembus stratum korneum obat akan menembus lapisan epidermis sehat di bawahnya, hingga akhirnya berdifusi ke pembuluh kapiler. Penetrasi secara intraseluler terjadi melalui difusi obat menembus dinding stratum korneum sel korneosit yang mati dan juga melintasi matriks

lipid protein startum korneum, kemudian melewatinya menuju sel yang berada di lapisan bawah sampai pada kapiler di bawah stratum basal epidermis dan berdifusi ke kapiler.

b. Penetrasi secara transfolikular

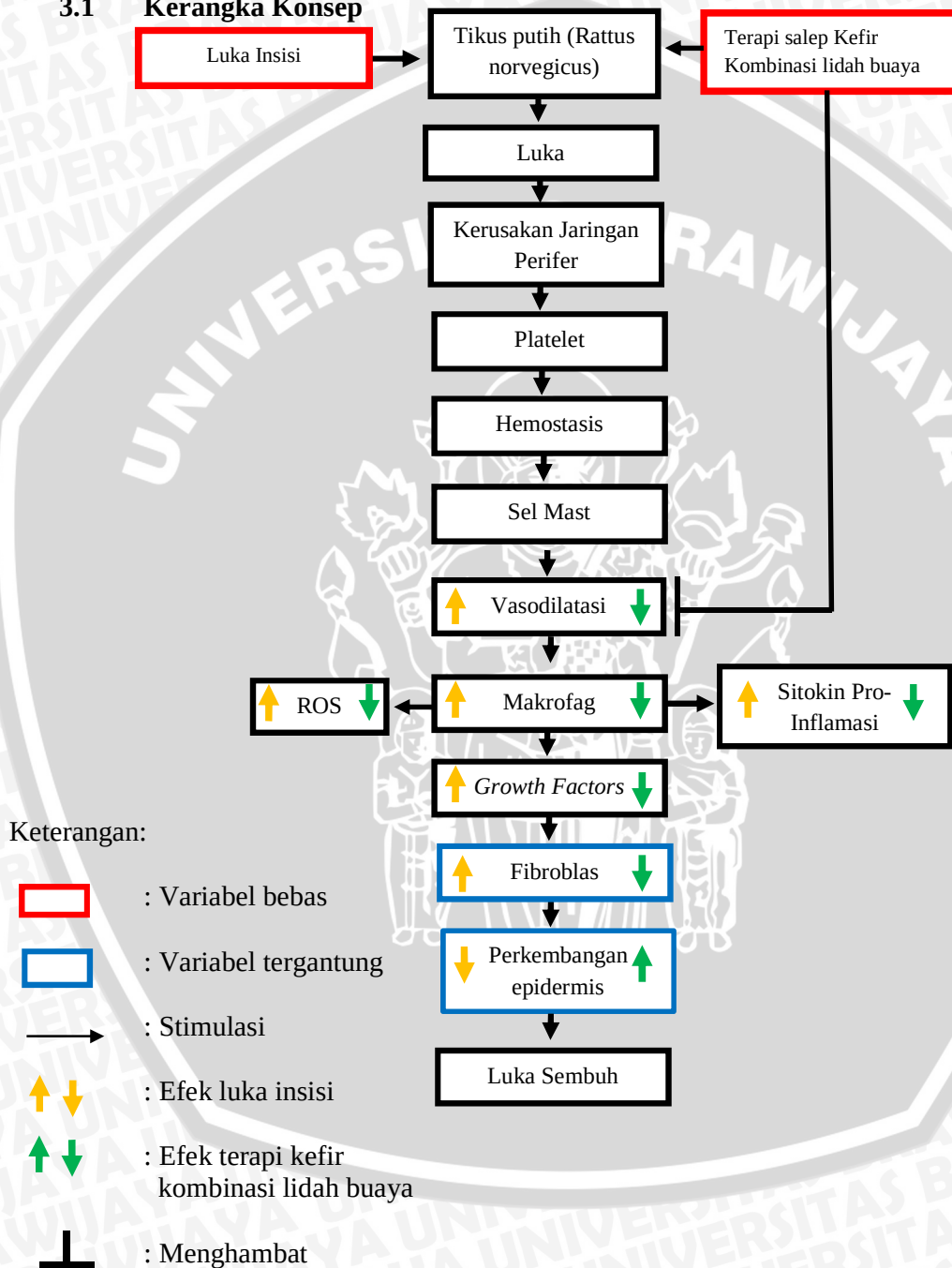
Analisis penetrasi secara folikular muncul setelah percobaan *in vivo*. Percobaan tersebut memperlihatkan bahwa molekul kecil seperti kafein dapat berpenetrasi tidak hanya melewati sel-sel korneum, tetapi juga melalui rute folikular. Obat berdifusi melalui celah folikel rambut dan juga kelenjar sebacea untuk kemudian berdifusi ke kapiler.

2.4 Hewan Coba Tikus (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) banyak digunakan sebagai hewan percobaan pada berbagai penelitian. Tikus putih memiliki ciri antara lain rambut berwarna putih dan mata yang merah, panjang tubuh total 440 mm, panjang ekor 205 mm dan bobot tikus putih pada usia dewasa sekitar 250-500 gram (Potter, 2007). Tikus putih (*Rattus norvegicus*) telah diketahui sifat-sifatnya secara baik, mudah dipelihara, dan merupakan hewan yang adaptif serta cocok untuk berbagai penelitian. Bulu tikus yang tidak tebal mempunyai beberapa keuntungan dalam penelitian yang menggunakan model perlukaan pada epidermis. Pertama, epidermis yang tidak tertutup rambut tebal tidak akan mengganggu pemisahan epidermis dari dermis; kedua, ukuran dari rambut tikus yang tidak tebal membuat model yang ideal untuk penilaian efek dari bahan farmakologi pada proses penyembuhan luka (Choi dkk., 2001).

BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1. Kerangka Konsep Penelitian

Rangkaian fase penyembuhan luka dimulai segera setelah terjadi luka. Penyembuhann luka adalah suatu proses usaha untuk memperbaiki kerusakan jaringan yang terjadi. Platelet akan teragregasi dan mengakibatkan terjadinya proses hemostasis. Hemostasis merupakan proses penghentian darah dari pembuluh darah yang rusak dengan melibatkan tiga langkah utama yaitu spasme vaskular, pembentukan sumbat trombosit, dan koagulasi darah. Setelah terjadinya kerusakan jaringan dan adanya invasi dari bakteri, arteriol pada daerah yang rusak akan melebar untuk meningkatkan aliran darah di tempat cedera. Vasodilatasi ini disebabkan oleh histamin yang dilepaskan oleh sel mast.

Pelepasan histamin juga meningkatkan permeabilitas kapiler dengan memperbesar pori kapiler. Pada fase inflamasi ini terjadi aktivasi berbagai sel inflamasi yang salah satunya adalah makrofag. Selain melalui proses fagositosis, makrofag juga berperan dalam eliminasi bakteri dengan cara memproduksi ROS. ROS penting dalam mencegah infeksi bakterial melalui sifat radikal bebasnya, namun tingginya kadar ROS secara berkepanjangan akan mengaktivasi dan mempertahankan kaskade asam arakidonat yang akan memicu ulang timbulnya berbagai mediator inflamasi lagi seperti prostaglandin dan leukotrien, sehingga proses inflamasi akan menjadi berkepanjangan pada luka insisi. Makrofag juga mengeluarkan berbagai sitokin pro inflamasi, salah satunya adalah TNF- α dan IL-1 yang dapat memicu ulang proses inflamasi secara langsung.

Makrofag juga memproduksi *growth factor* seperti PDGF dan TGF- β yang menginduksi fibroblas untuk berproliferasi, migrasi dan membentuk matriks ekstraseluler. Matriks ekstraseluler akan digantikan oleh kolagen tipe III yang

juga diproduksi oleh fibroblas. Kolagen tipe III akan digantikan oleh kolagen tipe I pada fase maturasi (Schultz, 2007). Fibroblas juga akan mempengaruhi proses reepitelisasi yang akan menutup luka. Fibroblas akan segera menghilang setelah matriks kolagen mengisi kavitas luka dan pembentukan neovaskular akan menurun melalui proses apoptosis.

Proses reepitelisasi terjadi migrasi, proliferasi dan diferensiasi keratinosit. Proses migrasi dimulai beberapa jam setelah terjadi kerusakan pada laminin, sehingga pada kulit yang luka terjadi kontak antara keratinosit dengan kolagen. Proses migrasi dimulai dari tepi luka pada stratum basalis yang merupakan lapisan paling dalam dari epidermis dan sisa adneksa yaitu sisa folikel rambut yang terletak di lapisan dermis, menuju ke stratum korneum yang terletak di bagian terluar epidermis.

Salep kefir kombinasi lidah buaya diberikan pada area insisi dengan tujuan terapi penyembuhan luka insisi. Kandungan polisakarida dalam kefir kombinasi lidah buaya dapat bekerja sebagai penghambat inflamasi dengan jalan menghambat pelepasan asam arakidonat, jalur lipooksigenase dan fosfolipase A₂. Asam arakidonat dari sel inflamasi yang terhambat akan menyebabkan kurang tersedianya substrat arakidonat bagi jalur siklooksigenase dan lipooksigenase sehingga akan menghambat aktivasi makrofag. Kefir kombinasi lidah buaya juga mengandung vitamin E berperan meningkatkan reepitelisasi dengan cara meningkatkan aliran darah menuju ke sel yang rusak sehingga mempercepat pemulihan sel epitel yang rusak. Selain itu juga mengandung vitamin C yang berperan sebagai *growth factor*. *Growth-factor* ini berkontribusi dalam

penyembuhan luka dengan menstimulasi fibroblas (*connectivetissue cells*) untuk memproduksi kolagen lebih banyak, yang akan meningkatkan proses *remodeling* pada luka dan mengisi daerah luka. Bekerja secara sinergis, mempertahankan suasana *moist* pada luka dan pada saat yang sama membawa oksigen untuk penetrasi ke dalam luka, menambah regenerasi sel.

3.1 Hipotesa Penelitian

Dari rumusan permasalahan, maka hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Terapi salep kefir kombinasi lidah buaya mampu meningkatkan perkembangan epidermis sebagai penyembuhan luka insisi pada tikus *r* (*Rattus norvegicus*).
2. Terapi salep kefir kombinasi lidah buaya mampu menurunkan jumlah Fibroblas sebagai penyembuhan luka insisi pada tikus (*Rattus norvegicus*).

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan dimulai dari bulan Juni 2016 hingga Agustus 2016. Penelitian dilaksanakan di beberapa laboratorium, yaitu di Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Ilmu dan Teknologi Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.

4.2 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain kandang tikus, seperangkat alat bedah, mikroskop Olympus seri BX51, autoklaf, penyaring karet, gelas ukur, blender, *software* Optilab viewer, wadah kaca tertutup.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*), pakan dan minuman tikus, kefir, lidah buaya, *vaseline album*, *cera alba*, NaCl fisiologis 0,9%, Ketamil Injection, alkohol 70%, minyak emersi, pewarnaan hematoksin eosin, formalin 10%, aquades, parafin, eter 70%, xylol.

4.3 Sampel Penelitian

Hewan model menggunakan tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain wistar berumur 8-12 minggu. Bobot badan tikus antara 150-250 gram. Hewan coba diadaptasikan selama tujuh hari untuk menyesuaikan dengan kondisi di

laboratorium. Estimasi besar sampel dihitung berdasarkan rumus (Kusriningrum, 2008):

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

Keterangan :

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

t : Jumlah perlakuan

$$5n - 5 \geq 15$$

n : Jumlah ulangan yang diperlukan

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan di atas, maka untuk 5 macam kelompok perlakuan diperlukan jumlah ulangan paling sedikit 4 kali dalam setiap kelompok sehingga dibutuhkan 20 ekor hewan coba. Penggunaan hewan coba dalam penelitian telah mendapatkan persetujuan dari komisi etik.

4.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan eksperimental yang digunakan adalah rancangan eksperimen sederhana yang mana subyek dibagi menjadi 5 kelompok secara random. Tiap kelompok terdiri dari 4 tikus. Kelompok perlakuan dalam penelitian ini antara lain adalah (Tabel 4.1):

Tabel 4.1 Rancangan penelitian

Kelompok	Perlakuan
K- (Kontrol Negatif)	Tanpa Perlakuan
K+ (Kontrol Positif)	Luka insisi + Penggantian kassa steril
P1 (Perlakuan 1)	Luka insisi + Salep Kefir Kombinasi Lidah Buaya 25% + Penggantian kassa steril
P2 (Perlakuan 2)	Luka insisi + Salep Kefir Kombinasi Lidah Buaya 37,5% + Penggantian kassa steril
P3 (Perlakuan 3)	Luka insisi + Salep Kefir Kombinasi Lidah Buaya 50% + Penggantian kassa steril

4.5 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

Variabel bebas : Luka insisi dan konsentrasi terapi salep kefir kombinasi lidah buaya.

Variabel terikat : Perkembangan epidermis dan jumlah fibroblas

Variabel kontrol : Tikus, jenis kelamin, berat badan, umur, suhu, pakan, dan kandang.

4.6 Tahapan Penelitian

- 1) Persiapan hewan coba.
- 2) Pembuatan kefir kombinasi lidah buaya topikal
- 3) Pembuatan salep kefir Kombinasi lidah buaya
- 4) Perlakuan luka insisi pada hewan coba.
- 5) Terapi salep kefir kombinasi lidah buaya .
- 6) Pengambilan dan pembuatan preparat kulit.

- 7) Tahap pengamatan perkembangan epidermis.
- 8) Tahap pengamatan jumlah fibroblas.
- 9) Analisis data.

4.7 Prosedur Kerja

4.7.1 Persiapan Hewan Coba

Pada percobaan ini terdapat 20 ekor tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar jantan dengan berat badan ± 180 gram. Tikus diadaptasi selama tujuh hari dengan pemberian pakan basal pada semua tikus. Tikus dibagi dalam 5 kelompok perlakuan. Setiap kelompok perlakuan terdiri dari 4 ekor tikus. Komposisi ransum yang diberikan yaitu mengandung karbohidrat, protein 10%, lemak 3%, mineral, vitamin, dan air 12%.

Tikus dikandangkan dalam kandang yang berukuran 17.5 x 23.75 x 17.5 cm. Kandang terbuat dari bahan plastik dengan tutup terbuat dari rangka kawat. Kandang tikus berlokasi pada tempat yang bebas dari suara ribut dan terjaga dari asap industri serta polutan lainnya.

4.7.2 Pembuatan Kefir dan Sari Lidah Buaya

Susu sapi segar dipanaskan pada suhu 85-90°C selama 30 menit kemudian didinginkan sampai mencapai suhu kamar sekitar 28°C, dimasukkan 3% (30 gram) butir biji kefir dan ditambahkan 1 liter susu kemudian di aduk secara merata, diinkubasi pada suhu kamar selama 20-24 jam, bila sudah menggumpal saring dengan penyaring plastik untuk mendapatkan kefir segar (Usmiati, 2016). Kemudian lidah buaya sebanyak 500 gram dicuci bersih dengan air mengalir dan

ditiriskan dengan tampah. Lidah buaya dipotong kecil-kecil dan diblender sampai halus lalu diperas dan diambil sarinya sebanyak 250 ml.

4.7.3 Pembuatan Salep Kefir Kombinasi Lidah Buaya

Pembuatan salep kefir kombinasi lidah buaya diawali dengan menyiapkan bahan yang akan digunakan antara lain kefir susu sapi sebanyak 3 gr, sari lidah buaya sebanyak 1 gr, *Vaselin Album* 95 %, dan *Cera Alba* 5%. Prosedur pembuatan salep dilakukan dengan cara *Cera Alba* dileburkan pada cawan penguap menggunakan *waterbath* yang bersuhu 95°C kemudian ditambahkan *Vaselin Album* sampai melebur dan diaduk rata. Cawan diangkat dari *waterbath*, lalu kefir susu sapi dan sari lidah buaya dimasukkan kedalam *Cera Alba* dan *Vaseline Album* yang sudah lebur dan diaduk sampai membentuk krim, selanjutnya diletakkan dalam wadah steril.

4.7.4 Perlakuan Luka Insisi pada Hewan Coba

Seluruh tikus (20 ekor) yang sudah diadaptasikan, pada hari pertama penelitian dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus. Masing-masing tikus diberi tanda atau label pada ekornya dengan menggunakan spidol tahan air sesuai kelompoknya. Rambut tikus sekitar sayatan dicukur sampai licin seluas 4 cm x 4 cm, kemudian dibersihkan dengan kapas beralkohol 70% dan dilakukan anestesi dengan menggunakan ketamin (10 mg/kg BB) secara intramuskular (Danu, 2012). Luka insisi dengan panjang 2 cm dan kedalamannya sampai subcutan dengan *scalpel* di daerah punggung tikus. Insisi dilakukan dengan menyayat kulit menggunakan *scalpel* (Sudrajat, 2006).

Selama penelitian tikus diperlakukan sebaik-baiknya, tikus diusahakan tidak lapar, tidak haus, bebas stres, dan leluasa bergerak. Pemberian pakan dan minum dilakukan setiap hari secara *ad libitum*. Kandang ditempatkan di ruangan yang tenang, tidak bising, dan cukup cahaya. Kebersihan kandang dijaga setiap hari dan sekam diganti setiap 1 hari sekali.

4.7.5 Pemberian Terapi Kefir Kombinasi Lidah Buaya

Pemberian terapi dilakukan sehari sekali secara topikal dengan cara mengoleskan salep kefir kombinasi lidah buaya sebanyak 5 mg pada area yang dilakukan luka insisi dengan konsentrasi bertingkat yaitu 25% pada kelompok tikus 3, 37,5% pada kelompok tikus 4, dan 50% pada kelompok tikus 5 kemudian dilanjutkan dengan pembalutan luka dengan menggunakan kassa steril yang ditutup menggunakan perekat non-woven (*Hypafix*®) sehari sekali selama 7 hari.

4.7.6 Pengambilan dan Pembuatan Preparat Kulit

Pengambilan jaringan kulit pada hewan coba tikus putih (*Rattus novergicus*) dilakukan pada hari ke-15. Langkah awal yang dilakukan yaitu euthanasi dengan cara dislokasi leher, kemudian dilakukan pengambilan jaringan untuk pemeriksaan histologi secara aseptik menggunakan gunting dengan cara mengeksisi pada bagian luka yang paling luas dengan mengikutsertakan jaringan kulit normal kira-kira 0,5 cm dari tepi luka dengan luas sekitar 2,5x2,5 cm. Jaringan yang diperoleh kemudian dimasukkan kedalam larutan pengawet formalin 10% untuk selanjutnya diproses untuk dilakukan pembuatan preparat histologi (Irma, 2012).

Pembuatan preparat dilakukan dengan cara jaringan kulit yang telah difiksasi menggunakan larutan formalin 10% kemudian dilakukan *trimming* organ dan dimasukkan dalam *cassette tissue* dari plastik. Tahap selanjutnya dilakukan proses dehidrasi alkohol menggunakan konsentrasi alkohol bertingkat yaitu 70%, 80%, 90%, dan 95% masing-masing selama 5 menit. kemudian dilakukan penjernihan menggunakan xylol I selama 1 jam, xylol II dan III selama 30 menit pada suhu ruang dan 30 menit pada inkubator. Preparat dicelupkan pada parafin cair dengan suhu 58-60°C selama 2 jam. Proses pencetakan menggunakan parafin I, parafin II, dan parafin III. Sediaan dimasukkan kedalam alat pencetak yang berisi parafin setengah volume dan sediaan diletakkan kearah vertikal dan horizontal sehingga potongan melintang melekat pada dasar parafin. Setelah mulai membeku, parafin ditambahkan kembali hingga alat pencetak penuh dan dibiarkan sampai parafin mengeras. Blok-blok parafin kemudian dipotong tipis setebal 5 μ m dengan menggunakan mikrotom. Hasil potongan yang berbentuk pita (*ribbon*) tersebut dibentangkan diatas air hangat bersuhu 38-40°C dan langsung diangkat untuk meregangkan potongan agar tidak berlipat atau menghilangkan lipatan akibat dari pemotongan. Sediaan tersebut kemudian diangkat dan diletakkan diatas *object glass* dan dikeringkan selama 24 jam dalam inkubator bersuhu 37-38°C. Kemudian diwarnai dengan pewarnaan HE (Balqis dkk., 2014).

Pewarnaan HE menggunakan zat pewarna hematoksilin. Zat pewarna hematoksilin berfungsi untuk memberi warna biru pada inti sel (basofilik). Eosin merupakan *counterstaining* hematoksilin, digunakan untuk memulas sitoplasma sel dan jaringan penyambung dan memberikan warna merah muda.

Tahapan pewarnaan diawali dengan proses deparafinasi dengan menggunakan xylol lalu dilanjutkan dengan proses rehidrasi dengan menggunakan alkohol absolut I, II dan III masing-masing 5 menit, alkohol 95%, 90%, 80% dan 70% secara berurutan masing-masing selama 5 menit. Sediaan dicuci dengan air mengalir selama 15 menit dan dilanjutkan dengan aquades selama 5 menit. Setelah itu diwarnai dengan pewarna Hematoksilin selama 10 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 30 menit dilanjutkan dengan air aquades selama 5 menit. Sediaan diwarnai dengan pewarna Eosin selama 5 menit dan bilas menggunakan air selama 30 menit dilanjutkan dengan air aquades selama 5 menit. Setelah sediaan diwarnai, dilakukan dehidrasi dengan alkohol 70%, 80%, 90% dan 95% masing-masing selama 5 menit, setelah itu dilakukan proses *Clearing* dengan xylol I, II dan III selama 3 menit. Terakhir, dilakukan *mounting* (perekatan) menggunakan entellan serta ditutup menggunakan *coverglass* (Talley dkk., 2011) (**Lampiran 5**).

4.7.7 Tahap Perhitungan Perkembangan Epidermis

Perkembangan epidermis dinilai dengan cara mengukur ketebalan epidermis. Pengukuran ketebalan epidermis dengan Optilab® perbesaran 400x dan menggunakan program ImageRaster® dengan perbesaran foto 400x. Ketebalan epitel diukur secara tegak lurus mulai dari lapisan basal sampai lapisan korneum yang paling luar dalam satuan mikrometer. Pada daerah perlukaan dipilih lapisan epitel pada tiga titik, yaitu pada bagian kanan epitel yang terinsisi, bagian tengah, dan bagian kiri epitel yang terinsisi. Pengukuran dilakukan dengan mengambil rata-rata dari ketiga titik tersebut (Kartikaningtyas, 2015).

4.7.8 Tahap Perhitungan Jumlah Fibroblas

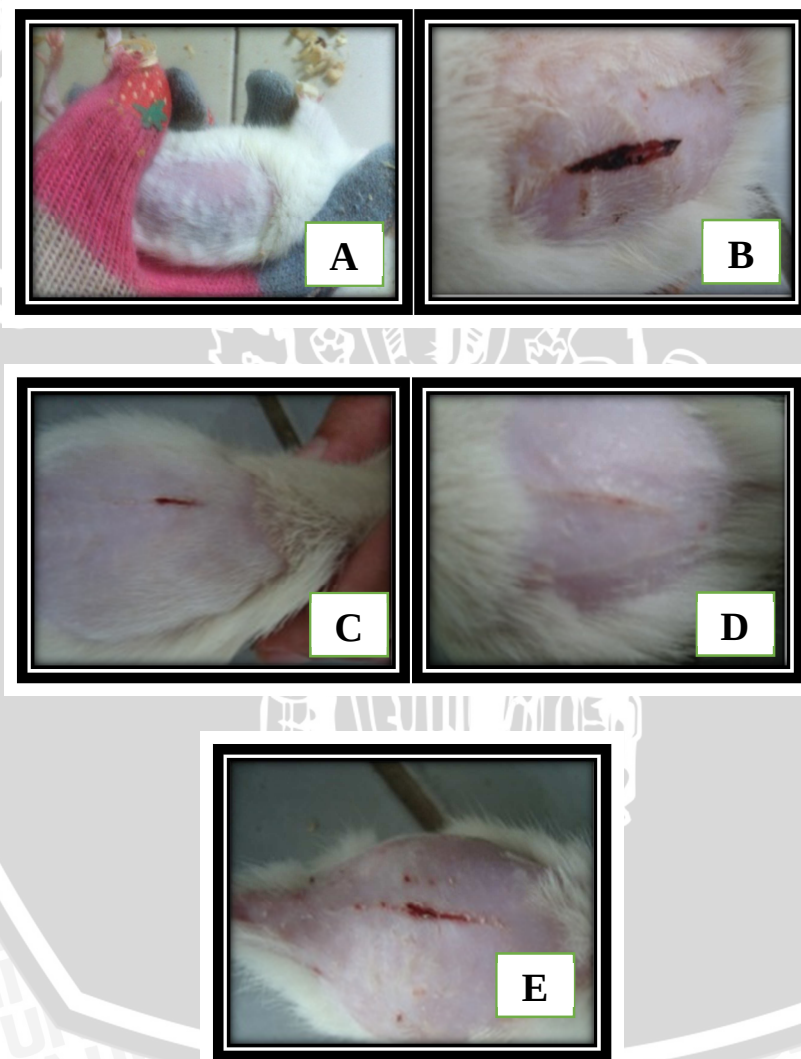
Fibroblas dinilai dengan cara menghitung jumlah pada lima lapang pandang. Perhitungan jumlah fibroblas dengan Optilab® perbesaran 400x dan menggunakan program ImageRaster® dengan perbesaran foto 400x. Fibroblas dilihat dengan gambaran jenis sel berbentuk elips dan berinti serta berwarna ungu pucat. Hasil pengamatan jumlah fibroblas pada lima lapang pandang dari masing-masing sampel dan dirata-rata, kemudian dibandingkan dengan kelompok kontrol dan perlakuan (Kartikaningtyas, 2015).

4.7.9 Analisis Data

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah perkembangan epidermis dan jumlah fibroblas dianalisis secara kuantitatif menggunakan *Microsoft excel* dan *SPSS for windows* dengan analisis statistik ragam ANOVA satu arah dan uji lanjutan dengan uji *Tukey* $\alpha = 0,05$ (Kusriningrum, 2008).

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

Tikus (*Rattus norvegicus*) yang telah diinsisi pada daerah punggung kemudian dilakukan dan diberikan terapi salep kefir kombinasi lidah buaya pada bagian punggung yang telah diinsisi.

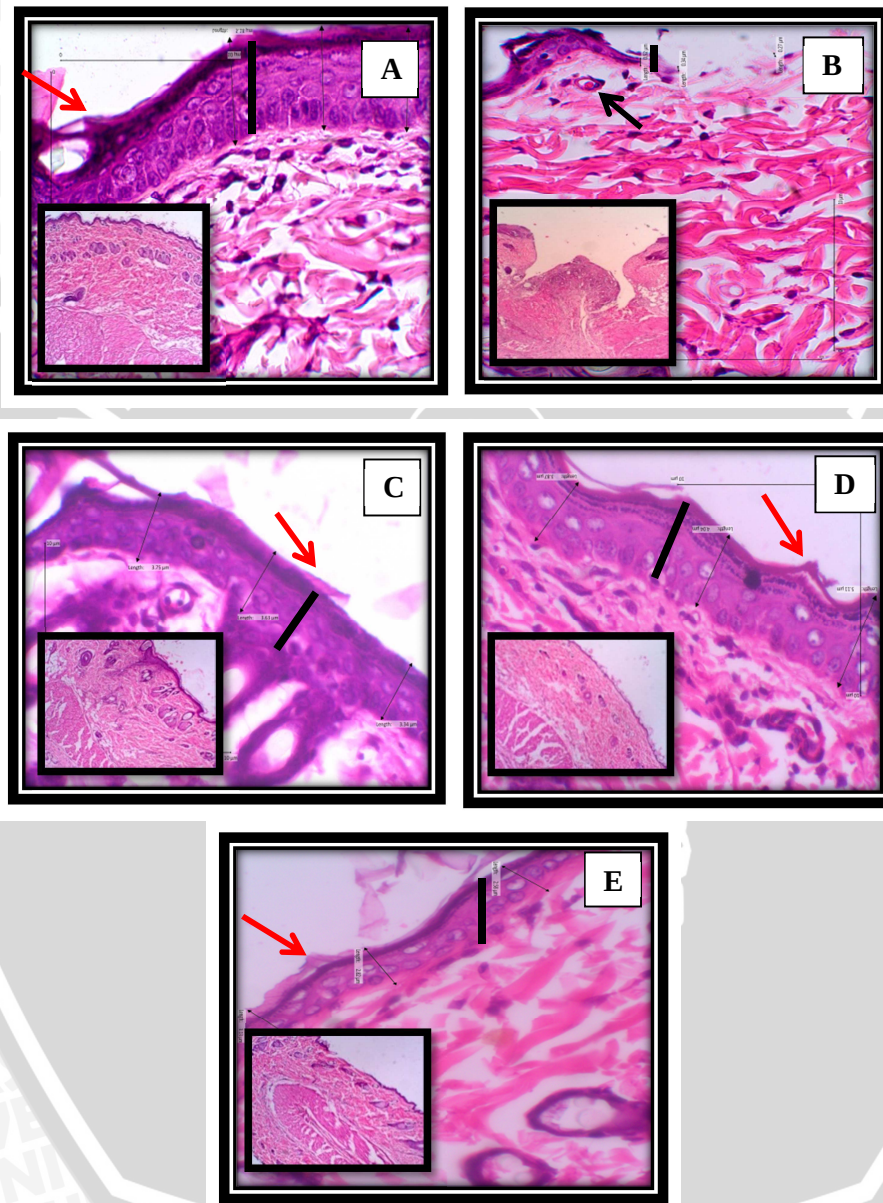


Gambar 5.4 Gambaran makroskopis jaringan kulit tikus

Keterangan : (A) kontrol negatif. (B) kontrol positif. (C) terapi salep kefir kombinasi lidah buaya 25%. (D) terapi salep kefir kombinasi lidah buaya 37,5%. (E) terapi salep kefir kombinasi lidah buaya 50%.

Gambaran makroskopis jaringan kulit tikus kontrol negatif yang tidak diberikan perlakuan apapun atau tanpa dilakukan insisi menunjukkan kulit dalam keadaan normal atau sehat. Berbeda dengan tikus kontrol positif yang dilakukan insisi pada daerah punggung namun tidak diberikan terapi menunjukkan penutupan luka belum sempurna yaitu pada hari ketujuh area insisi masih terdapat banyak debris, area luka masih terbuka, adanya keropeng, pembengkakan, dan tidak adanya pertumbuhan rambut pada daerah kulit yang dilukai. Kelompok terapi 1 dilakukan insisi pada daerah punggung dan diberikan salep kefir kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 25% menunjukkan luka sudah mengering, rubor memudar, dan debris menghilang, namun masih ada sedikit luka yang terbuka dan belum ditumbuhi rambut. Kelompok terapi 2 dilakukan insisi pada daerah punggung dan diberikan salep kefir kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 37,5% menunjukkan adanya penutupan luka yang sempurna yaitu area luka bersih dari debris, luka sudah menutup sempurna dan kulit mulai ditumbuhi rambut. Kelompok terapi 3 dilakukan insisi pada daerah punggung dan diberikan salep kefir kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 50% menunjukkan luka belum mengering sempurna, rubor, tumor, area luka masih terbuka dan belum tampak adanya pertumbuhan rambut. Untuk mengetahui pengaruh pemberian salep kefir kombinasi lidah buaya terhadap perkembangan epidermis dan jumlah fibroblas pada jaringan kulit luka insisi dilakukan pewarnaan dengan metode HE.

5.1 Pengaruh Pemberian Salep Kefir Kombinasi Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) Terhadap Perkembangan Epidermis Pada Luka Insisi Kulit Tikus (*Rattus norvegicus*)



Gambar 5.1 Gambaran mikroskopis perkembangan epidermis jaringan kulit

Keterangan : (A) kontrol negatif. (B) kontrol positif. (C) terapi salep kefir kombinasi lidah buaya 25%. (D) terapi salep kefir kombinasi lidah buaya 37,5%. (E) terapi salep kefir kombinasi lidah buaya 50%. () menunjukkan epidermis, (↑) menunjukkan keratin, (↑) menunjukkan sel radang

Gambaran mikroskopis perkembangan epidermis pada kulit tikus kontrol negatif menunjukkan bentuk normal epidermis terlihat adanya epitel squamous, adanya lapisan epitel yang tebal dan terdapat keratin. Rata-rata tebal epitel kontrol negatif 0,05 mm, hal ini sesuai dengan teori menurut Jain (2012), rata-rata tebal epidermis sebesar 0,04-1,5 mm maka perkembangan epidermis pada kontrol negatif dalam keadaan normal (**Gambar 5.1 A**).

Epidermis merupakan lapisan luar kulit yang terdiri dari lima lapisan yaitu stratum korneum merupakan lapisan terluar yang terdiri dari epitel squamous kompleks, tidak berinti, dan protoplasmanya telah berubah menjadi keratin. Stratum corneum terdiri atas 10-20 lapis sel squamous; Stratum lusidum terletak dibawah stratum korneum, terdiri dari 1-2 lapis sel squamous tanpa inti dengan protoplasma yang berubah menjadi protein; Stratum granulosum terletak dibawah stratum spinosum yang terdiri dari 2 atau 3 lapis sel squamous; Stratum spinosum merupakan lapisan epidermis yang paling kuat dan tebal, terdiri dari beberapa lapis sel yang berbentuk poligonal yang besarnya berbeda-beda akibat adanya mitosis; Stratum basalis merupakan lapisan epidermis paling bawah dan berbatas dengan dermis.

Kelompok kontrol positif terlihat adanya infiltrasi sel radang dan epitelisasi belum terbentuk. Banyaknya sel radang yang terlihat karena adanya respons inflamasi pada jaringan yang mengalami luka (**Gambar 5.1 B**). Kelompok terapi salep kefir kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 25% tampak jaringan epitel yang tebal pada dasar luka dan belum terdapat keratin. Keratin merupakan protein berserat yang dihasilkan oleh keratinosit. Keratinosit

adalah sel epidermis yang sedang dalam pembentukan keratin. Keratinosit diproduksi oleh lapisan sel basal. Apabila keratinosit ini telah dewasa akan bergerak ke lapisan terluar epidermis sehingga akan menyisakan keratin. Rata-rata tebal epitel kontrol positif sebesar 0,002 mm, maka perkembangan epidermis pada kontrol positif belum mencapai keadaan normal ketebalan epidermis yaitu 0,04-1,5 mm. Kelompok terapi salep kefir kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 25% memiliki rata-rata tebal epitel sebesar 0,028 mm, maka perkembangan epidermis pada konsentrasi 25% mendekati keadaan normal yaitu 0,04-1,5 mm (**Gambar 5.1 C**). Kelompok terapi salep kefir kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 37,5% tampak jaringan epitel yang lebih tebal pada dasar luka dan terdapat keratin. Terapi salep kefir kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 37,5% memiliki rata-rata tebal epitel sebesar 0,045 mm, maka perkembangan epidermis pada konsentrasi 37,5% dalam keadaan normal yaitu 0,04-1,5 mm. Hal ini dikarenakan luka sudah tertutup sempurna, ketebalan epidermis pada hari ketujuh telah terbentuk pada jaringan luka. Sesuai dengan teori satu sampai dua hari setelah terjadinya luka, sel epidermis (keratinosit) akan mulai berproliferasi, bermigrasi dan berdiferensiasi dari neoepitelium menjadi sel epidermis yang berlapis-lapis untuk menutup jaringan luka (Li dkk., 2007) (**Gambar 5.1 D**).

Kelompok terapi salep kefir kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 50% tampak jaringan epitel yang tipis jika dibandingkan dengan kelompok terapi konsentrasi 25% pada dasar luka dan diikuti adanya keratin. Terapi salep kefir kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 50% memiliki rata-rata tebal epitel

sebesar 0,02 mm, maka perkembangan epidermis pada konsentrasi 50% mulai mendekati keadaan normal (**Gambar 5.1 E**).

Tabel 5.1 Perkembangan Epidermis Pada Kelompok Tikus Perlakuan

Kelompok	Perkembangan Epidermis Rata-rata (μm) $\pm$ SD	Perkembangan Epidermis	
		Peningkatan	Penurunan
K- (Kontrol negatif)	$55,1 \pm 11,0^c$	-	-
K+ (Kontrol positif)	$2,95 \pm 1,11^a$	-	95%
P1 (Salep 25%)	$20,7 \pm 6,17^b$	601%	-
P2 (Salep 37,5%)	$45,0 \pm 5,68^c$	1425%	-
P3 (Salep 50%)	$28,8 \pm 1,69^b$	876%	-

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

K- memiliki perbedaan yang signifikan terhadap K+, P1 dan P3 namun tidak berbeda signifikan dengan P2. K+ memiliki perbedaan yang signifikan terhadap K-, P1, P2, dan P3. P1 dan P3 memiliki perbedaan yang signifikan terhadap K-, K+, dan P2. P2 memiliki perbedaan yang signifikan terhadap K+, P1, dan P3 namun tidak berbeda signifikan dengan K- (**Tabel 5.1**).

Rata-rata perkembangan epidermis pada K- memiliki nilai yaitu sebesar $55,1 \pm 11,0$ sehingga K- digunakan sebagai standar untuk menentukan adanya peningkatan atau penurunan yang terjadi karena pengaruh perlakuan. Kelompok K- terdapat perkembangan epidermis yang menggambarkan jaringan epitel yang tebal. Hal ini dikarenakan tidak terjadi rangsangan eksogen yang menimbulkan kerusakan jaringan, sehingga tidak memicu terjadinya reaksi inflamasi. Perkembangan epidermis pada kelompok K+ menunjukkan nilai yaitu sebesar $2,95 \pm 1,11$ dan mengalami penurunan sebesar 95% terhadap kelompok

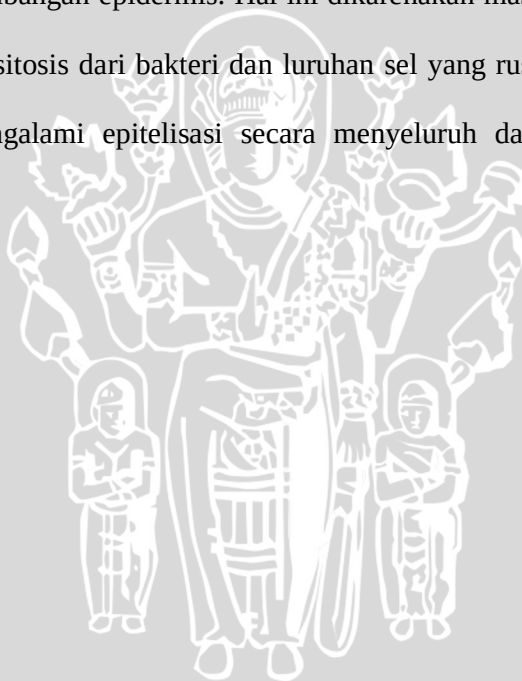
K- (**Tabel 5.1**). Penurunan perkembangan epidermis pada kelompok kontrol positif dikarenakan masih terdapatnya banyak mikroba dan kerusakan jaringan yang harus difagosit oleh sel radang pada daerah luka sehingga belum bisa melakukan proses regenerasi.

Perkembangan epidermis kelompok P1, P2 dan P3 pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dilukai pada daerah punggung menunjukkan adanya presentase peningkatan secara signifikan yang dibandingkan dengan kelompok K+. Adanya pembandingan antar kelompok P1, P2 dan P3 digunakan untuk mengetahui kelompok perlakuan yang memberikan hasil terbaik sebagai efek antiinflamasi dan regenerasi sel dari terapi salep kefir kombinasi lidah buaya sehingga mampu menekan penurunan perkembangan epidermis pada tikus (*Rattus norvegicus*).

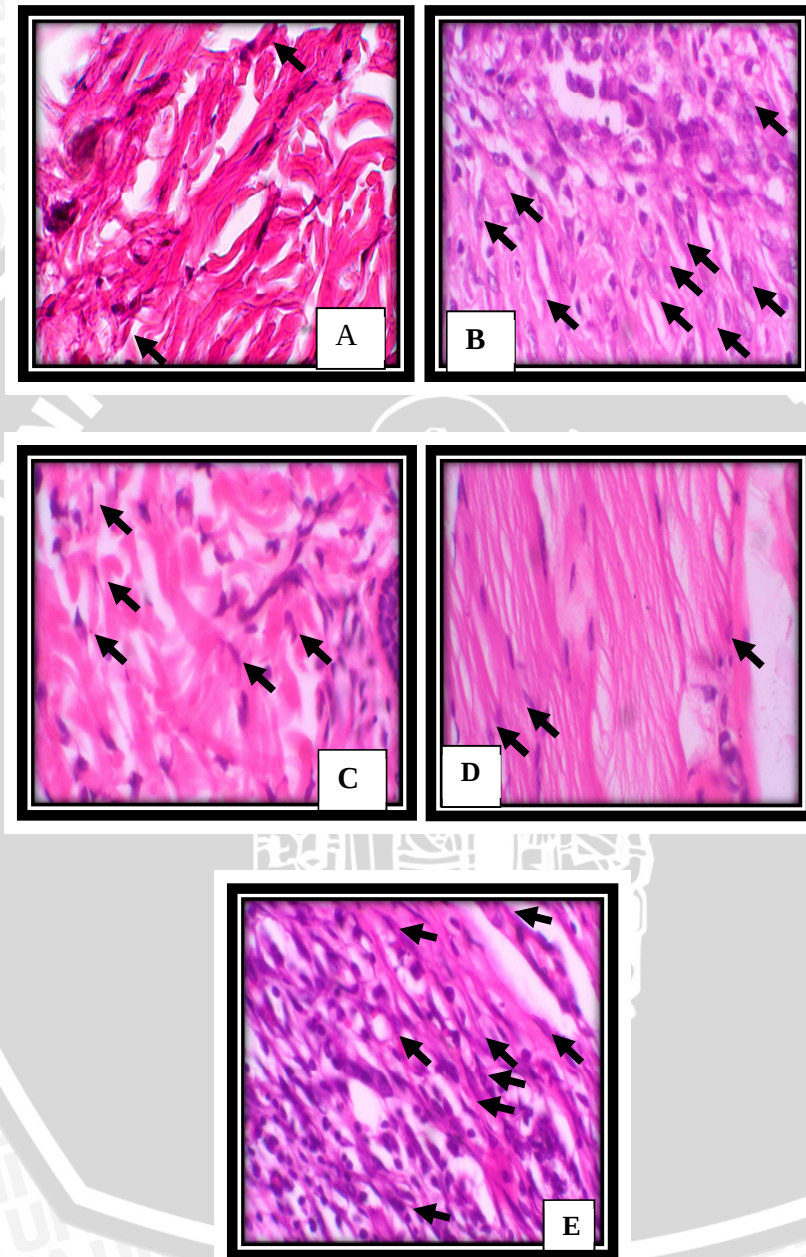
Kelompok P1, P2 dan P3 memiliki nilai rata-rata presentase perkembangan epidermis sebesar $20,7 \pm 6,17$, $45,0 \pm 5,68$, dan $28,8 \pm 1,69$ dan mengalami peningkatan sebesar 601%, 1425%, dan 876% terhadap K+. Hasil terapi salep kefir kombinasi lidah buaya selama 7 hari berturut-turut menunjukkan adanya peningkatan yang signifikan perkembangan epidermis pada P1, P2, P3. Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa pemberian salep kefir kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 25%, 37,5%, dan 50% memberikan pengaruh yang signifikan terhadap peningkatan perkembangan epidermis pada tikus yang dilukai pada daerah punggung (**Tabel 5.1**).

Peningkatan nilai rata-rata presentase perkembangan epidermis pada kelompok P1, P2, P3 menunjukkan bahwa kelompok P2 merupakan dosis paling efektif pada penelitian ini untuk meningkatkan perkembangan epidermis

Peningkatan lapisan epidermis yang semakin tebal dikarenakan oleh jaringan epitel baru yang terbentuk telah matang dan tampak lapisan korneum baru. Peningkatan perkembangan epidermis pada kelompok P1, dikarenakan adanya pengaruh dari vitamin E yang terkandung dalam salep kefir kombinasi lidah buaya dapat merangsang proliferasi sel epitel setelah partikel asing difagosit oleh sel radang sehingga perkembangan epidermis berlangsung cepat. Kelompok P1 dan P3 merupakan dosis yang kurang optimal pada penelitian ini untuk meningkatkan perkembangan epidermis. Hal ini dikarenakan masih menunjukkan adanya aktivitas fagositosis dari bakteri dan luruhan sel yang rusak lebih banyak sehingga belum mengalami epitelisasi secara menyeluruh dan membutuhkan perawatan.



5.2 Pengaruh Pemberian Salep Kefir Kombinasi Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) Terhadap Jumlah Fibroblas Pada Luka Insisi Kulit Tikus (*Rattus norvegicus*)



Gambar 5.2 Gambaran mikroskopis jumlah fibroblas jaringan kulit

Keterangan : (A) kontrol negatif. (B) kontrol positif. (C) terapi kefir kombinasi lidah buaya 25%. (D) terapi kefir kombinasi lidah buaya 37,5%. (E) terapi kefir kombinasi lidah buaya 50%. (↑) menunjukkan fibroblas

Gambaran mikroskopis fibroblas terlihat pada semua kelompok. Fibroblas tersebar pada jaringan ikat dibagian dermis (**Gambar 5.2**). Pada pewarnaan HE terlihat fibroblas memiliki sitoplasma yang berbentuk elips dan memiliki satu inti dan berwarna ungu pucat. Kelompok kontrol negatif menunjukkan adanya jumlah fibroblas pada kontrol negatif lebih sedikit. Fibroblas dalam keadaan normal jumlahnya lebih sedikit dibandingkan dalam keadaan cidera. Hal tersebut menunjukkan jumlah fibroblas muncul dalam kondisi normal pada luka untuk pertahanan kondisi homeostatis dalam sistem imunitas menginisiasi pembentukan jaringan ikat baru (**Gambar 5.2 A**).

Kelompok kontrol positif menunjukkan jumlah fibroblas lebih banyak dibandingkan dengan kontrol negatif (**Gambar 5.2 B**). Sel-sel fibroblas pada terapi salep kefir kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 37,5% terlihat lebih sedikit dibandingkan dengan terapi salep kefir kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 25%. Fibroblas terdapat pada lamina propia di kulit, kemudian bermigrasi dan berproliferasi untuk mensekresi sitokin dan faktor pertumbuhan oleh trombosit dan makrofag saat terjadi luka terutama FGF. Sekresi FGF dari makrofag dan juga dari fibroblas meningkat pada hari ke 7-14 pasca perlukaan sejalan dengan jumlah fibroblas yang meningkat pada periode tersebut (**Gambar 5.2 C**). Kelompok terapi salep kefir kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 37,5% sel fibroblas terlihat lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok terapi salep kefir kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 50% (**Gambar 5.2 E**). Hal ini menunjukkan bahwa terapi salep kefir kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 37,5% dapat menurunkan jumlah fibroblas pada area luka insisi.

Tabel 5.2 Jumlah Fibroblas Pada Kelompok Tikus Perlakuan

Kelompok	Jumlah Fibroblas	
	Rata-rata (sel)±SD	Peningkatan Penurunan
K- (Kontrol negatif)	2,75 ± 0,95 ^a	- -
K+ (Kontrol positif)	13,7 ± 2,95 ^c	79% -
P1 (Salep 25%)	9,17 ± 1,3 ^b	- 33%
P2 (Salep 37,5%)	5,25 ± 1,1 ^a	- 62%
P3 (Salep 50%)	15,35 ± 1,79 ^c	12% -

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

K- memiliki perbedaan yang signifikan terhadap K+, P1 dan P3 namun tidak berbeda signifikan dengan P2. K+ memiliki perbedaan yang signifikan terhadap K-, P1, dan P2 namun tidak berbeda signifikan dengan P3. P1 memiliki perbedaan yang signifikan terhadap K-, K+, P2, dan P3. P2 memiliki perbedaan yang signifikan terhadap K+, P1, dan P3 namun tidak berbeda signifikan terhadap K-. P3 memiliki perbedaan yang signifikan terhadap K-, P1, dan P2 namun tidak berbeda signifikan terhadap K+ (**Tabel 5.2**).

Rata-rata jumlah fibroblas pada K- memiliki nilai terendah yaitu sebesar $2,75 \pm 0,95$ sehingga K- digunakan sebagai standar untuk mengetahui adanya peningkatan atau penurunan yang terjadi karena pengaruh perlakuan. Kelompok K- tidak terjadi rangsangan eksogen yang menimbulkan kerusakan sel, sehingga tidak memicu reaksi vaskuler kompleks pada jaringan ikat yang ada pembuluh darah, dan reaksi inflamasi tidak terjadi, sehingga tidak terjadi peningkatan komponen seluler dan ekstraseluler, yang termasuk komponen seluler adalah eritrosit, leukosit (neutrofil, eosinofil, basofil, monosit, limfosit) dan

trombosit. Komponen ekstraseluler seperti kolagen, glikoprotein adesif, fibronektin laminin, kolagen non fibril, dan proteoglikan, sedangkan yang termasuk komponen jaringan ikat adalah sel mast, fibroblas, monosit, makrofag dan limfosit. Karena tidak ada proses inflamasi maka jumlah fibroblas pada kelompok kontrol negatif menjadi lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan.

Peran fibroblas sangat penting pada proses perbaikan yaitu bertanggung jawab pada persiapan menghasilkan produk struktur protein yang akan digunakan selama proses rekonstruksi jaringan. Fibroblas berpindah ke daerah luka mulai 3 hari setelah pembedahan. Pada jaringan yang normal (tanpa perlukaan), pemaparan sel fibroblas sangat jarang dan biasanya bersembunyi di matriks jaringan ikat. Setelah terjadi luka, fibroblas akan aktif bergerak dari jaringan sekitar luka ke dalam daerah luka, kemudian akan berproliferasi serta mengeluarkan beberapa substansi (kolagen, elastin, hyaluronic acid, fibronectin dan proteoglycans) yang berperan dalam rekontruksi (Prasetya dkk., 2010).

Kelompok K⁺ menunjukkan nilai rata-rata jumlah fibroblas sebesar $13,7 \pm 2,95$ atau mengalami peningkatan sebesar 79% terhadap K⁻ (**Tabel 5.2**). Adanya peningkatan jumlah fibroblas dipengaruhi oleh peningkatan sel makrofag pada luka, karena sel makrofag menghasilkan faktor-faktor pertumbuhan, seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF) *fibroblast growth factor* (FGF), *epidermal growth factor* (EGF), dan *transforming growth factor- β* (TGF- β). Peningkatan kepadatan fibroblas ini disebabkan oleh meningkatnya rangsangan sekretori FGF sebagai hasil dari degranulasi platelet. Faktor-faktor ini mempengaruhi proliferasi fibroblas dan pembuluh darah (Prasetya dkk., 2010).

Kelompok P1 menunjukkan nilai rata-rata jumlah fibroblas sebesar $9,17 \pm 1,3$ atau mengalami penurunan sebesar 33,0% terhadap K+. Penurunan jumlah fibroblas diduga karena adanya pengaruh dari vitamin C yang terkandung dalam salep kefir kombinasi lidah buaya yang berperan dalam diferensiasi sel, sintesis kolagen dan mempercepat proliferasi fibroblas. P1 merupakan dosis yang kurang optimal pada penelitian ini untuk menurunkan jumlah fibroblas. Hal ini dikarenakan karena dasar salep senyawa hidrokarbon lebih banyak sehingga akan menyebabkan kondisi luka berlangsung dalam keadaan lembab. Dalam kondisi lembab jaringan yang rusak karena perlukaan lebih mudah untuk luruh sehingga akan merangsang datangnya sel radang untuk memfagosit luruhan-luruhan sel-sel tersebut.

Kelompok P2 menunjukkan nilai rata-rata jumlah fibroblas sebesar $5,25 \pm 1,1$ atau mengalami penurunan sebesar 62% terhadap K+. P2 merupakan dosis paling efektif pada penelitian ini untuk menurunkan jumlah fibroblas berdasarkan jumlah fibroblas P2 yang mendekati nilai K- dibandingkan dengan P1. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian terapi salep kefir kombinasi lidah buaya konsentrasi 37,5% pada luka insisi mempunyai efek dalam menurunkan jumlah fibroblas dengan cara mempercepat proliferasi fibroblas pada fase fibroplasia. Hal ini menjelaskan bahwa pengamatan jumlah fibroblas pada kelompok perlakuan yang diberikan terapi salep kefir kombinasi lidah buaya konsentrasi 37,5% mengalami penurunan yang signifikan karena pada hari ketujuh (fase proliferasi) luka sudah tertutup oleh epitel sehingga fibroblas tidak mengalami proliferasi dan terjadi maturasi menjadi fibrosit sehingga jumlahnya menurun. Hasil penelitian ini

membuktikan bahwa proses penyembuhan luka berjalan dengan baik karena terapi salep kefir kombinasi lidah buaya konsentrasi 37,5% mempercepat terjadinya proses penyembuhan luka.

Kelompok P3 menunjukkan nilai rata-rata jumlah fibroblas sebesar $15,35 \pm 1,79$ atau mengalami peningkatan sebesar 12% terhadap K+. P3 merupakan dosis toksik pada penelitian ini karena jumlah fibroblas lebih tinggi dibandingkan kelompok K+. Peningkatan jumlah fibroblas yang masih tinggi diduga karena adanya pengaruh dari vitamin C yang berlebihan akan menyebabkan penimbunan komponen matriks ekstraseluler dalam jumlah yang berlebihan, hal ini akan memacu pembentukan scar permanen. Scar permanen merupakan gangguan fibroproliferatif, yang ditandai dengan kelebihan akumulasi kolagen dalam luka. Kondisi ini digambarkan dengan terjadinya ketidaknormalan dalam migrasi dan proliferasi sel, inflamasi, sintesis, dan sekresi pada protein matrik ekstraseluler dan sitokin serta seluruh gambaran matrik pada penyembuhan luka. Semakin tinggi konsentrasi menyebabkan kelebihan vitamin C yang dapat menyebabkan proses penyembuhan luka terhambat, selain itu belum adanya penelitian lanjutan mengenai LD50 dari kefir dan lidah buaya (Suganda, 2011).

Pemberian terapi salep kefir kombinasi lidah buaya mampu meningkatkan perkembangan epidermis dan menurunkan jumlah fibroblas. Seluruh kelompok Perlakuan yaitu dengan konsentrasi 25%, 37,5%, dan 50% memberikan pengaruh terhadap peningkatan perkembangan epidermis dan penurunan jumlah fibroblas. Berdasarkan gambaran makroskopis, mikroskopis dan uji statistika, P2 dengan pemberian konsentrasi 37,5% memiliki perbedaan yang signifikan terhadap

kelompok kontrol positif mampu meningkatkan perkembangan epidermis dan menurunkan jumlah fibroblas hingga mendekati kondisi normal (K-). Keadaan ini membuktikan bahwa terjadi proses penyembuhan luka yang semakin cepat, sehingga luka yang terjadi sudah mengalami kesembuhan luka. Proses penyembuhan luka terdiri dari fase hemostasis, inflamasi, proliferasi dan maturasi. Pada fase proliferasi akan terlihat peningkatan jumlah sel dan faktor-faktor penyembuhan luka, salah satunya yaitu terjadi proliferasi fibroblas. Proliferasi dari fibroblas menentukan hasil akhir dari penyembuhan luka. Fibroblas adalah sel yang mensintesis matriks ekstraseluler dan kolagen yang berperan penting dalam penyembuhan luka. Fibroblas berfungsi mempertahankan integritas struktur jaringan ikat dengan memproduksi matriks ekstraseluler. Fibroblas terakumulasi di daerah luka antara dua sampai lima hari pasca cedera. Fibroblas akan memproduksi matriks ekstraseluler yang kemudian akan digantikan oleh kolagen yang akan menautkan luka, dan fibroblas juga akan mempengaruhi proses reepitelisasi yang akan menutup luka. Fase proliferasi fibroblas akan segera menghilang setelah matriks kolagen mengisi kavitas luka (Gurtner, 2007).

Proses epitelisasi merupakan tahapan perbaikan luka yang meliputi mobilisasi, migrasi, mitosis, diferensiasi sel epitel menjadi epidermis yang berlapis-lapis, dan mengembalikan *basement membrane zone* menjadi utuh yang menghubungkan epidermis dan dermis yang dipengaruhi oleh EGF, TGF- α , dan KGF. Proliferasi sel epitel berupa aktivitas mitosis dari sel-sel epitel yang berada di dekat tepi luka. Kemudian beberapa sel epitel yang telah matang akan keluar dari tepi luka dengan gerakan amuboid menuju bagian permukaan luka hingga sel

epitel yang bermigrasi dari segala arah akhirnya menyatu di bagian tengah luka. Apabila sel-sel epitel telah menyatu di bagian tengah luka, maka luka akan tertutup sepenuhnya dan terbebas dari kontaminasi lingkungan luar tubuh sehingga proses pematangan jaringan dibawahnya akan berlangsung dengan lebih baik. Suatu luka dapat dikatakan sembuh apabila daerah luka tersebut telah mengalami epitelisasi secara menyeluruh dan tidak lagi membutuhkan perawatan (Febram, 2010).

Kefir kombinasi lidah buaya juga mengandung vitamin E, vitamin C. Vitamin E berperan dalam meningkatkan reepitelisasi dengan cara meningkatkan aliran darah menuju ke sel yang rusak sehingga mempercepat pemulihan sel epitel yang rusak (Rahayu, 2010). Vitamin C sangat penting sebagai *growth factor*. *Growth factor* ini berkontribusi dalam penyembuhan luka dengan menstimulasi fibroblas (*connectivetissue cells*) untuk memproduksi kolagen lebih banyak, yang akan mengisi daerah luka dan dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Keadaan kekebalan tubuh yang baik ini dapat meningkatkan fungsi sistem imun, sehingga dapat meningkatkan proliferasi fibroblas (Putra, 2010).

Terapi salep kefir kombinasi lidah buaya juga mengandung polisakarida yang berfungsi sebagai anti-inflamasi yang bekerja dengan cara menghambat enzim siklooksigenase dan lipooksigenase pada kaskade inflamasi, sehingga produksi prostaglandin dan leukotrien dapat berkurang. Penekanan prostaglandin sebagai mediator inflamasi dapat menyebabkan berkurangnya nyeri dan pembengkakan, mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dalam aliran darah lokal, sehingga migrasi sel radang akan menurun (Balqis, 2014).

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Terapi salep kefir kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 37,5% pada tikus luka insisi merupakan dosis paling efektif yang dapat meningkatkan perkembangan epidermis mendekati kondisi normal.
2. Terapi salep kefir kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 37,5% pada tikus luka insisi merupakan dosis paling efektif yang dapat menurunkan jumlah fibroblas.

6.2 Saran

Diperlukan penelitian lanjutan untuk pengaplikasian terapi salep kefir kombinasi lidah buaya untuk penyembuhan luka insisi pada pet animal atau hewan lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Atik, N., A.R.J. Iwan. 2010. *Perbedaan Efek Pemberian Topikal Gel Lidah Buaya (Aloe vera L.) dengan Solusio Povidone Iodine Terhadap Penyembuhan Luka Sayat pada Kulit Mencit (Mus musculus)*. Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran Bandung.
- Balqis, U., Rasmaidar, dan Marwiyah. 2014. *Gambaran Histopatologi Penyembuhan Luka Bakar Menggunakan Daun Kedondong (Spondias dulcis F.) dan Minyak Kelapa pada Tikus Putih (Rattus norvegicus)*. Jurnal Medika Veterinaria, 8(1), 31-36.
- Broughton II, G., Janis, J.E., Attiger, C.E. 2006. *Wound healing : An Overview*. Plastic Reconstruction Surgery 117 (supplement) : 1eS-32eS.
- Dalimartha, S. 2008. *Pemanfaatan Lidah Buaya (Aloe vera L.)*. Online. <http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/20696/4/chapter%201l.pdf>. Diakses tanggal 6 Desember 2015.
- Danu, M. dan D. Ishandono. 2012. *The Effect Of Aloe Vera On Healing Process Of Incision Wound*. Jurnal Plastik Rekonstruksi.
- Fitri, N. 2015. *Penggunaan Krim Ekstrak Batang Dan Daun Suruhan (Peperomia Pellucida L.H.B.K) Dalam Proses Penyembuhan Luka Bakar Pada Tikus Putih (Rattus Norvegicus)*. Biopendix. Vol 1. no 2. hlm. 193-203.
- Febram, B., Letje, W., Bambang, P. 2010. *Aktifitas Sediaan Salep Ekstrak Batang Pohon Pisang Ambon (Musa paradisiaca var sapientum) Dalam Proses Persembuhan Luka pada Mencit (Mus musculus albinus)*. Majalah Obat Tradisional, 15(3), 121-137.
- Choi, S.W., B.W. Son, Y.S. Son, Y.I. Park, , S.K. Lee, M.H. Chung. 2001. *The Wound-Healing Effect Of A Glycoprotein Fraction Isolated From Aloe Vera*. British Journal of Dermatology. Vol: 145, No.4. p. 535-545.
- Chrysman, S. Prahastuti., E. Evacuasiyany. 2010. *Perbandingan Efek Ekstrak Kunyit (Curcuma domestica Val) Dan Madu (Mel deporatum) Terhadap Penyembuhan Luka Insisi Pada Mencit (Mus musculus) Swiss Webster Jantan*. Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha.
- Gurtner, G.C. 2007. *Wound Healing, Normal And Abnormal*. In: Thorne CH, Beasley, R.W., Aston, S.J., Bartlett, S.P., Gurtner, G.C., Spear, S.L. (Eds). *Grabb and Smith's plastic surgery*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; p:15-22.

- Hatz RA., R. Niedner., and W. Vanscheidt. 2004. *Physiology of Wound Healing*. Berlin: Springer-Verlag GmbH Co, p: 1-16.
- Irma, K. 2012. *Pemberian Platelet Rich Plasma Topikal Meningkatkan Proses Regenerasi Jaringan Luka Pada Tikus Putih*. [Tesis]. Denpasar: Program Pascasarjana Universitas Udayana.
- Jain, S. 2012. *Dermatology. Journal of Illustrated Study Guide and Comprehensive Board Review*. USA: Springer Science, Bussiness Media. ILC. p. 2-10.
- Kartika, R.W. 2015. *Perawatan Luka Kronis dengan Modern Dressing Wound Care/Diabetic Center*, vol. 42 no. 7
- Kartikaningtyas, A.T., Prayitno dan S.P. Lastiany. 2015. *Pengaruh Aplikasi Gel Ekstrak Kulit Citrus Sinensis Terhadap Epitelisasi Pada Penyembuhan Luka Gingiva Tikus Sprague Dawley*. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Keller, U., A. Kumin, S. Braun, S. Werner. 2006. *Reactive Oxygen Species and Their Detoxification in Healing Skin Wounds*. Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings. Volume 11.
- Kusriningrum. 2008. *Dasar Perancangan Percobaan dan Rncangan Acak Lengkap*. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya.
- Li, J., J. Chen, R. Kirsner. 2007. *Pathophysiology Of Acute Wound Healing*. Clinics in Dermatology. Vol: 25. p. 9-8.
- Odom, R.B., W.D. James., and T.G. Berger. 2000. *Diseases Of The Skin*. Edisi ke-9. Philadelphia : WB Saunders Co ; h: 1-13.
- Potter, P.A. dan A.G. Perry. 2006. *Buku Ajar Fundamental Keperawatan : Konsep, Proses, dan Praktik*. Edisi 4. Volume 2. Alih Bahasa oleh Renata Komalasari, dkk. Jakarta: EGC.
- Potter, W.P. 2007. *Rats and Mice: Introduction and Use In Research Health Sciences Center for Educational Resources university of Washington*.
- Prasetyo, B.F., W. Ietje., B.P. Priosoeryanto. 2010. *Aktivitas Sediaan Gel Ekstrak Batang Pohon Pisang Ambon dalam Proses Penyembuhan Luka pada Mencit*. Jurnal Veteriner. Vol. 11 No. 2 : 70-73.
- Premjeet, S. 2012. *Additivies in Topical Dosage Forms*. International Journal of Pharmaceutical, Chemical, and Biological Sciences, 2 (1), 78-96.

- Putra, A. T., W., A. Wiwit., FW, M.Y., Hamidy. 2010. *Tingkat Kepadatan Fibroblas Pada Luka Sayat Mencit Dengan Pemberian Gel Lidah Buaya (Aloe chinensis Baker)*. Fakultas Kedokteran Universitas Riau. Pekanbaru.
- Rahayu, F., A. FW. Wiwit., W. Rahayu. 2010. *Pengaruh Pemberian Topikal Gel Lidah Buaya (Aloe chinensis Baker) Terhadap Reepitelisasi Epidermis Pada Luka Sayat Kulit Mencit (Mus musculus)*. Fakultas Kedokteran Universitas Riau. Pekanbaru.
- Robbins, K.C. 2004. *Buku Ajar Patologi (Ed 7)*. Jakarta : Buku Kedokteran EGC.Vol 1.
- Rodrigues, K.L., J.C.T., Carvalho, J.M., Schneedorf. 2015. Anti-inflammatory Properties of Kefir and its Polysaccharide Extract. *Inflammopharmacology*, Vol. 12 No. 5-6, pp. 485-492.
- Sawitri, M.E. 2011. *Kajian Penggunaan Ekstrak Susu Kedelai terhadap Kualitas Kefir Susu Kambing*. J Ternak Tropika Vol. 12 No. 1: 15-21.
- Schaefer, H. T.E. Redelmeier, G.J. Nohynek, J. Lademann. 2008. *Pharmacokinetics and Topical Applications of Drugs*. Dalam Wolff K, Goldsmith LA, Katz SI, Gilvherst BA, Paller AS, Leffel DJ. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. Edisi ke-7. New York: McGraw Hill; 2008. P. 2097-102.
- Schultz, G.S. 2007. *The Physiology of Wound Bed Preparation*. In Granick MS, Ganeli RL., (Eds). Surgical Wound Healing and Management. Informa Healthcare USA Inc. New York, pp 1-5.
- Semih Otles and Ozlem Cagindi. 2003. *Kefir: A Probiotic Dairy-Composition, Nutritional and Therapeutic Aspects*. Asian Network for Scientific Information 2003. Pakistan Journal of Nutrition 2 (2): 54-59, 2003.
- Sharma, S. 2008. *Topical Drug Delivery System: A Review*. Pharmaceut. Rev. 6:1-29.
- Sherwood, L. 2011. *Fisiologi Manusia Dari Sel ke Sistem*. (Ed 6). Jakarta : Buku Kedokteran EGC.
- Sjamsuhidayat, R & Jong, W. 2005. *Buku ajar ilmu bedah*. (Ed 2). Jakarta: EGC.
- Sudrajat, I. 2006. *Perbandingan dan Hubungan Skor Histologi CD8+ dan Rasio Skor Histologi CD4+/CD8+ di Sekitar Luka Dengan dan Tanpa Infiltrasi Levobupivakain Pada Penyembuhan Luka Pasca Insisi*. Universitas Diponegoro Semarang.
- Suganda, R.R.P. 2011. *Peranan Vitamin C Dalam Perawatan Luka*. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung.

Suriasih, Ketut. 2015. *Minuman Probiotik “Kefir” Susu Sapi Bali*. Bali: Universitas Udayana Press.

Talley, NJ., M.T. Abreu, J.P. Achkar, C.N. Bernstein, M.C. Dubinsky, S.B. Hanauer, S.V. Kane, W.J. Sandborn, T.A. Ulman and P. Moayyedi. 2011. *An Evidence –Based Systemic Reviewon Medical Therapies for Inflammatory Bowel Disease*. Am J Gastroenterol ; 106:S2-S25.

Usmiati, S. 2010. *Kefir, Susu Fermentasi dengan Rasa Menyegarkan*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. Bogor

Wijayakusuma, H. 2007. *Cantik dan Sehat dengan Lidah Buaya*. Online. <http://www.pondokrenungan.com>. Diakses tanggal 16 Desember 2015.

Yanhendri, S.W., Yenny. 2012. *Berbagai Bentuk Sediaan Topikal dalam Dermatologi*. Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, vol. 39 no. 6.



UNIVERSITAS BRAWIJAYA



LAMPIRAN

Lampiran 1. Sertifikat Laik Etik Penggunaan Hewan Model**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA****KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARENCE"**

No: 560-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA****TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

PENELITIAN BERJUDUL : PENGARUH PEMBERIAN KEFIR KOMBINASI LIDAH
BUAYA (ALOE VERA) TERHADAP PERKEMBANGAN
EPIDERMIS DAN JUMLAH FIBROBLAS SEBAGAI
PENYEMBUH LUKA INSISI PADA TIKUS (RATTUS
NORVEGICUS)

PENELITI : RIZKA SURYANING DEWI

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

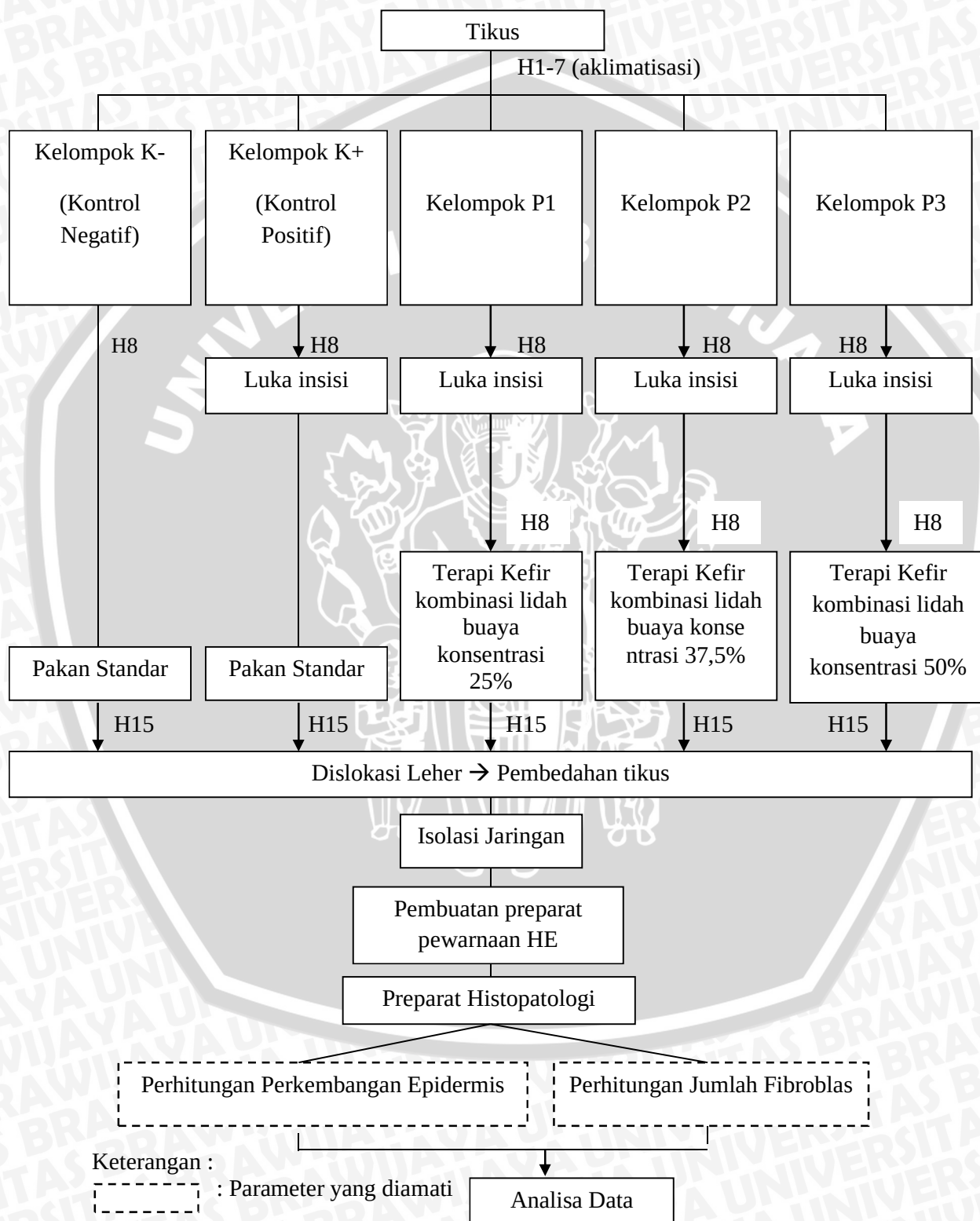
DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 30 Mei 2016

Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas BrawijayaProf. Dr. drh. Aulanni'am, DES.
NIP. 19600903 198802 2 001

Lampiran 2. Surat Keterangan Determinasi Lidah Buaya

 DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR UPT MATERIA MEDICA Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313) KOTA BATU	
Nomor	: 074 / 223 / 101.8 / VIII / 2016
Sifat	: Biasa
Perihal	: <u>Determinasi Tanaman Lidah Buaya</u>
Memenuhi permohonan saudara :	
Nama/NIM	: OLIVIA ANGITA Y.P. / 125130100111049 RIZKA SURYANING DEWI / 125130101111048 LOVY CENDYA L. / 125130103111050
Fakultas	: JURUSAN PENDIDIKAN DOKTER HEWAN, FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG
1. Perihal determinasi tanaman lidah buaya Kingdom : Plantae (Tumbuhan) Sub kingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh) Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji) Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga) Sub divisi : Angiospermae Kelas : Monocotyledonae Bangsa : Liliales Suku : Liliaceae Marga : Aloe Jenis : <i>Aloe Vera</i> Linn. Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-15a-109a-110b-111a-112a-113b-116a-119b-120b-128b-129b-135b-136a-137b.	
2. Morfologi : Habitus: Semak, tahunan, tinggi $\pm$ 1 m. Batang: Bulat, tidak berkayu, percabangan monopodial. Daun: Tunggal, lanset, ujung runcing, pangkal tumpul, tepi bergerigi, panjang 30-50 cm, lebar 2-5 cm, berdaging tebal, berendir, bergetah kuning, hijau. Bunga: Majemuk, bentuk malai, di ujung batang, daun pelindung panjang = 1,5 cm, benang sari enam, putik menyembul keluar atau melekat pada pangkal kepala sari, tangkai putik silindris, kepala putik bulat, kecil, mahkota panjang 2,5-3,5 cm, bertabung pendek, ujung melebar, jingga atau merah. Buah: Kotak, panjang $\pm$ 20 cm, berkatup, hijau keputih-putihan. Buah: Bulat, kecil, hitam. Akar: Serabut, kuning kotor.	
3. Nama Simplisia : Succus Aloe Inspissatus / Daging daun lidah buaya	
4. Kandungan Kimia : Daun lidah buaya mengandung aloin, aloe-emodin, rhein, aloinoside A, barbaloin, vitamin (B1, B2, B6, B12, dan C), mineral (kalsium, natrium, kalium, mangan, seng), asam amino esensial, lemak, polisakarida, isoharbaloin, rhein, aloin, aloinoside B, antrakuinon, saponin, karbohidrat, enzim (oksidase, katalase, lipase, amilase) dan hormon.	
5. Penggunaan : Penyusunan Tugas Akhir*	
6. Daftar Pustaka - Anonim. http://www.tanamanobat.com/lidah_buaya , diakses tanggal 9 Januari 2009. - Anonim. http://www.warintek.ristek.go.id/lidah_buaya , diakses tanggal 15 Desember 2010. - Anonim. http://www.iptek.net.id/Lidah_buaya , diakses tanggal 21 Oktober 2010. - Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Johny Ria Hutapea. 1991. Inventaris Tanaman Obat Indonesia I. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. - Van Steenis, CGGI. 2008. FLORA, Pradnya Paramita, Jakarta.	
Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.	
Batu, 01 Agustus 2016 Kepala UPT Materia Medica Batu  Dr. Basim RM, Drs. Apt., M.Kes.	

Lampiran 3. Kerangka Operasional Rancangan Penelitian

Lampiran 4. Menurut Premjeet (2012) berikut adalah Perhitungan dan Formulasi Salep Kefir Kombinasi Lidah Buaya

▪ **Perhitungan**

Formula

- Dibuat sediaan 1 gr $\rightarrow 5 \text{ mg} \times 10 \text{ hari} = 50 \text{ mg} = 0,05 \text{ gr} \times 20 \text{ ekor} = 1 \text{ gr}$
 - Salep Kefir Kombinasi Lidah Buaya : 25%, 37,5%, 50%
 - Vaseline Albume : 95%
 - Cera Alba : 5%
 - Perbandingan Kefir dan Lidah Buaya yang digunakan : 3:1
- Basis Salep

KEFIR LIDAH BUAYA 25%

$$\frac{25}{100} \times 1 \text{ gr} = 0,25 \text{ gr}$$

Kefir

$$\frac{3}{4} \times 0,25 \text{ gr} = 0,19 \text{ gr}$$

Lidah Buaya

$$\frac{1}{4} \times 0,25 \text{ gr} = 0,06 \text{ gr}$$

- Basis Salep: $100\% - 25\% = 75\%$

$$\frac{75}{100} \times 1 \text{ gr} = 0,75 \text{ gr} \rightarrow \text{Berat basis salep salep (vaseline album dan cera alba) yang terkandung pada salep kefir 25% sediaan 1 gr}$$

Vaseline Albume

$$\frac{95}{100} \times 0,75 \text{ gr} = 0,71 \text{ gr}$$

Cera Alba

$$\frac{5}{100} \times 0,75 \text{ gr} = 0,04 \text{ gr}$$

▪ **Penimbangan**

BAHAN	PENIMBANGAN
Kefir Susu Sapi	0,19 gr
Sari Lidah Buaya	0,06 gr
Vaseline albume	0,71 gr
Cera Alba	0,04 gr

KEFIR LIDAH BUAYA 37,5%

$$\frac{37,5}{100} \times 1 \text{ gr} = 0,38 \text{ gr}$$

Kefir

$$\frac{3}{4} \times 0,38 \text{ gr} = 0,29 \text{ gr}$$

Lidah Buaya

$$\frac{1}{4} \times 0,38 \text{ gr} = 0,09 \text{ gr}$$

- Basis Salep: $100\% - 37,5\% = 62,5\%$

$$\frac{62,5}{100} \times 1 \text{ gr} = 0,62 \text{ gr} \rightarrow \text{Berat basis salep salep (vaseline album dan cera alba) yang dibutuhkan pada salep kefir 37,5% sediaan 1 gr}$$

Vaseline Albume

$$\frac{95}{100} \times 0,62 \text{ gr} = 0,59 \text{ gr}$$

Cera Alba

$$\frac{5}{100} \times 0,62 \text{ gr} = 0,03 \text{ gr}$$

▪ **Penimbangan**

BAHAN	PENIMBANGAN
Kefir Susu Sapi	0,29 gr
Sari Lidah Buaya	0,09 gr
Vaseline albume	0,59 gr
Cera alba	0,03 gr

KEFIR LIDAH BUAYA 50%

$$\frac{50}{100} \times 1 \text{ gr} = 0,5 \text{ gr}$$

Kefir

$$\frac{3}{4} \times 0,5 \text{ gr} = 0,38 \text{ gr}$$

Lidah Buaya

$$\frac{1}{4} \times 0,5 \text{ gr} = 0,12 \text{ gr}$$

- Basis Salep: $100\% - 50\% = 50\%$

$$\frac{50}{100} \times 1 \text{ gr} = 0,5 \text{ gr} \rightarrow \text{Berat basis salep salep (vaseline album dan cera alba) yang dibutuhkan pada salep kefir 50\% sediaan 1 gr}$$

Vaseline Albume

$$\frac{95}{100} \times 0,5 \text{ gr} = 0,47 \text{ gr}$$

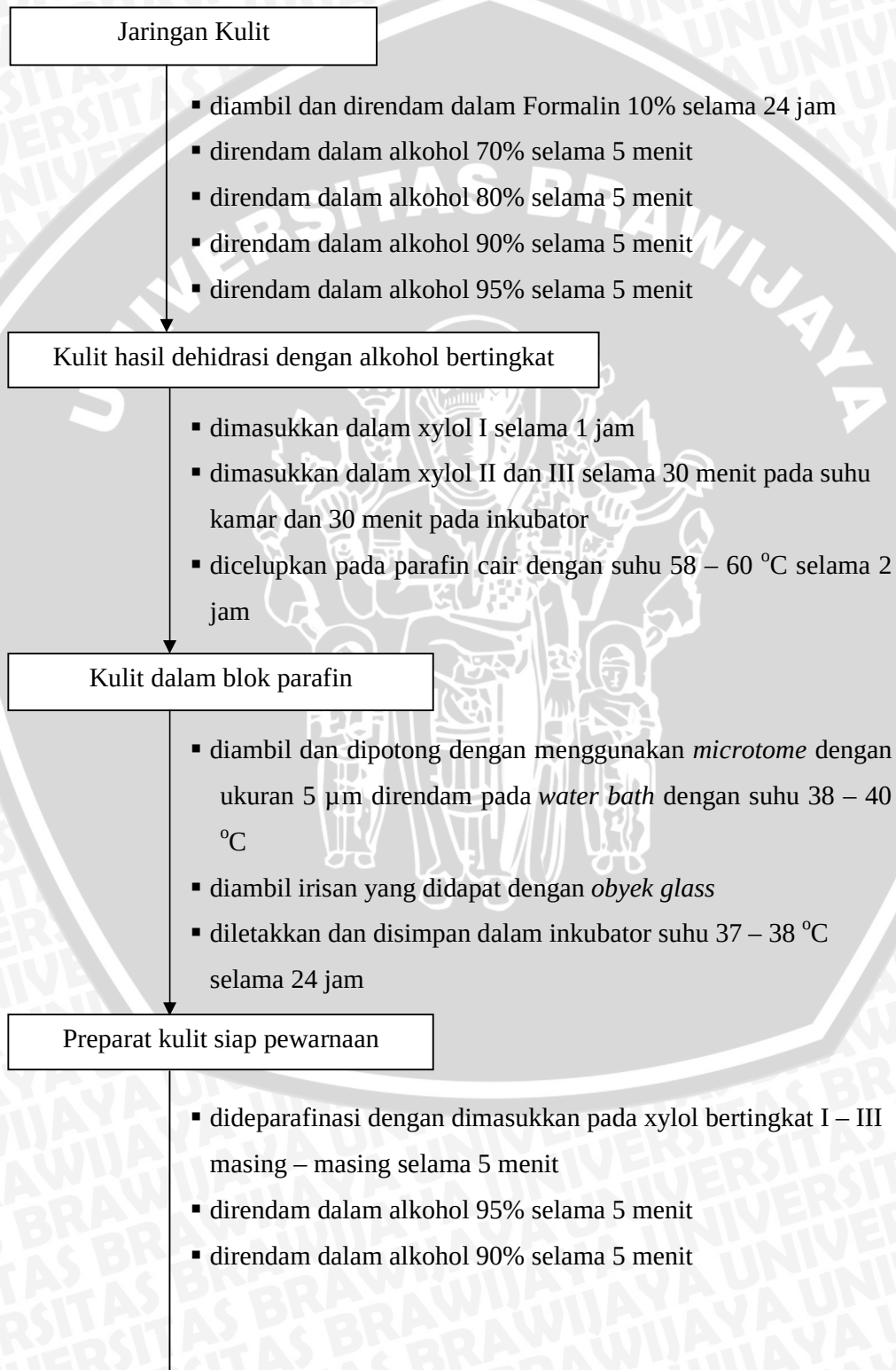
Cera Alba

$$\frac{5}{100} \times 0,5 \text{ gr} = 0,03 \text{ gr}$$

▪ **Penimbangan**

BAHAN	PENIMBANGAN
Kefir Susu Sapi	0,38 gr
Sari Lidah Buaya	0,12 gr
Vaseline albume	0,47 gr
Cera alba	0,03 gr

Lampiran 5. Pembuatan Preparat dan Pewarnaan *Hematoxyline Eosin* (HE)
Histopatologi Jaringan Kulit



- direndam dalam alkohol 80% selama 5 menit
- direndam dalam alkohol 70% selama 5 menit
- direndam dalam aquades selama 5 menit

Preparat Kulit

- diwarnai dengan *hematoxyline* selama 10 menit
- dicuci dengan aquades selama 5 menit
- dimasukkan dalam pewarna eosin selama 5 menit
- dicuci dengan aquades selama 5 menit
- dimasukkan dalam alkohol 70% selama 5 menit
- dimasukkan dalam alkohol 80% selama 5 menit
- dimasukkan dalam alkohol 90% selama 5 menit
- dimasukkan dalam alkohol 95% selama 5 menit
- di *clearing* dalam xylol I – II masing – masing selama 3 menit
- dikering anginkan dan ditutup dengan *cover glass*
- di *mounting* dengan menggunakan entellan

Preparat kulit Pewarnaan HE

Lampiran 6. Hasil uji statistika pengaruh salep kefir kombinasi lidah buaya terhadap perkembangan epidermis pada jaringan kulit tikus (*Rattus norvegicus*) luka insisi

Tabel L.6.1 Uji Normalitas Data

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		Ketebalan Epidemis
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	30,5550
	Std. Deviation	1,957941
Most Extreme Differences	Absolute	,112
	Positive	,112
	Negative	-,079
Test Statistic		,503
Asymp. Sig. (2-tailed)		,962 ^{c,d}

a. Test distribution is Normal.

Hasil pengujian normalitas nilai menunjukkan nilai signifikansi (p) sebesar 0,962. Oleh karena nilai $p > 0,05$, maka H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai distribusi yang tersebar dengan normal.

Tabel L.6.2 Uji Homogenitas Varian

Perkembangan Epidermis

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.175	4	15	.018

Hasil pengujian menunjukkan nilai *levene test* sebesar 4.175 dengan nilai signifikansi (p) sebesar 0,018. Oleh karena nilai $p > 0,05$, maka H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai ragam yang homogen.

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

Tabel L.6.3 Uji Statistik ANOVA

Perkembangan Epidermis

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6695.177	4	1673.794	42.662	.000
Within Groups	588.512	15	39.233		
Total	7283.689	19			

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

Tabel L.6.4 Uji Tukey

Perkembangan Epidermis

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Kontrol +	4	2.9500	20.7750 28.8750	55.1000 45.0750
50%	4			
25%	4			
Kontrol -	4			
37,5%	4			
Sig.		1.000	0.394	0.21

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 7. Hasil uji statistika pengaruh salep kefir kombinasi lidah buaya terhadap jumlah fibroblas pada jaringan kulit tikus (*Rattus norvegicus*) luka insisi

Tabel L.7.1 Uji Normalitas Data

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		Fibroblas
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3,000
	Std. Deviation	1,451
Most Extreme Differences	Absolute	,155
	Positive	,155
	Negative	-,155
Kolmogorov-Smirnov Z		,692
Asymp. Sig. (2-tailed)		,725

a. Test distribution is Normal.

Hasil pengujian normalitas nilai menunjukkan nilai signifikansi (p) sebesar 0,725. Oleh karena nilai $p > 0,05$, maka H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai distribusi yang tersebar dengan normal.

Tabel L.7.2 Uji Homogenitas Varian

Fibroblas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.618	4	15	,221

Hasil pengujian menunjukkan nilai *levene test* sebesar 1.618 dengan nilai signifikansi (p) sebesar 0,221. Oleh karena nilai $p > 0,05$, maka H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai ragam yang homogen.

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

Tabel L.7.3 Uji Statistik ANOVA

Fibroblas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	461.072	4	115.268	36.418	.000
Within Groups	47.478	15	3.165		
Total	508.550	19			

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

Tabel L.7.4 Uji Tukey

Fibroblas

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Kontrol -	4	2.75000		
37,5%	4	5.75000		
25%	4		9.17500	
Kontrol +	4			13.7000
50%	4			15.3500
Sig.		0.164	0.921	0.659

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.