

**PENGARUH SALEP KOMBINASI EKSTRAK  
KULIT BUAH NAGA (*Hylicereus polyrhizus*)  
DAN LIDAH BUAYA (*Aloe vera*) TERHADAP  
EKSPRESI IL-1 $\beta$  DAN KETEBALAN  
EPIDERMIS PADA LUKA INSISI  
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

**SKRIPSI**

Oleh :

**ABDUL HARIS ANAFI**

**135130101111040**

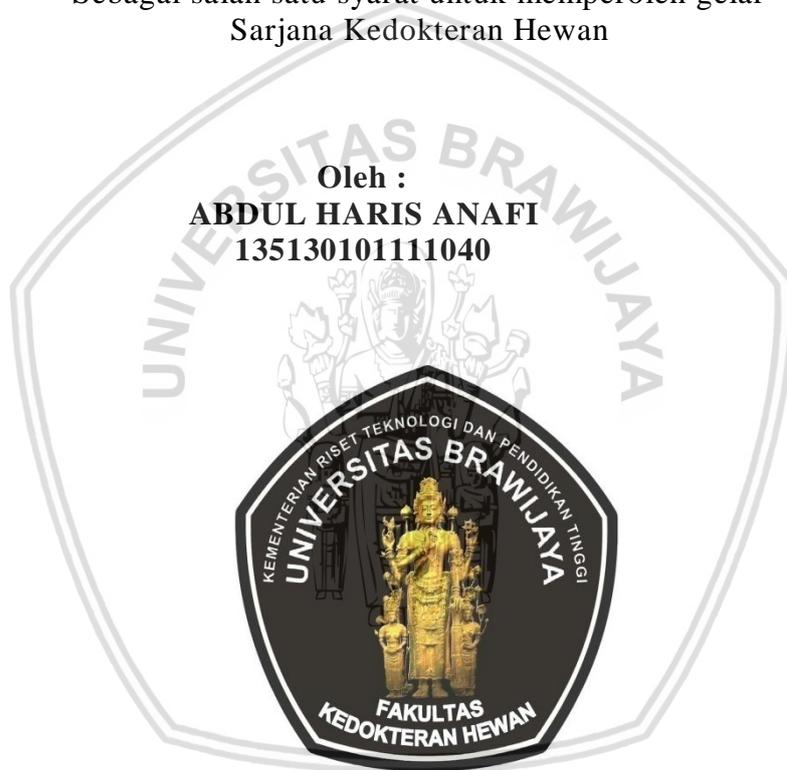


**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**

**PENGARUH SALEP KOMBINASI EKSTRAK KULIT BUAH  
NAGA (*Hylicereus polyrhizus*) DAN LIDAH BUAYA (*Aloevera*)  
TERHADAP EKSPRESI IL-1 $\beta$  DAN KETEBALAN  
EPIDERMIS PADA LUKA INSISI  
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan



Oleh :  
**ABDUL HARIS ANAFI**  
135130101111040

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**



**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI****PENGARUH SALEP KOMBINASI EKSTRAK KULIT BUAH  
NAGA (*Hylicereus polyrhizus*) DAN LIDAH BUAYA (*Aloevera*)  
TERHADAP EKSPRESI IL-1 $\beta$  DAN KETEBALAN  
EPIDERMIS PADA LUKA INSISI  
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

Oleh :  
**ABDUL HARIS ANAFI**  
**135130101111040**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji  
pada tanggal 14 Maret 2018  
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh  
gelar Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

**Dr. Agung Pramana Warih M, M.Si**  
NIP. 19650616 199111 1 001

**drh. Dian Vidiastuti, M.Si**  
NIP. 19820207 200912 2 003

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Brawijaya

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

**LEMBAR PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Abdul Haris Anafi

NIM : 135130101111040

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul:

Pengaruh Salep Kombinasi Ekstrak Kulit Buah Naga (*Hylicereus polyrhizus*) dan Lidah Buaya (*Aloe vera*) Terhadap Ekspresi IL-1 $\beta$  dan Ketebalan Epidermis pada Luka Insisi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Dengan ini menyatakan bahwa:

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

Malang, 21 Maret 2018  
Yang menyatakan,

(Abdul Haris Anafi)  
NIM.135130101111040

**PENGARUH SALEP KOMBINASI EKSTRAK KULIT BUAH  
NAGA (*Hylicereus polyrhizus*) DAN LIDAH BUAYA (*Aloevera*)  
TERHADAP EKSPRESI IL-1 $\beta$  DAN KETEBALAN  
EPIDERMIS PADA LUKA INSISI  
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

**ABSTRAK**

Luka adalah rusaknya kesatuan jaringan, terdapat substansi jaringan yang rusak atau hilang. Pada saat terjadi luka, tubuh akan berespon terhadap cedera dengan jalan proses peradangan yang ditandai dengan bengkak, kemerahan, panas, nyeri, dan kerusakan fungsi. Proses penyembuhan luka dibedakan menjadi tiga fase, yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase remodelling. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi salep ekstrak kulit buah naga dan lidah buaya secara topikal terhadap penurunan ekspresi IL-1 $\beta$  dan terhadap ketebalan epidermis luka insisi pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*). Penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan menggunakan tikus wistar jantan, berat badan 150-250 g dibagi dalam lima kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan 1 (salep 5%), 2 (salep 10%) dan 3 (salep 15%) terapi dilakukan selama 10 hari pada luka insisi secara topikal. Pengamatan IL-1 $\beta$  menggunakan metode IHK, sedangkan reepitelisasi dinilai dengan mengukur ketebalan epidermis yang pada tepi luka. Analisa data analisis statistik ANOVA satu arah dan jika terdapat perbedaan nyata dilanjutkan uji Tukey  $\alpha=0,05$ . Hasil penelitian menunjukkan bahwa salep kombinasi ekstrak kulit buah naga dan lidah buaya secara signifikan ( $P<0,05$ ) menurunkan ekspresi IL-1 $\beta$  dengan rata-rata 27,95% dan dapat mempengaruhi ketebalan epidermis dengan rata-rata 32,21  $\mu$ m pasca luka insisi. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu salep kombinasi ekstrak kulit buah naga dan lidah buaya konsentrasi 15% merupakan dosis yang terbaik dibandingkan 5% dan 10% dalam mendukung proses penyembuhan luka.

**Kata kunci:** Luka, Lidah buaya, Kulit buah naga, IL-1 $\beta$ , Epidermis

**EFFECT OF OINTMENT COMBINATION EXTRACT OF DRAGON FRUIT PEELS (*Hylicereus polyrhizus*) AND ALOE VERA TO EXPRESSION IL-1 $\beta$  AND EPIDERMAL THICKNESS AT WOUND INCISION RATS (*Rattus norvegicus*)**

**ABSTRACT**

The wound is the destruction of the unity of the network, there is a substance of damaged or lost tissue. In the event of injury, the body will respond to injury by inflammatory processes characterized by swelling, redness, heat, pain, and malfunction. The wound healing process is divided into three phases, namely the inflammatory phase, the proliferation phase and the remodeling phase. The purpose of this study was to decrease the expression of IL-1 $\beta$  and to the thickness of epidermal wound incision in wistar rats (*Rattus norvegicus*). Experimental study using Completely Randomized Design using male wistar rats, 150-250 g weight was divided into five treatment groups: negative control group, positive control, treatment 1 (ointment 5%), 2 (10% ointment) and 3 (ointment 15 %) therapy was performed for 10 days on topical incision wounds. IL-1 $\beta$  observations used the IHK method, whereas reepitelization was assessed by measuring the thickness of the epidermis on the wound edges. Analysis of ANOVA statistical data of one direction and if there is significant difference continued Tukey test  $\alpha = 0,05$ . The results showed that the ointment combination of dragon fruit and aloe vera extract significantly ( $P < 0.05$ ) decreased the expression of IL-1 $\beta$  by an average of 27.95% and could affect the thickness of the epidermis with an average of 32.21  $\mu\text{m}$  after the wound incision. The conclusion of this study is the combination of dragon fruit skin extract and aloe vera 15% concentration is the best dose compared to 5% and 10% in support of wound healing process.

**Keywords:** Wound, Aloe Vera, Dragon fruit skin, IL-1 $\beta$ , Epidermal

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang mengatur segala urusan manusia dan atas segala limpahan rahmat, taufik, serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal SKRIPSI ini yang berjudul **“Pengaruh Salep Kombinasi Ekstrak Kulit Buah Naga (*Hylicereus polyrhizus*) dan Lidah Buaya (*Aloe vera*) Terhadap Ekspresi IL-1 $\beta$  Dan Ketebalan Epidermis pada Luka Insisi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)”**. Sholawat dan salam semoga tetap tercurah kepada Nabi 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. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya yang telah memberi nasehat dan arahan kepada penulis.
2. Dr. Agung Pramana Warih M, M.Si selaku dosen pembimbing satu atas segala bantuan, kesempatan, nasehat, dan arahan yang diberikan tiada hentinya kepada penulis.
3. drh. Dian Vidiastuti, M.Si selaku dosen pembimbing dua atas segala bantuan, kesempatan, nasehat, dan arahan yang diberikan tiada hentinya kepada penulis.
4. drh. Indah Amalia Amri, M.Si selaku dosen penguji satu atas segala bantuan, kesempatan, nasehat, dan arahan yang diberikan tiada hentinya kepada penulis.
5. drh. Rahadi Swastomo, M.Biomed selaku dosen penguji dua atas segala bantuan, kesempatan, nasehat, dan arahan yang diberikan tiada hentinya kepada penulis.
6. Terima kasih kepada Ibu Siti Qomariyah tercinta dan Bapak Sumadi yang penulis banggakan yang telah banyak memberikan dukungan, doa dan

pengorbanan baik secara moril maupun materil sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik.

7. Sahabat dalam penelitian Novi, Anang, Zulfika, dan Ganes, serta Team B-Tis Minor yang melaksanakan penelitian, terimakasih atas segala dukungan, semangat dan motivasi.
8. Keluarga besar B-Tis angkatan 2013 FKH UB yang telah menjadi keluarga baru selama proses pendidikan di Kedokteran Hewan dan menjadi pendorong untuk meraih kesuksesan.
9. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan karya tulis ini yang tidak sempat disebutkan.

Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, khususnya bagi penulis dan para pembaca pada umumnya, semoga Allah SWT meridhoi dan dicatat sebagai amal ibadah disisi-Nya, Amin.

Malang, 21 Maret 2018

Penulis

## DAFTAR ISI

|   | <b>Halaman</b> |
|---|----------------|
| <b>HALAMAN JUDUL</b> .....                                    | i              |
| <b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....                                | ii             |
| <b>LEMBAR PERNYATAAN</b> .....                                | iii            |
| <b>ABSTRAK</b> .....  | iv             |
| <b>ABSTRACT</b> .....   | v              |
| <b>KATA PENGANTAR</b> .....                                   | vi             |
| <b>DAFTAR ISI</b> .....                                       | viii           |
| <b>DAFTAR TABEL</b> .....                                     | x              |
| <b>DAFTAR GAMBAR</b> .....                                    | xi             |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....                                  | xii            |
| <b>DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG</b> .....                       | xiii           |
| <b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....                                | 1              |
| 1.1 Latar Belakang .....                                      | 1              |
| 1.2 Rumusan Masalah.....                                      | 3              |
| 1.3 Batasan Masalah .....                                     | 4              |
| 1.4 Tujuan .....  | 4              |
| 1.5 Manfaat .....   | 5              |
| <b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....                           | 6              |
| 2.1 Luka .....  | 6              |
| 2.2 Kulit .....   | 6              |
| 2.3 Proses Penyembuhan Luka .....                             | 9              |
| 2.4 Fase Penyembuhan Luka .....                               | 11             |
| 2.4.1 Fase Hemostasis .....                                   | 11             |
| 2.4.2 Fase Inflamasi .....                                    | 11             |
| 2.4.3 Fase Proliferasi .....                                  | 14             |
| 2.4.4 Fase Maturasi.....                                      | 15             |
| 2.5 Interleukin-1 .....                                       | 15             |
| 2.6 Buah Naga ( <i>Hylocereus polyrhizus</i> ).....           | 16             |
| 2.7 Lidah Buaya ( <i>Aloe vera</i> ) .....                    | 19             |
| 2.8 Hewan Coba Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) ..... | 22             |
| <b>BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN</b> .....    | 24             |
| 3.1 Kerangka Konsep .....                                     | 24             |
| 3.2 Hipotesa Penelitian .....                                 | 29             |
| <b>BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN</b> .....                      | 30             |
| 4.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....                         | 30             |
| 4.2 Alat dan Bahan .....                                      | 30             |
| 4.3 Rancangan Penelitian.....                                 | 31             |
| 4.4 Variabel Penelitian .....                                 | 32             |
| 4.5 Tahapan Penelitian .....                                  | 32             |
| 4.6 Prosedur Kerja .....                                      | 33             |
| 4.6.1 Persiapan Hewan Coba.....                               | 33             |
| 4.6.2 Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Naga dan Lidah Buaya ..... | 33             |

|  |    |
|--|----|
| 4.6.3 Pembuatan Salep Kombinasi Ekstrak Kulit Buah Naga dan Lidah Buaya.....   | 34 |
| 4.6.4 Perlakuan Sayatan Pada Hewan Coba.....   | 35 |
| 4.6.5 Pemberian Terapi kulit Buah Naga Kombinasi Lidah Buaya.....  | 35 |
| 4.6.6 Pembuatan Preparat Hitopatologi Jaringan .....   | 36 |
| 4.6.7 Ekspresi IL-1 $\beta$ dengan Metode Imunohistokimia (IHK) .....  | 37 |
| 4.6.8 Analisis Ketebalan Epidermis.....  | 38 |
| 4.6.9 Analisis Data.....   | 39 |
| <b>BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....  | 40 |
| 5.1 Pengaruh Pemberian Salep Kombinasi Ekstrak Kulit Buah naga Dan Lidah Buaya Terhadap Ekspresi Interleukin 1 beta Pada Luka Insisi Tikus Putih ..... | 42 |
| 5.2 Pengaruh Pemberian Salep Kombinasi Ekstrak Kulit Buah Naga Dan Lidah Buaya Terhadap Ketebalan Epidermis Pada Luka Insisi Tikus Putih.....          | 48 |
| <b>BAB 6 KESIMPULAN</b> .....  | 59 |
| 6.1 Kesimpulan .....   | 59 |
| 6.2 Saran .....  | 59 |
| <b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....  | 60 |
| <b>LAMPIRAN</b> .....  | 65 |

## DAFTAR TABEL

| Tabel   | Halaman |
|---|---------|
| 2.1 Kandungan Nilai Gizi Buah Naga Merah ( <i>Hylocereus polyrhizus</i> ) ..... | 18      |
| 2.2 Kandungan Lidah Buaya ( <i>Aloe vera</i> ).....                             | 20      |
| 5.1 Ekspresi IL-1 $\beta$ Kulit Pada Berbagai Perlakuan .....                   | 44      |
| 5.2 Perkembangan Ketebalan Epidermis Kulit pada Berbagai Perlakuan .....        | 50      |



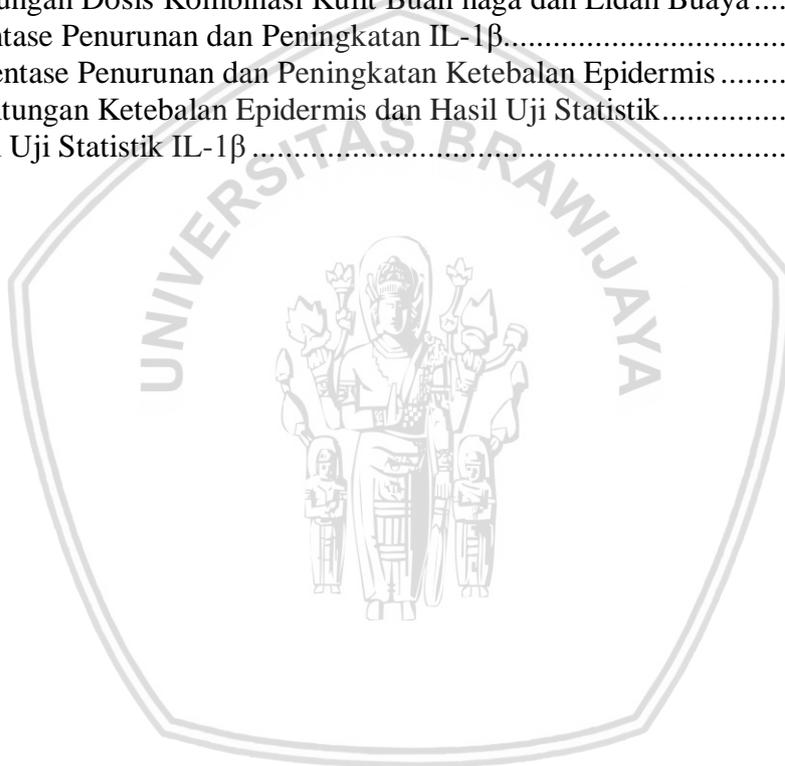
**DAFTAR GAMBAR**

| Gambar  | Halaman |
|---|---------|
| 2.1 Lapisan Epidermis.....                                    | 8       |
| 2.2 Buah Naga Merah ( <i>Hylocereus polyrhizus</i> ) .....    | 17      |
| 2.3 Lidah Buaya ( <i>Aloe vera</i> ) .....                    | 20      |
| 2.4 Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....            | 23      |
| 5.1 Gambaran Makroskopis Kulit tikus Pasca Luka Insisi .....  | 40      |
| 5.2 Gambaran Ekspresi IL-1 $\beta$ Jaringan Kulit Tikus ..... | 43      |
| 5.3 Gambaran Ketebalan Epidermis Jaringan Kulit Tikus.....    | 49      |



## DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran   | Halaman |
|--|---------|
| 1. Keterangan Kelaikan Etik Penelitian .....                         | 65      |
| 2. Determinasi Kulit Buah Naga .....                                 | 66      |
| 3. Determinasi Lidah Buaya .....                                     | 67      |
| 4. Kerangka Operasional Penelitian.....                              | 68      |
| 5. Pembuatan Preparat Histologi Jaringan .....                       | 69      |
| 6. Pewarnaan <i>Hematoxyline Eosin</i> (HE).....                     | 70      |
| 7. Metode Immunohistokimia Ekspresi IL-1 $\beta$ .....               | 71      |
| 8. Perhitungan Dosis Kombinasi Kulit Buah naga dan Lidah Buaya ..... | 72      |
| 9. Presentase Penurunan dan Peningkatan IL-1 $\beta$ .....           | 75      |
| 10. Presentase Penurunan dan Peningkatan Ketebalan Epidermis .....   | 76      |
| 11. Perhitungan Ketebalan Epidermis dan Hasil Uji Statistik.....     | 77      |
| 12. Hasil Uji Statistik IL-1 $\beta$ .....                           | 79      |



## DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

| Simbol/singkatan | Keterangan  |
|------------------|---|
| ADP              | : <i>Adenosin Diphosfat</i>                             |
| ANOVA            | : <i>Analysis Of Variance</i>                           |
| Cm               | : <i>Centimeter</i>                                     |
| DAB              | : <i>Diamano Benxidine</i>                              |
| ECM              | : <i>Extracellular Matrix</i>                           |
| FGF              | : <i>Fibroblast Growth Factor</i>                       |
| GAG              | : <i>Glycosaminoglycon</i>                              |
| Gr               | : <i>Gram</i>   |
| ICAM 1           | : <i>Intercellular Adhesion Molecule 1</i>              |
| ICAM 2           | : <i>Intercellular Adhesion Molecule 2</i>              |
| HE               | : <i>Hematoksin-Eosin</i>                               |
| IHK              | : <i>Imunohistokimia</i>                                |
| IL 1             | : <i>Interleukin 1</i>                                  |
| IL-1 $\alpha$    | : <i>Interleukin 1 alpha</i>                            |
| IL-1 $\beta$     | : <i>Interleukin 1 beta</i>                             |
| IL-1 Ra          | : <i>Interleukin 1 receptor antagonist</i>              |
| IL 6             | : <i>Interleukin 6</i>                                  |
| IL 8             | : <i>Interleukin 8</i>                                  |
| IU               | : <i>International Unit</i>                             |
| Kg               | : <i>Kilogram</i>                                       |
| KGF              | : <i>Keratinocyte Growth Factor</i>                     |
| Mg               | : <i>Miligram</i>                                       |
| ml               | : <i>Mililiter</i>                                      |
| Mm               | : <i>Milimeter</i>                                      |
| MMP              | : <i>Matrix Metalloprotenase</i>                        |
| NaCl             | : <i>Natrium Klorida</i>                                |
| PBS              | : <i>Phospat Buffered Saline</i>                        |
| PDGF             | : <i>Platelet Derivate Growth Factor</i>                |
| PF3              | : <i>Platelet Factor 3</i>                              |
| RAL              | : <i>Rancangan Acak Lengkap</i>                         |
| ROS              | : <i>Reactive Oxygen Species</i>                        |
| SA-HRP           | : <i>Strep Avidin Horse Radish Peroxidase</i>           |
| TGF- $\beta$     | : <i>Transforming Growth Factor- <math>\beta</math></i> |
| TNF- $\alpha$    | : <i>Tumor Necrosis Factor- <math>\alpha</math></i>     |
| %                | : <i>Persen</i>   |

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Luka adalah rusaknya kesatuan jaringan secara spesifik terdapat substansi jaringan yang rusak atau hilang. Pada saat terjadinya luka, tubuh secara normal akan menimbulkan respon terhadap cedera dengan jalan proses peradangan yang dikarakteristikan dengan adanya bengkak, kemerahan, panas, nyeri, dan kerusakan fungsi (Potter dan Perry, 2006).

Proses perbaikan terjadi setelah adanya luka dengan mengeluarkan berbagai *growth factor*, sitokin dan molekul dari serum pembuluh darah yang cedera dan degranulasi platelet. Sitokin pada fase inflamasi terdiri dari interleukin 1 (IL-1), interleukin 6 (IL-6) dan TNF  $\alpha$ , leukosit polimorfonukleus dan makrofag merupakan sumber utama dari sitokin tersebut (Nontji, 2015). Interleukin 1 mengatur proses inflamasi selama perbaikan jaringan dalam respon kekebalan dan respon peradangan (Schmitz, 2005).

Proses penyembuhan luka (*wound healing*) merupakan proses yang kompleks dan terjadi secara fisiologis didalam tubuh. Penyembuhan luka terdiri dari beberapa fase, yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase maturasi (Sjamsuhidajat dan Wim, 2004). Pada fase proliferasi, terjadi proses reepitelisasi berupa migrasi, proliferasi dan diferensiasi keratinosit. Proses migrasi dimulai beberapa jam setelah terjadi kerusakan pada laminin, sehingga terjadi kontak antara keratinosit dengan kolagen (Harrison *et al.*, 2006). 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 (Schwartz *et al.*, 2000).

Penggunaan zat kimia *povidone iodine* untuk penyembuhan luka memiliki efek samping seperti iritasi kulit dan alergi kulit (Haris, 2009). Berdasarkan permasalahan tersebut perlu dilakukan untuk penyembuhan luka yang bersifat aman dan barang mudah didapat. Salah satunya adalah dengan menggunakan obat-obatan yang berasal dari bahan alami.

Kulit buah naga mengandung vitamin C, vitamin E, vitamin A, alkaloid, terpenoid, flavonoid, tiamin, niasin, piridoksin, kobalamin, fenolik, karoten, dan fitoalbumin (Jaafar *et al.*, 2009). Keunggulan dari kulit buah naga yaitu kaya polifenol dan merupakan sumber antioksidan. Selain itu aktivitas antioksidan pada kulit buah naga lebih besar dibandingkan aktivitas antioksidan pada daging buahnya, sehingga berpotensi untuk dikembangkan menjadi sumber antioksidan alami (Wu *et al.*, 2006).

Lidah buaya (*Aloe vera*) digunakan sebagai penyembuh luka dan untuk perawatan kulit. Berdasarkan hasil penelitian, tanaman ini kaya akan kandungan enzim, asam amino, mineral, vitamin, polisakarida dan komponen lain yang sangat bermanfaat bagi kesehatan. Lidah buaya berkasiat sebagai anti inflamasi, anti jamur, anti bakteri dan membantu proses regenerasi sel (Jatnika dan Saptoningsih, 2009). Lidah buaya mengandung banyak zat aktif yang bermanfaat dalam mempercepat penyembuhan luka karena mengandung vitamin E dan

vitamin C berperan sangat penting sebagai *growth factor*. *Growth factor* menstimulasi fibroblas (*connective tissue cells*) untuk memproduksi kolagen lebih banyak, meningkatkan reepitelisasi epidermis yang akan meningkatkan proses remodeling pada luka dan mengisi daerah luka. Lidah buaya mempertahankan suasana *moist* pada luka dan pada saat yang sama membawa oksigen untuk penetrasi ke dalam luka, menambah regenerasi sel (Atik dan Iwan, 2010).

Berdasarkan latar belakang tersebut, diperlukan obat yang membantu proses regenerasi sel sehingga proses kesembuhan luka lebih cepat selesai. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi salep kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) terhadap kesembuhan luka insisi hewan model tikus putih (*Rattus norvegicus*) berdasarkan ekspresi IL-1 $\beta$  dan ketebalan epidermis.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka perumusan masalah adalah:

1. Apakah pemberian kombinasi salep ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) dapat mempengaruhi ekspresi IL-1 $\beta$  pada luka insisi tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Apakah pemberian kombinasi salep ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) dapat mempengaruhi ketebalan epidermis pada luka insisi tikus putih (*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 gram.
2. Insisi dilakukan pada punggung tikus (*Rattus norvegicus*) sepanjang  $\pm 2$  cm hingga kedalaman subkutan dengan menggunakan *scalpel-blade*.
3. Pemberian salep kombinasi kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) dilakukan secara topical dengan konsentrasi 5%, 10%, 15% sebanyak satu kali sehari selama 10 hari pasca perlakuan.
4. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah ekspresi IL-1 $\beta$  dan ketebalan epidermis pada luka insisi.

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi salep ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) terhadap penurunan ekspresi IL-1 $\beta$  pada proses kesembuhan luka insisi tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi salep ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) terhadap ketebalan epidermis pada proses kesembuhan luka insisi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini memberikan manfaat kepada pembaca tentang pemanfaatan kombinasi salep ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) terhadap kesembuhan luka insisi hewan model tikus putih (*Rattus norvegicus*) berdasarkan ekspresi IL-1 $\beta$  dan ketebalan epidermis.



## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Luka

Luka adalah diskontinuitas jaringan yang disebabkan oleh trauma dari luar. Penyembuhan luka adalah proses tubuh untuk memperbaiki kerusakan jaringan agar dapat berfungsi kembali. Tubuh berusaha untuk menormalkan kembali semua kondisi abnormal akibat luka dengan proses penyembuhan. Setelah adanya luka, akan terjadi fase inflamasi yang bertujuan untuk menghilangkan jaringan nonvital dan mencegah infeksi bakteri invasif. fase proliferasi terjadi keseimbangan antara pembentukan jaringan parut dan regenerasi jaringan. Pada fase yang terakhir, terjadi fase remodelling yang bertujuan untuk memaksimalkan kekuatan dan integritas struktural dari luka (Lorentz dan Longaker, 2006). Luka yang tidak sembuh dalam waktu yang lama dengan berbagai etiologi dikhawatirkan mengalami komplikasi, komplikasi luka dapat menimbulkan berbagai dampak yang negatif (Potter dan Perry, 2006).

### 2.2 Kulit

Kulit merupakan organ tubuh paling besar yang melapisi seluruh bagian tubuh, membungkus daging dan organ-organ yang ada di dalamnya. Tebalnya kulit bervariasi mulai 0,5 mm sampai 6 mm tergantung dari letak, umur. Kulit tipis terletak pada kelopak mata sedangkan kulit tebal terdapat pada telapak kaki, punggung (Branon, 2007). Struktur kulit tersusun atas 2 lapis yaitu lapisan epidermis dan dermis.

## 1) Epidermis

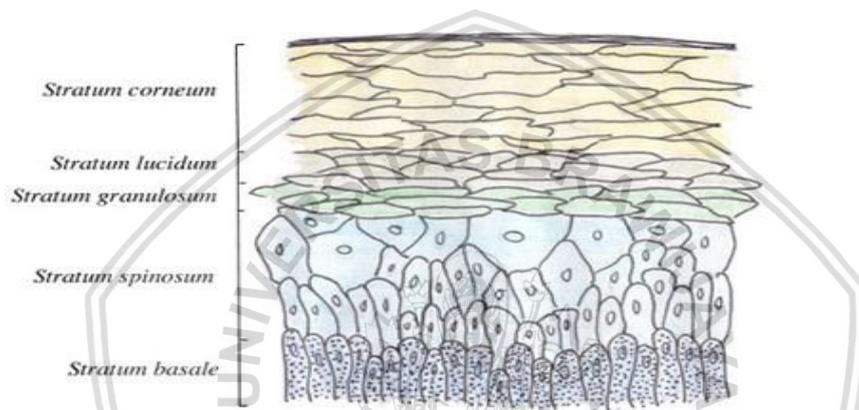
Epidermis adalah lapisan terluar kulit yang tipis dan nonvaskuler. Terdiri dari epitel berlapis kompleks, bertanduk (kornifikasi), mengandung sel melanosit, langerhans dan sel markel. Fungsi utamanya adalah sebagai proteksi barier, organisasi sel, pembelahan dan mobilisasi sel, pigmentasi (melanosit) dan pengenalan alergen (sel langerhans) (Perdanakusuma, 2007). Epidermis memiliki melanosit yang akan memberikan warna pada kulit. Fungsi pada lapisan epidermis adalah melindungi dan masuknya bakteri, toksin, untuk keseimbangan cairan yaitu menghindari pengeluaran cairan secara berlebihan (Suriadi, 2004).

Epidermis terdiri atas beberapa lapisan sebagai berikut:

- a) *Stratum corneum*, mengandung sel tanduk pipih tanpa inti dengan sitoplasma terisi oleh *skleroprotein filamentosa* “*Birefringent*” keratin.
- b) *Stratum Lucidum*, berupa garis translusen, terdapat pada kulit tebal telapak kaki dan telapak tangan tidak tampak pada kulit tipis.
- c) *Stratum Granulosum*, ditandai oleh 3-5 lapis sel polygonal gepeng yang intinya ditengah dan sitoplasma terisi oleh granula basofilik kasar disebut granula keratohialin yang mengandung protein kaya histidin terdapat sel Langerhans.
- d) *Stratum Spinosum*, terdapat berkas-berkas filament yang dinamakan tonofibril, dianggap filamen-filamen tersebut memegang peranan penting untuk mempertahankan kohesi sel dan melindungi terhadap efek abrasi. Epidermis pada tempat yang terus mengalami gesekan dan tekanan mempunyai stratum spinosum dengan lebih banyak tonofibril. Stratum basale

dan stratum spinosum disebut sebagai lapisan Malpigi terdapat sel Langerhans.

- e) *Stratum Basale (Stratum Germinativum)*, terdapat aktifitas mitosis yang hebat dan bertanggung jawab dalam pembaharuan sel epidermis secara konstan. Epidermis diperbaharui setiap 28 hari untuk migrasi ke permukaan, hal ini tergantung letak, usia dan faktor lain (Perdanakusuma, 2007).



**Gambar 2.1** Lapisan Epidermis (Amirlak, 2015).

## 2) Dermis

Terdiri atas jaringan ikat yang menyokong epidermis. Tebalnya bervariasi, yang paling tebal terdapat pada telapak kaki sekitar 3 mm. Dermis terdiri dari dua lapisan yaitu lapisan papiler, tipis mengandung jaringan ikat jarang dan lapisan retikuler, tebal terdiri dari jaringan ikat padat. Sebagian besar papila mengandung pembuluh-pembuluh kapiler yang memberi nutrisi pada epitel di atasnya. Papila lainnya mengandung badan akhir saraf sensoris yaitu badan Meissner. Tepat di bawah epidermis serat-serat kolagen tersusun rapat. Pada bagian lebih dalam, jalinan lebih terbuka, rongga-rongga di antaranya terisi jaringan lemak, kelenjar keringat, serta folikel rambut (Kalangi, 2013).

Dermis terdiri atas sekumpulan serat-serat elastis yang dapat membuat kulit berkerut akan kembali ke bentuk semula dan serat protein ini yang disebut kolagen. Serat-serat kolagen ini disebut juga jaringan penunjang, karena fungsinya dalam membentuk jaringan-jaringan kulit yang menjaga kekeringan dan kelenturan kulit. Serabut-serabut kolagen menebal dan sintesa kolagen berkurang dengan bertambahnya usia (Amirlak, 2015).

### 2.3 Proses Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka adalah suatu bentuk proses usaha untuk memperbaiki kerusakan jaringan yang terjadi. Platelet akan teragregasi dan menyebabkan terjadinya proses hemostasis. Hemostasis merupakan proses penghentian darah dari pembuluh darah yang rusak. Setelah terjadi proses hemostasis di lanjutkan dengan proses inflamasi, proliferasi, maturasi (Colman *et al.*, 2001).

Proses inflamasi terjadi pada jaringan ikat dengan pembuluh darah yang mengandung plasma, sel yang bersirkulasi, elemen seluler (eritrosit, leukosit : neutrofil, eosinofil, basofil, monosit, limfosit, trombosit), ekstraseluler (kolagen, elastin, glikoprotein adesif : fibronektin, laminin, kolagen non fibril, proteoglikan), dan jaringan pengikat (sel mast, fibroblast, monosit, makrofag dan limfosit) (George, 1994).

Proses penyembuhan luka terjadi pada awal inflamasi. Proses inflamasi terjadi perusakan, pelarutan dan penghancuran sel atau agen penyebab kerusakan sel. Pada saat yang sama terjadi proses reparasi, proses pembentukan kembali jaringan rusak atau proses penyembuhan jaringan rusak. Proses ini baru selesai sempurna sesudah agen penyebab kerusakan sel dinetralkan. Selama proses

reparasi berlangsung, jaringan yang mengalami rusak diganti oleh regenerasi dari sel parenkimal dengan cara mengisi bagian yang rusak dengan jaringan fibroblast (Gillian, 1999).

Penyembuhan luka merupakan proses terus menerus dari peradangan dan perbaikan, dimana sel-sel inflamasi, epitel, endotel, trombosit dan fibroblast keluar secara bersamaan dari tempatnya semula dan berinteraksi untuk mengembalikan kerusakan. Kerusakan jaringan akan diikuti reaksi kompleks dalam jaringan pengikat yang mempunyai pembuluh darah. Sel dalam jaringan rusak akan melepaskan mediator kimiawi yaitu kemoatraktan dan sitokin, yang mempunyai daya kemotaktik, mampu menarik leukosit dalam sirkulasi kapiler. Netrofil akan tertarik dan terjadi akumulasi mendekati sel endotel dinding venula. Proses ini disebut marginasi. Akumulasi netrofil akan menempel pada permukaan endotel karena adanya molekul adesi yang dilepaskan oleh endotel (Mulyata, 2002).

Molekul adesi tersebut antara lain E-selektin, ICAM 1, ICAM 2. Netrofil akan bergerak pada permukaan endotel akibat daya dorong aliran plasma. Perlekatan netrofil pada endotel makin kuat dan bergerak aktif secara diapedsis, kemudian berhenti dan mengeluarkan pseudopodia, mengerutkan diri menyisip lewat celah antar membran basalis sel endotel untuk keluar ekstrasvasi dan transmigrasi meninggalkan kapiler menuju jaringan interstitial yang rusak (Mulyata, 2002).

Aktifitas netrofil sejak intravaskuler, transmigrasi ke tempat tujuan begitu juga terjadi pada eosinofil, basofil, monosit dan limfosit. Pada jaringan

target sel tersebut aktif mematikan dan menghancurkan mikroba sesuai dengan cara masing-masing. Pada saat yang sama juga terjadi proses penyembuhan (George, 1994).

Sitokin bersama faktor pertumbuhan seperti PDGF, FGF aktif berperan melaksanakan proses penyembuhan. Sitokin terlibat dalam proses penyembuhan yaitu : TNF  $\alpha$ , IL 1, IL 6, IL 8 dan TGF  $\beta$  setelah disekresi oleh sel T, sel B, makrofag, platelet, sel endotel, fibroblast, plasenta, tulang dan ginjal segera melepas dimer biologis aktif dari komponen molekul laten. TGF  $\beta$  juga menstimulasi daya kemotaksis fibroblast, inhibisi produksi kolagen dan fibronectin, menghambat degradasi kolagen karena peningkatan atau penurunan inhibitor protease. Pada inflamasi kronis TGF  $\beta$  terlibat dalam pertumbuhan fibrosis (Richard, 2004). Keseimbangan antara deposisi dan degradasi fibrin fungsi sitokin keseluruhan dapat menggeser keseimbangan tersebut ke arah residu fibrin (Mulyata, 2002).

## **2.4 Fase Penyembuhan Luka**

### **2.4.1 Fase Hemostasis**

Fase hemostasis terjadi segera setelah perlukaan. Fase ini bertujuan menghentikan perdarahan dan melibatkan tiga langkah utama yaitu spasme vaskular, pembentukan sumbat trombosit dan koagulasi darah. 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 spasme vaskular awal ini 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 lebih lanjut tetapi dapat meminimalkan pengeluaran darah melalui pembuluh darah yang rusak (Hess, 2008).

Langkah kedua dari proses hemostasis yaitu pembentukan sumbat trombosit. Apabila terjadi kerusakan endotel pembuluh darah, maka trombosit akan teraktivasi dan melekat pada kolagen sehingga membentuk sumbat trombosit pembuluh darah yang rusak. Pada saat trombosit mulai menggumpal, akan mengeluarkan beberapa zat-zat kimia seperti ADP (*Adenosin Diphospat*), yang menyebabkan permukaan trombosit darah yang terdapat disekitar menjadi lekat sehingga trombosit tersebut melekat ke lapis pertama gumpalan trombosit. Trombosit yang melekat ini akan melepaskan lebih banyak ADP dan menyebabkan perlekatan antar trombosit semakin banyak sehingga akan membentuk sumbat trombosit melalui mekanisme umpan balik positif (Hess, 2008).

Langkah terakhir dalam proses hemostasis yaitu koagulasi darah. Koagulasi darah adalah transformasi darah dari cair menjadi gel padat. Pembentukan bekuan diatas sumbat trombosit memperkuat dan menopang sumbat trombosit. Pada saat darah disekitar defek pembuluh memadar, darah tidak dapat lagi mengalir. Mekanisme koagulasi darah dimulai pada saat proses agregasi trombosit yang mengeluarkan Platelet Factor 3 (PF3), PF3 akan mengaktifkan protombin yang kemudian akan mengaktifkan trombin.

Trombin yang merupakan komponen pembekuan yang akan mengubah fibrinogen menjadi fibrin dan mengaktifkan faktor XIII. Faktor XIII akan mengubah fibrin jala longgar menjadi fibrin jala stabil (Hess, 2008).

Platelet merupakan bagian utama yang berperan dalam fase ini. Platelet akan membentuk agregat dan mengalami degranulasi, sehingga terjadi formasi pembekuan darah. Platelet akan mensekresikan beberapa macam sitokin dan *growth factor*. Terjadinya aktivasi platelet yang disertai adanya eritrosit dan fibrin akan membentuk fibrin plug yang mengisi area luka. Fibrin plug akan mengering dan membentuk scrub yang berfungsi melindungi luka, mencegah kehilangan darah dalam jumlah banyak, serta barier terhadap infeksi bakteri (Hess, 2008).

#### **2.4.2 Fase inflamasi**

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 dua minggu untuk beberapa kasus. Pada fase inflamasi ini terjadi aktivitas berbagai sel inflamasi yang salah satunya adalah makrofag. Selain melalui proses fagositosis, makrofag juga berperan dalam eliminasi bakteri dengan cara produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS penting dalam mencegah infeksi bakterial, namun tingginya kadar ROS secara berkepanjangan akan mengaktifasi dan mempertahankan kaskade asam arakhidonat yang akan memicu ulang timbulnya berbagai mediator inflamasi. Selain sebagai fagositosis, makrofag juga memproduksi *Growth*

*Factor* yang berfungsi untuk memicu terjadinya proses angiogenesis dan pembentukan fibroblas dan makrofag juga memproduksi sitokin. Fase ini merupakan tahap awal yang alami untuk mengangkat jaringan debris dan mencegah infeksi yang invasif (Gurtner, 2007).

### 2.4.3 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 reepitalisasi yang menutup luka dalam 5-7 hari. Membran basalis terbentuk diantara lapisan epidermis dan dermis setelah terjadinya proses reepitalisasi. Pembentukan kembali dermis dibantu oleh proses angiogenesis. Fase ini matriks fibrin yang di dominasi oleh platelet dan makrofag digantikan oleh jaringan granulasi yang terususun 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- $\beta$  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. Fase proliferasi mulai berhenti dan fase remodelling mulai berjalan (Gurtner, 2007).

#### **2.4.4 Fase maturasi**

Fase ketiga adalah fase maturasi atau remodelling. Selama fase ini jaringan baru yang terbentuk akan disusun seperti jaringan asalnya. Fase maturasi atau remodeling ini berlangsung mulai hari ke-21 hingga 1 tahun. Fase ini dimulai setelah kavitas luka terisi oleh jaringan granulasi dan proses reepitalisasi 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).

#### **2.5 Interleukin -1**

Interleukin-1 adalah sebutan bagi beberapa polipeptida sitokin IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan IL-1Ra, yang memainkan peran penting dalam regulasi sistem kekebalan dan respon peradangan. IL-1 $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  masing-masing memiliki berkas genetik IL1A, IL1B, pada kromosom 2 deret yang sama yaitu 2q14, dan merupakan sitokin pleiotropik hasil sekresi monosit dan makrofaga berupa prohormon, sebagai respon saat sel mengalami cedera, oleh karena itu menginduksi apoptosis (Baratawidjaja, 2006).

Interleukin-1 (IL-1) merupakan keluarga dari polipeptida dengan berbagai kegiatan biologis. Setidaknya dua produk gen yang berbeda telah

dikloning, ada mungkin lebih. IL-1 memainkan peran penting dalam patogenesis banyak penyakit dan fungsi sebagai mediator kunci dari respon host terhadap tantangan infeksi, inflamasi, dan imunologi yang berbeda (Titus *et al.*, 2005).

Interleukin-1 diproduksi oleh makrofag yang terdapat pada *lamina propria* di bawah epitel usus pada mukosa normal dan mukosa yang mengalami inflamasi, seperti pada kolitis. Kadar IL-1 akan meningkat pada saat terjadi inflamasi kronik dan juga berperan sebagai faktor pertumbuhan tumor. Pada kanker kolorektal, IL-1 juga akan meningkatkan ekspresi siklooksigenase (COX) secara berlebih pada 80-90% kanker kolorektal dan 40-50% pada *adenoma premaligna*. Ekspresi berlebih COX-2 dijumpai pada kanker kolorektal melalui HT-29 *human colon cancer cell* yang selanjutnya akan menstimulus metastasis dan pertumbuhan tumor melalui efek antiapoptotik Bcl-2.

Kelompok IL-1 (*IL-1 gene family*) terdiri dari 3 jenis yaitu IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan *IL-1 receptor antagonist* (IL-1Ra). Interleukin-1 $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  bersifat agonis menimbulkan reaksi radang atau disebut sitokin proliferasi. Interleukin-1 *receptor antagonist* bersifat menghambat efek biologis IL-1 atau yang disebut sitokin anti inflamasi. Peningkatan produksi IL-1 oleh sel mononuklear sudah dikemukakan pada beberapa kondisi patologis seperti kolitis dan kanker kolorektal serta mediator penting dalam proses keganasan (Titus *et al.*, 2005).

## 2.6 Buah Naga

Buah naga merupakan tumbuhan yang berasal dari daerah beriklim tropis kering. Pertumbuhan buah naga dipengaruhi oleh suhu, kelembaban udara, keadaan tanah dan curah hujan. Habitat asli buah naga berasal dari negara

Meksiko, Amerika Utara dan Amerika Selatan bagian utara. Namun buah naga saat ini telah dibudidayakan di Indonesia seperti di Jember, Malang, Pasuruan dan daerah lainnya (Kristanto, 2008).

Buah naga termasuk kelompok tanaman kaktus atau family *Cactaceae* dan subfamily *Hilocereanea*. Termasuk genus *Hylocereus* yang terdiri dari beberapa spesies, dan diantaranya adalah buah naga yang biasa dibudidayakan dan bernilai komersial.

Klasifikasi tanaman buah naga adalah sebagai berikut :

- Devisi : Spermatopyta (tumbuhan berbiji)
- Sub Devisi : Spermatopyta (tumbuhan berbiji)
- Kelas : Dicotyledonae (berkeping dua)
- Ordo : Cactales
- Family : Cactaceae
- Genus : *Hylocereus*
- Spesies : 1. *Hylocereus undatus* (daging putih)  
2. *Hylocereus polyrhizus* (daging merah)



**Gambar 2.2** Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*).

**Tabel 2.1** Kandungan nilai gizi buah naga merah

| Zat             | Kandungan Gizi |
|-----------------|----------------|
| Air (g)         | 82,5 – 83      |
| Protein (g)     | 0,159 – 0,229  |
| Lemak (g)       | 0,21 – 0,61    |
| Serat kasar (g) | 0,7 – 0,9      |
| Karoten (mg)    | 0,005 – 0,012  |
| Kalsium (mg)    | 6,3- 8,8       |
| Fosfor (mg)     | 30,2 – 36,1    |
| Iron (mg)       | 0,55 – 0,65    |
| Vitamin B1 (mg) | 0,28 – 0,043   |
| Vitamin B2 (mg) | 0,043 – 0,045  |
| Vitamin B3 (mg) | 0,297 – 0,43   |
| Vitamin C (mg)  | 8 – 9          |
| Thiamine (mg)   | 0,28 – 0,030   |
| Riboflavin (mg) | 0,043 – 0,044  |
| Niacin (mg)     | 1,297 – 1,300  |
| Abu (g)         | 0,28           |
| Lain-lain (g)   | 0,54 – 0,68    |

(Taiwan Food Industry Develop & Research Authoritis dalam Panjuantiningrum, 2009).

Hal menarik pada buah naga adalah manfaat dari kulit buahnya. Kulit buah naga dapat bermanfaat dalam produksi pangan maupun industri seperti pewarna alami pada makanan dan minuman. Kulit buah naga juga dapat dijadikan bahan dasar pembuatan kosmetik. Kulit buah naga juga dapat dijadikan sebagai obat herbal alami yang dapat bermanfaat sebagai antioksidan. Jenis buah naga ada empat, yaitu *Hylocereus undatus* (buah naga daging putih), *Hylocereus polyrhizus* (buah naga daging merah) (Cahyono, 2009).

Kulit buah naga mengandung vitamin C, vitamin E, vitamin A, alkaloid, terpenoid, flavonoid, tiamin, niasin, piridoksin, kobalamin, fenolik, karoten, dan fitoalbumin (Jaafar *et al.*, 2009). Menurut penelitian Wu *et al.*, (2006), keunggulan dari kulit buah naga yaitu kaya polifenol dan merupakan sumber

antioksidan. Selain itu aktivitas antioksidan pada kulit buah naga lebih besar dibandingkan aktivitas antioksidan pada daging buahnya, sehingga berpotensi untuk dikembangkan menjadi sumber antioksidan alami.

### **2.7 Lidah Buaya (*Aloe vera*)**

Lidah buaya merupakan tanaman asli Afrika, tepatnya Ethiopia. Lidah buaya (*Aloe vera*), mempunyai beberapa kandungan Lignin, Saponin, anthraquinonealoin, barbaloin, isobarbaloin, anthracenol, aloemodin, anthracenesinamat, asam krisophanat, eteraloin resistanol sehingga digolongkan sebagai pengobatan seperti antibiotik, antiseptik dan antibakteri. Lidah buaya biasa digunakan sebagai penyembuhan luka, dan perawatan kulit (Dharma, 1995). Thiruppathi *et al.*, (2013), daun lidah buaya mengandung anthroquinone yang merupakan senyawa fenolik dan ditemukan dalam getah. Senyawa ini berperan sebagai pencahar zat antimikroba dan memiliki efek analgesik yang kuat. Daun lidah buaya juga mengandung campesterol, sitosterol dan lupeol. Senyawa ini berperan sebagai antiinflamasi dan antibakteri. Lidah buaya memiliki rasa pahit dan bersifat dingin. Beberapa bahan yang terkandung dalam lidah buaya diantaranya aloin, barbaolin, iso-barbaolin, aloemodin, aloenin, dan aloesin. Efek farmakologis lidah buaya diantaranya rasa antiinflamasi, pencahar (laxatic), parasiticide, dan memperbaiki pankreas (Hariana, 2008). Bagian yang bisa digunakan adalah daging daun lidah buaya (gel) (Wijayakusuma, 2008).

Klasifikasi Tanaman Lidah Buaya (*Aloe vera*) :

|             |                    |
|-------------|--------------------|
| Divisio     | : Spermatophyta    |
| Sub Divisio | : Angiospermae     |
| Classis     | : Monocotyledoneae |
| Ordo        | : Liliales         |
| Familia     | : Liliaceae        |
| Genus       | : Aloe             |
| Spesies     | : <i>Aloe vera</i> |



**Gambar 2.3** Lidah Buaya (*Aloe vera*).

**Tabel 2.2** Kandungan lidah buaya

| Zat Gizi        | Kandungan / 100 gram |
|-----------------|----------------------|
| Energy (Kal)    | 4,00                 |
| Protein (g)     | 0,10                 |
| Lemak (g)       | 0,20                 |
| Serat (g)       | 0,30                 |
| Abu (g)         | 0,10                 |
| Kalsium (mg)    | 85,00                |
| Fosfor (mg)     | 186,00               |
| Besi (mg)       | 0,80                 |
| Vitamin C (mg)  | 3,476                |
| Vitamin A (IU)  | 4,594                |
| Vitamin B1 (mg) | 0,01                 |
| Kadar Air (g)   | 99,20                |

Sumber: Departemen Kesehatan RI (1992)

Zat aktif yang dikandung lidah buaya yang berperan sebagai penyembuh luka yaitu:

1). Flavanoid

Flavanoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar dan terdapat dalam semua tumbuhan hijau dan memiliki senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman hijau, kecuali alga. Flavanoid berfungsi sebagai antibakteri, antioksidan, dan dapat menghambat pendarahan pada kulit (Robert, 1997).

2). Tanin

Tanin merupakan senyawa organik yang terdiri dari campuran senyawa polifenol kompleks. Tanin tersebar dalam setiap tanaman yang berbatang. Berada dalam jumlah tertentu, biasanya berada pada bagian yang spesifik tanaman seperti daun, buah, akar dan batang. Teori lain menyebutkan bahwa tanin mempunyai daya antiseptik yaitu mencegah kerusakan yang disebabkan bakteri atau jamur berfungsi sebagai astringen yang dapat menyebabkan penutupan pori-pori kulit, menghentikan pendarahan yang ringan (Robert, 1997).

3). Saponin

Saponin adalah jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan. Saponin memiliki karakteristik berupa buih. Sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama. Saponin memiliki rasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin serta iritasi pada selaput lendir. Saponin merupakan racun yang dapat menghancurkan butir darah atau

hemolisis pada darah. Saponin bersifat racun bagi hewan berdarah dingin dan banyak diantaranya digunakan sebagai racun ikan (Robert, 1997).

Efek saponin berdasarkan sistem fisiologis meliputi aktivitas pada sistem kardiovaskular dan aktivitas pada sifat darah (hemolisis, koagulasi, kolesterol), sistem saraf pusat, sistem endokrin, dan aktivitas lainnya. Saponin mampu berikatan dengan kolesterol, sedangkan saponin yang masuk kedalam saluran cerna tidak diserap oleh saluran pencernaan sehingga saponin beserta kolesterol yang terikat dapat keluar dari saluran cerna. Hal ini menyebabkan kadar kolesterol dalam tubuh dapat berkurang (Robert, 1997).

#### 4). Polifenol

Polifenol merupakan senyawa turunan fenol yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Antioksidan fenolik biasanya digunakan untuk mencegah kerusakan akibat reaksi oksidasi pada makanan, kosmetik, farmasi dan plastik. Fungsi polifenol sebagai penangkap dan pengikat radikal bebas dari rusaknya ion ion logam. Kelompok tersebut sangat mudah larut dalam air dan lemak serta dapat bereaksi dengan vitamin C dan E (Robert, 1997).

### 2.8 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih banyak digunakan pada penelitian-penelitian toksikologi, metabolisme lemak, obat-obatan maupun mekanisme penyakit infeksius. (Jhonson, 2012). Menurut Smith (1988), rodentia seperti tikus (*Rattus norvegicus*) sering dijadikan hewan model karena memiliki sistem faal yang mirip dengan manusia. Tikus Wistar adalah salah satu hewan coba yang paling banyak digunakan sebagai model dalam penelitian biomedik. pemilihan tikus sebagai

sampel dalam penelitian tentang luka ini karena tikus merupakan salah satu hewan percobaan yang dapat digunakan di daerah dengan iklim tropis dan suhu yang mendukung ketahanan hidup dari tikus itu sendiri. Tikus juga merupakan salah satu hewan percobaan yang dapat hidup sendiri dengan tenang dalam kandang asalkan dapat melihat dan mendengar tikus lain (Smith, 1988).

Klasifikasi Tikus putih (*Rattus norvegicus*) menurut Krinke (2000), adalah sebagai berikut:

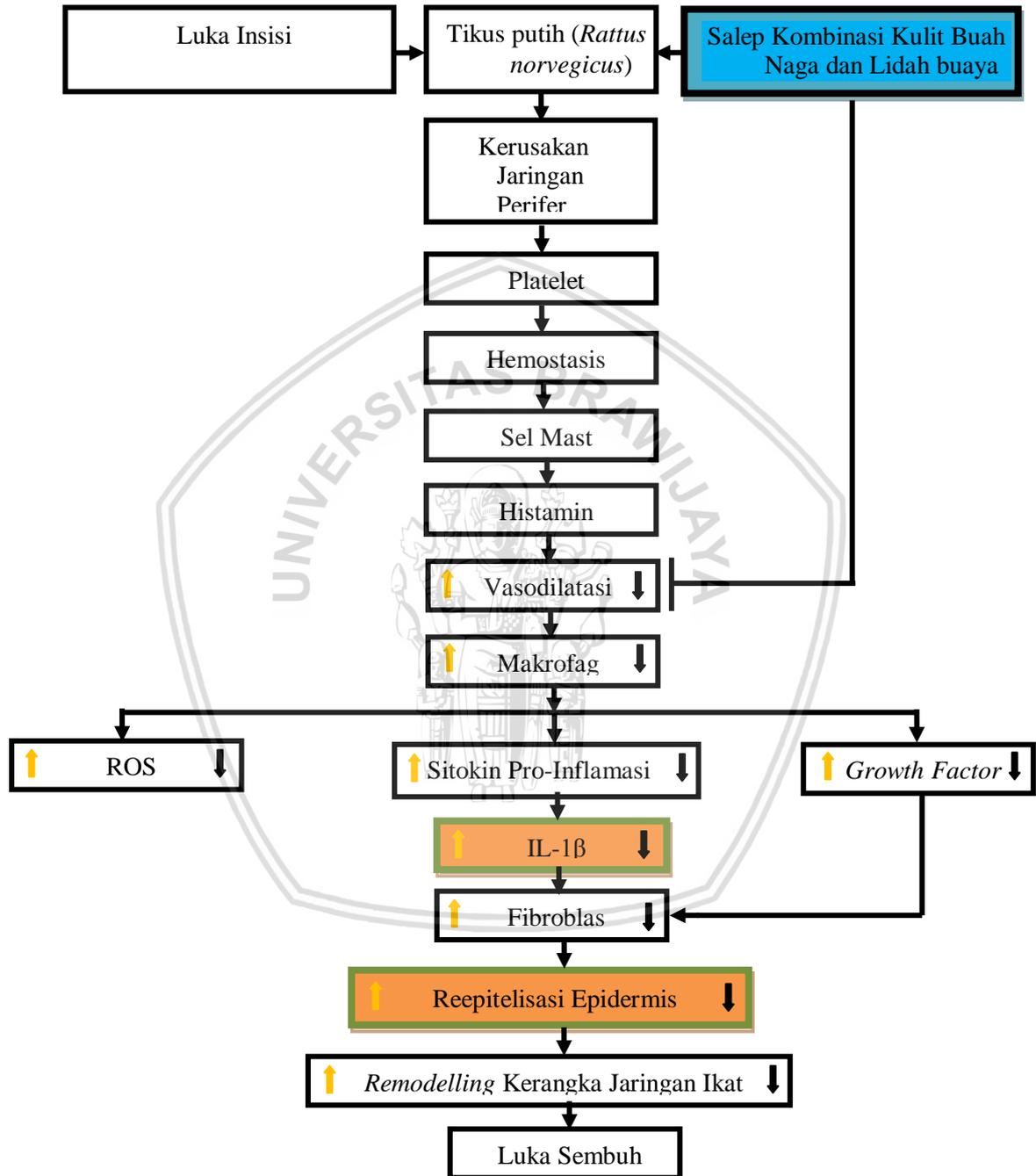
Kingdom : Animalia  
Phylum : Chordata  
Subphylum : Vertebrata  
Class : Mammalia  
Order : Rodentia  
Family : Muridae  
Genus : Rattus  
Species : *Rattus norvegicus*



**Gambar 2.4** Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar (Estina, 2010).

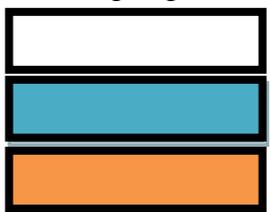
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan gambar:



- : Proses luka insisi
- : Terapi salep kombinasi buah naga dan lidah buaya topikal
- : Variabel yang diteliti
- : Menghambat
- : Jalur di dalam tubuh tikus
- : Proses inflamasi
- : Aktifitas setelah pemberian terapi kombinasi buah naga dan lidah buaya



Luka adalah rusaknya kesatuan jaringan secara spesifik terdapat substansi jaringan yang rusak atau hilang. Pada saat terjadinya luka, tubuh secara normal akan menimbulkan respon terhadap cedera dengan jalan proses peradangan yang dikarakteristikan dengan adanya bengkak, kemerahan, panas, nyeri, dan kerusakan fungsi.

Penyembuhan luka adalah suatu bentuk proses usaha untuk memperbaiki kerusakan jaringan yang terjadi. Platelet akan teragregasi dan menyebabkan 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. 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 spasme vaskular awal ini 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 lebih lanjut tetapi dapat meminimalkan pengeluaran darah melalui pembuluh darah yang rusak.

Langkah kedua dari proses hemostasis yaitu pembentukan sumbat trombosit. Apabila terjadi kerusakan endotel pembuluh darah, maka trombosit akan teraktivasi dan melekat pada kolagen sehingga membentuk sumbat trombosit

pembuluh darah yang rusak. Pada saat trombosit mulai menggumpal, akan mengeluarkan beberapa zat-zat kimia seperti ADP (*Adenosin Diphospat*), yang menyebabkan permukaan trombosit darah yang terdapat disekitar menjadi lekat sehingga trombosit tersebut melekat ke lapis pertama gumpalan trombosit. Trombosit yang melekat ini akan melepaskan lebih banyak ADP dan menyebabkan perlekatan antar trombosit semakin banyak sehingga akan membentuk sumbat trombosit melalui mekanisme umpan balik positif. Langkah terakhir dalam proses hemostasis yaitu koagulasi darah. Koagulasi darah adalah transformasi darah dari cair menjadi gel padat. Pembentukan bekuan diatas sumbat trombosit memperkuat dan menopang sumbat trombosit. Pada saat darah disekitar defek pembuluh memadar, darah tidak dapat lagi mengalir. Mekanisme koagulasi darah dimulai pada saat proses agregasi trombosit yang mengeluarkan *Platelet Factor 3* (PF3), PF3 akan mengaktifkan protrombin yang kemudian akan mengaktifkan trombin. Trombin yang merupakan komponen pembekuan yang akan mengubah fibrinogen menjadi fibrin dan mengaktifkan faktor XIII. Faktor XIII akan mengubah fibrin jala longgar menjadi fibrin jala stabil.

Setelah terjadi proses hemostasis, maka proses yang selanjutnya adalah proses inflamasi. Setelah terjadinya kerusakan jaringan dan adanya invasi dari bakteri, arteriol pada daerah yang rusak akan melebar untuk meningkatkan aliran darah ke lokasi kerusakan. 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 aktivitas berbagai sel inflamasi yang salah satunya adalah makrofag. Selain melalui proses

fagositosis, makrofag juga berperan dalam eliminasi bakteri dengan cara produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS penting dalam mencegah infeksi bakterial, namun tingginya kadar ROS secara berkepanjangan akan mengaktifasi dan mempertahankan kaskade asam arakhidonat yang akan memicu ulang timbulnya berbagai mediator inflamasi. Selain sebagai fagositosis, makrofag juga memproduksi *Growth Factor* yang berfungsi untuk memicu terjadinya proses angiogenesis dan pembentukan fibroblas. Makrofag juga memproduksi sitokin pro-inflamasi seperti IL-1.

IL-1 $\beta$  akan menstimulasi sintesis kolagen serta aktivasi metaloproteinase, suatu enzim yang berfungsi untuk mendegradasi komponen ECM. Hasil dari sintesis dan degradasi ECM merupakan *remodelling* kerangka jaringan ikat, dan struktur ini merupakan gambaran pokok penyembuhan luka pada fase inflamasi kronis. Kombinasi pemberian terapi kulit buah naga dan lidah buaya akan menghambat proses terjadinya inflamasi. Proses inflamasi yang terhambat mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah akan berkurang.

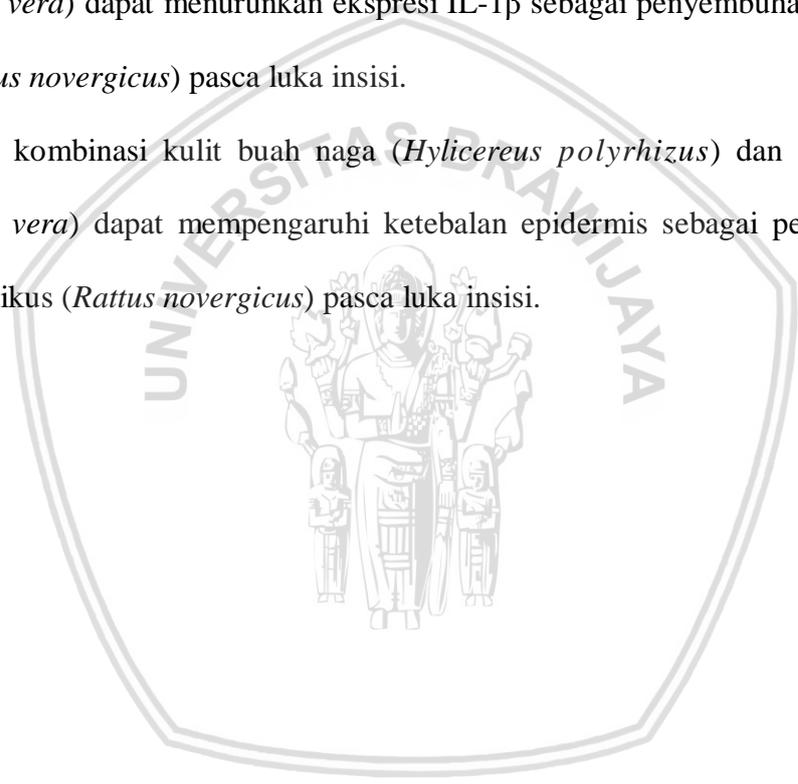
Salep ekstrak kulit buah naga dan lidah buaya diberikan untuk tujuan terapi luka insisi. Flavonoid dalam kulit buah naga membantu proses angiogenesis serta sebagai antibiotik, mempengaruhi proliferasi fibroblas dan memicu pengeluaran faktor pertumbuhan *Keratinocyt Growth Factor* (KGF). Asam salisilat dalam lidah buaya mencegah biosintesis prostaglandin dari asam arakhidonat yang mengatur peradangan dan reaksi kekebalan tubuh. Lidah buaya

bertindak sebagai stimulator penyembuhan luka dan produksi antibodi. memblokir sintesa prostaglandin dan memodulasi produksi limfosit dan makrofag.

### 3.2 Hipotesa Penelitian

Hipotesa dalam penelitian ini adalah:

1. Salep kombinasi kulit buah naga (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) dapat menurunkan ekspresi IL-1 $\beta$  sebagai penyembuhan luka tikus (*Rattus novergicus*) pasca luka insisi.
2. Salep kombinasi kulit buah naga (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) dapat mempengaruhi ketebalan epidermis sebagai penyembuhan luka tikus (*Rattus novergicus*) pasca luka insisi.



## BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

### 4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2017 yang bertempat di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dan Materia Medica Batu.

### 4.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah kandang tikus, botol minum tikus, timbangan, scalpel, gunting tajam-tumpul, pinset, mikroskop, autoclave, gelas ukur, blender, wadah kaca tertutup, oven, lemari pendingin, inkubator, plastik klip, mikrotom, spuit injeksi 1 ml.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan strain Wistar berumur 8-12 minggu dengan berat badan 150-250 gram, NaCL 0,9%, alkohol 70%, ketamin, ekstrak kulit buah naga dan lidah buaya, makanan pellet, vaselin album, cera alba, aquades, formalin 10%, larutan xylol, etanol, parafin cair, PBS (*Phospat Buffered Saline*), FBS (*Fetal Bovine Serum*), *Strep Avidin Horse Radish Peroxidase* (SA-HRP), antibodi IL-1 $\beta$ .

Hewan coba diadaptasikan selama 7 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.

#### 4.3 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 :

- 1) Kelompok 1 adalah tikus tidak diinsisi dan tidak diberi perlakuan (kontrol negatif).
- 2) Kelompok 2 adalah tikus yang diinsisi dan tidak diberi perlakuan (kontrol positif).
- 3) Kelompok 3 adalah tikus yang diinsisi dan dilakukan terapi dengan kombinasi salep ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) secara topikal konsentrasi 5%.

- 4) Kelompok 4 adalah tikus yang diinsisi dan dilakukan terapi dengan kombinasi salep ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) secara topikal konsentrasi 10%.
- 5) Kelompok 5 tikus yang diinsisi dan dilakukan terapi dengan kombinasi salep ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) secara topikal konsentrasi 15%.

#### 4.4 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

- Variabel bebas : Luka insisi dan dosis terapi ekstrak kulit buah naga dan lidah buaya.
- Variabel terikat : Perkembangan ketebalan epidermis dan ekspresi IL-1 $\beta$ .
- Variabel kontrol : Tikus, jenis kelamin, berat badan, umur, suhu, pakan, dan kandang.

#### 4.5 Tahapan Penelitian

1. Persiapan hewan coba.
2. Pembuatan ekstrak kulit buah naga dan lidah buaya.
3. Pembuatan salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya.
4. Perlakuan sayatan pada hewan coba.
5. Terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya.
6. Tahap pembuatan preparat histopatologi jaringan
7. Tahap pengamatan ekspresi IL-1 $\beta$  dengan metode imunohistokimia.
8. Tahap pengamatan ketebalan epidermis.
9. Analisi data.

## 4.6 Prosedur Kerja

### 4.6.1 Persiapan Hewan Coba

Tikus diadaptasi selama tujuh hari dengan pakan pellet. Tikus dikandangkan dalam kandang berukuran 17.5 x 23.75 cm. Kandang terbuat dari bahan plastik dengan tutup terbuat dari rangka kawat, berlokasi pada tempat yang bebas dari suara ribut dan terjaga dari asap industri serta polutan lainnya. Tikus diberi tanda atau label pada ekornya dengan menggunakan spidol tahan air sesuai kelompoknya. 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 *underpad* diganti setiap hari.

### 4.6.2 Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Naga dan Lidah Buaya

Kriteria buah naga yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah naga dengan kelas (*grade*) B yang telah masak dengan bobot buah antara 350-500 gram/buah. Kriteria lidah buaya yang digunakan dalam penelitian ini adalah lidah buaya yang memiliki daging yang tebal dan tidak keriput.

Sampel buah naga merah dikupas dan dibersihkan untuk memisahkan daging buah dengan kulitnya, selanjutnya kulit buah naga dipotong kecil-kecil kemudian dicuci setelah itu dikeringkan selanjutnya diblender sampai halus. Timbang kulit buah naga merah sebanyak 250 gram lakukan pembasahan dengan pelarut etanol 96% sebanyak 200 ml kemudian

masukkan serbuk yang telah di basahi dengan pelarut ke dalam toples, diratakan dan ditambahkan pelarut etanol 96% sampai terendam tutup toples dengan rapat selama 24 jam dan dishaker dengan, selanjutnya saring ekstrak cair dengan penyaring kain dan tampung ekstrak dalam Erlenmeyer. Hasil ekstrak cair diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* selama 2 jam dan ekstrak yang dihasilkan dievaporasi atau diuapkan di atas *water bath* selama 2 jam. sehingga didapat ekstrak cair sebanyak 38 ml.

Lidah buaya sebanyak 1,17 kg dicuci bersih dengan air diblender sampai halus lalu masukan bahan yang telah dihaluskan kedalam toples, diratakan dan ditambahkan larutan etanol 70% sampai terendam tutup toples dengan rapat selama 24 jam dan dishaker kemudian saring ekstrak dengan penyaring kain, tampung ekstrak dalam Erlenmeyer. Hasil ekstrak cair diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* selama 2 jam dan ekstrak yang dihasilkan dievaporasi atau diuapkan di atas *water bath* selama 2 jam. sehingga didapat ekstrak cair sebanyak 380 ml.

#### **4.6.3 Pembuatan Salep Kombinasi Ekstrak Kulit Buah Naga Dan Lidah Buaya.**

Salep kulit buah naga dan lidah buaya dibuat dengan bahan dasar vaselin album dan *cera alba*. Menurut Naibaho *et al.*, (2013), salep dengan bahan dasar hidrokarbon memiliki waktu kontak dan daya absorpsi yang tinggi dibandingkan dengan basis salep lainnya. Basis hidrokarbon menunjukkan daya antibakteri yang lebih besar dibandingkan basis lainnya, ditandai dengan penyembuhan infeksi pada luka kulit yang lebih cepat.

Pembuatan salep kombinasi kulit buah naga dan lidah buaya menggunakan formulasi salep vaselin album 95% dan *cera alba* 5%. Prosedur pembuatannya yaitu *cera alba* 5% dileburkan pada cawan penguap menggunakan *waterbath* kemudian ditambahkan vaselin album 95% dan diaduk hingga merata, angkat cawan dari *waterbath* dan dimasukkan ekstrak kulit buah naga dan lidah buaya, aduk hingga menjadi salep.

#### **4.6.4 Perlakuan Sayatan Pada Hewan Coba.**

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 dibuat sepanjang 2 cm dan kedalaman sampai subkutan dengan scalpel di daerah punggung tikus. Insisi dilakukan dengan menyayat kulit menggunakan *scalpel*.

#### **4.6.5 Pemberian Terapi kulit Buah Naga Kombinasi Lidah Buaya**

Pemberian terapi dilakukan sehari sekali secara topikal dengan cara mengoleskan salep kulit buah naga kombinasi lidah buaya sebanyak 50 mg pada area yang dilakukan luka insisi dengan konsentrasi bertingkat yaitu 5% pada kelompok tikus 3, 10% pada kelompok 4, dan 15% pada kelompok tikus 5 sehari sekali selama 10 hari. Konsentrasi salep yang digunakan pada penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Laila (2016), yaitu 5%, 10%, dan 15%.

#### 4.6.6 Pembuatan Preparat Histopatologi Jaringan

Pengambilan kulit pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) dilakukan pada hari ke-10. Langkah awal yang dilakukan yaitu euthanasi dengan cara dislokasi leher, kemudian dilakukan pembedahan. Pembedahan dilakukan pada regio abdomen, tikus di letakan pada posisi rebah dorsal pada papan pembedahan. Bagian kulit tempat insisi diisolasi dan dibilas dengan NaCl fisiologis 0,9%.

Kulit di rendam dalam larutan formalin 10% selama 24 jam. Tahap selanjutnya yaitu dehidrasi, yakni merendam jaringan kulit ke dalam larutan alkohol secara bertahap, yaitu alkohol 70%, alkohol 80% dan alkohol 90% masing-masing selama 1 hari. Kulit kemudian direndam lagi dengan alkohol 95% selama 2 hari yang diganti setiap harinya, kemudian direndam dengan alkohol 100% selama 2 hari yang diganti setiap harinya. Kulit yang sudah melalui tahap dehidrasi direndam kedalam cairan xylol I selama 15 menit dan xylol II selama 15 menit. Kulit dibenamkan ke dalam parafin/*paraplast* I selama 2 jam, kemudian dipindahkan ke dalam parafin/*paraplast* II selama 1 jam dan dimasukkan kedalam parafin/*paraplast* selama 2 jam. Tahap selanjutnya adalah *blocking* yaitu histoplate diletakkan di atas piringan logam. Cairan parafin dituangkan sedikit kedalam cetakan tersebut dan secepatnya jaringan di masukan ke dalam cetakan. Parafin cair kemudian dituangkan kembali hingga menutup seluruh cetakan tersebut.

Tahap pemotongan jaringan dilakukan dengan menggunakan mikrotom. Pisau pada mikrotom diletakan pada sudut tertentu. Blok parafin

yang akan dipotong direkatkan pada holder dengan menggunakan spatula. Blok preparat kemudian diletakan pada tempat di mikrotom dan diatur jarak preparat ke arah pisau sedekat mungkin. Ketebalan irisan sekitar 5 $\mu$ m. Rotor mikrotom kemudian diputar secara ritmis. Pita-pita parafin awal yang tanpa jaringan dibuang dan setelah potongan mengenai jaringan, jaringan dipindahkan secara hati-hati dengan sengkeliit atau kuas ke atas air di dalam waterbath yang diatur pada suhu 55°C, Tujuanya agar lembaran atau pita parafin berkembang dengan baik. Setelah pita parafin terkembang dengan baik, parafin ditempelkan di kaca objek dan disimpan selama 12 jam agar benar-benar kering.

#### **4.6.7 Ekspresi IL-1 $\beta$ dengan Metode Imunohistokimia (IHK)**

Metode pewarnaan imunohistokimia diawali dengan perendaman slide preparat pada xylol 1, xylol 2 dan etanol bertingkat (70%, 80%, 90%, 100%). Slide preparat kemudian dicuci dengan PBS pH 7,4 selama 1x15 menit selanjutnya ditetesi dengan 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> selama 20 menit. Setelah itu dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali dan diblok dengan 5 % FBS (*Fetal Bovine Serum*) selama 1 jam. Kemudian, slide preparat dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali dan selanjutnya diinkubasi dengan antibodi primer *anti mouse* IL-1 $\beta$  selama 1 jam dengan suhu ruang dan dilakukan pencucian kembali dengan pBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali. Berikutnya diinkubasi dengan antibodi sekunder *rabbit anti rat* igG berlabel biotin selama 1 jam dengan suhu ruang

dan dilakukan pencucian kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali.

Slide preparat ditetesi dengan *Strep Avidin Horse Radish Peroxidase* (SA-HRP) selama 40 menit. Kemudian dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali. Tetesi dengan *Diamano Benxidine* (DAB) selama 10 menit. Cuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit 3 kali. Selanjutnya *counterstaining* menggunakan *Mayer Hematoxylen* selama 10 menit. Dicuci dengan air mengalir. Bilas dengan aquades dan dikeringkan. Terakhir, slide di *mounting* dengan entellan dan ditutup dengan cover glass.

Pengamatan ekspresi IL-1 $\beta$  dilakukan dengan mikroskop perbesaran 400x dengan lima bidang pandang pengamatan. Setelah itu hasil pengamatan difoto. Hasil foto dari mikroskop kemudian diproses menggunakan *software immunoratio* untuk mengamati ekspresi IL-1 $\beta$  yang ditandai dengan peningkatan presentasi luas daerah yang terwarnai.

#### **4.6.8 Analisis Ketebalan Epidermis**

Preparat kulit deparafinasi dengan dimasukan pada xylol 1, xylol 2 masing-masing selama 5 menit dan dimasukkan dalam etanol bertingkat (95%, 90%, 80%, 70%). Setelah itu preparat kulit diwarnai dengan *hematoxyline* selama 10 menit. Kemudian, preparat dicuci dengan air mengalir dan dibilas dengan aquades selanjutnya dilakukan pewarnaan *eosin* selama 5 menit dan bilas dengan aquades. Kemudian, dimasukkan dalam etanol bertingkat (70%, 80%, 90%, 95%) selama 5 menit dan *clearing* dalam

xylol 1, xylol 2 masing-masing 3 menit. Terakhir *mounting* dengan menggunakan entallan dan ditutup dengan cover glass.

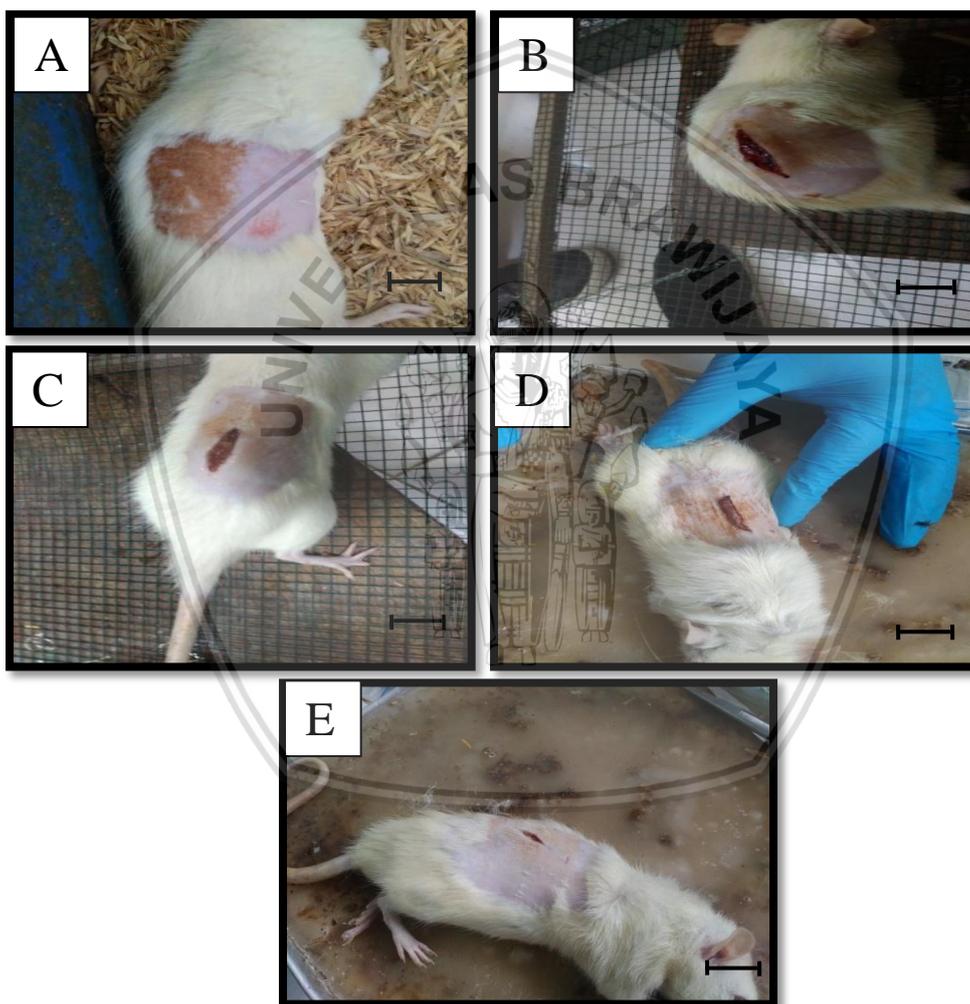
Ketebalan reepitelisasi dinilai dengan cara mengukur ketebalan epidermis yang baru tumbuh pada tepi luka menggunakan microruller dengan software image raster kemudian dibandingkan antara kelompok kontrol dan perlakuan. Data diolah secara komputerisasi, kemudian disajikan dalam bentuk tabel distribusi frekuensi (Rahayu, 2011).

#### **4.6.9 Analisis Data**

Data penelitian ini berupa data kuantitatif ekspresi IL-1 $\beta$  dan ketebalan epidermis dengan analisis statistik ANOVA satu arah (SPSS for windows). Analisa one-way ANOVA dengan uji distribusi data, kemudian dilanjutkan uji homogenitas untuk mengetahui data tersebut memiliki varian yang sama atau tidak. Apabila data terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji one-way ANOVA untuk mengetahui perbedaan rata-rata antar kelompok perlakuan atau perbedaan secara keseluruhan atau kelompok perlakuan. Apabila hasil uji one-way ANOVA menunjukkan hasil yang signifikan ( $p < 0,05$ ), maka dapat dilakukan uji lanjutan uji *Tukey* (Beda Nyata Jujur) dengan  $\alpha$  5% (Kusriningrum, 2008).

## BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

Luka adalah rusaknya kesatuan jaringan secara spesifik terdapat substansi jaringan yang rusak atau hilang. Gambaran Makroskopis luka insisi pada daerah punggung tikus yang diberikan terapi salep kombinasi ekstrak kulit buah naga dan lidah buaya secara topikal selama sepuluh hari (**Gambar 5.1**).



**Gambar 5.1** Gambar makroskopis kulit tikus pasca luka insisi hari ke 10

Keterangan: (A) kelompok kontrol negatif (K-), (B) kelompok kontrol positif (K+), (C) kelompok terapi salep ekstrak kulit buah naga dan lidah buaya 5% (P1), (D) kelompok terapi salep ekstrak kulit buah naga dan lidah buaya 10% (P2), (E) kelompok terapi salep ekstrak kulit buah naga dan lidah buaya 15% (P3). ── = 2 cm.

Gambaran makroskopis jaringan kulit tikus kontrol negatif yang tidak diberikan perlakuan menunjukkan kulit dalam keadaan normal (**Gambar 5.1.A**). Kelompok kontrol positif diberi perlakuan luka insisi tanpa terapi salep kombinasi ekstrak kulit buah naga dan lidah buaya menunjukkan belum terjadi penutupan luka, terlihat rubor, bengkak pada tepi luka dan belum ditumbuhi rambut pada daerah sekitar luka (**Gambar 5.1.B**). Kelompok (P1) yang diberi perlakuan luka insisi dengan terapi salep 5% menunjukkan belum terjadi penutupan, rubor sedikit memudar, dan belum ditumbuhi rambut pada area sekitar luka (**Gambar 5.1.C**). Kelompok (P2) yang diberi perlakuan luka insisi dengan terapi salep 10% menunjukkan luka mulai menutup, rubor memudar dan rambut sekitar area luka mulai tumbuh (**Gambar 5.1.D**). Kelompok (P3) yang diberi perlakuan luka insisi dengan terapi salep 15% menunjukkan luka menutup tapi belum sempurna, garis insisi mulai mengecil, dan ditumbuhi rambut pada area luka (**Gambar 5.1.E**).

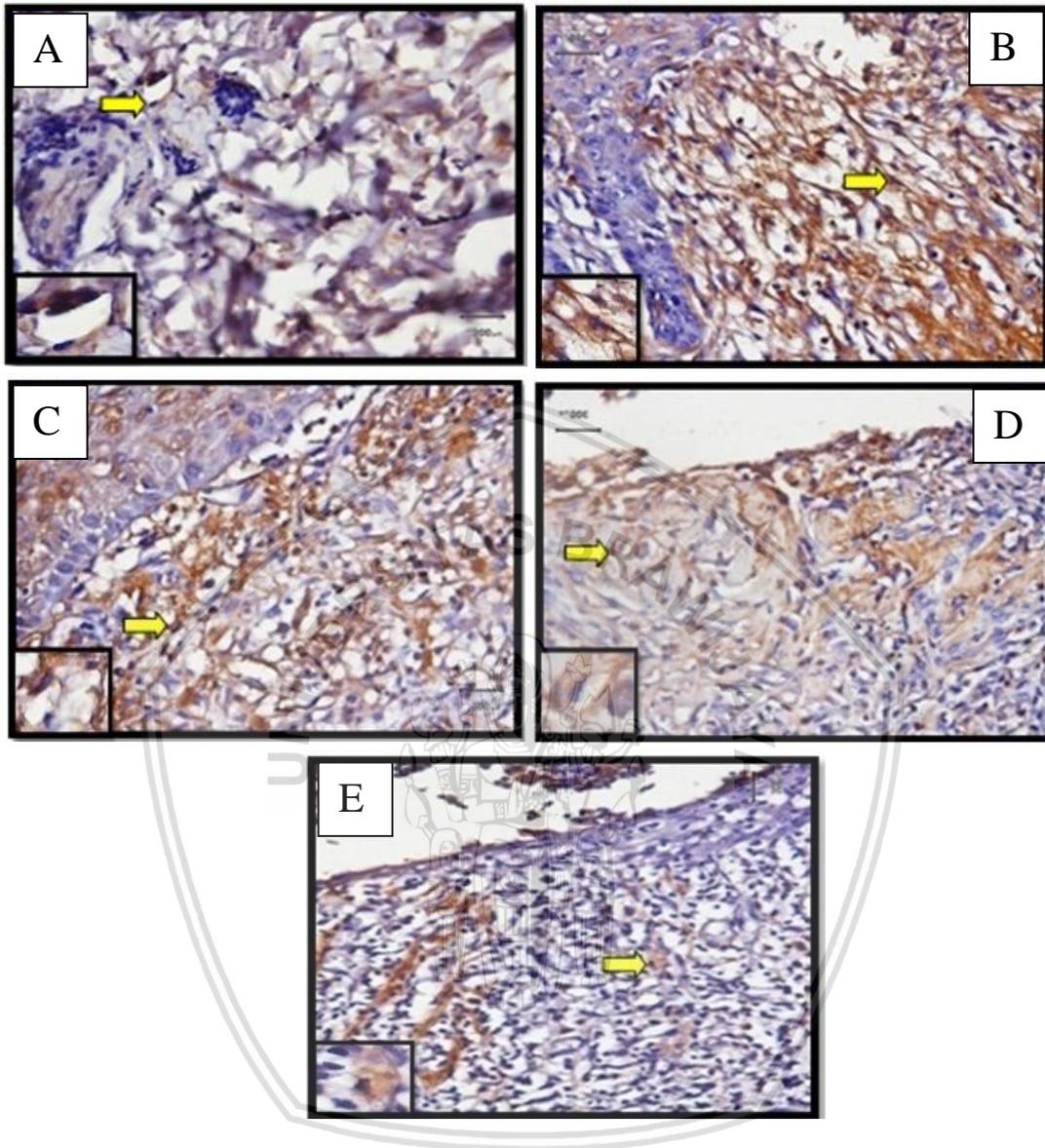
Berdasarkan gambaran makroskopis dari lima kelompok perlakuan dapat dilihat kelompok (P3) yang diberi perlakuan luka insisi dengan terapi salep kombinasi ekstrak kulit buah naga dan lidah buaya 15% menunjukkan proses penyembuhan luka yang paling cepat dari kelompok perlakuan lainnya.

Salah satu tanda ketika terjadinya luka akan mengalami rubor atau kemerahan pada area luka dan sekitarnya. Rubor merupakan tanda umum sebagai manifestasi yang berkaitan dengan proses konstiksi arteriola. Respon vaskuler atau respon hemodinamik terjadi saat timbulnya vasokonstriksi pembuluh darah kecil di daerah radang. Vasokonstriksi akan segera diikuti vasodilatasi arteriola dan venula yang mensuplai daerah radang. Sebagai hasil dari reaksi tersebut,

maka daerah radang menjadi kongesti yang menyebabkan jaringan berwarna merah dan panas. Bersamaan dengan itu, permeabilitas kapiler akan meningkat, yang menyebabkan cairan berpindah ke jaringan dan menyebabkan kebengkakan dan rasa sakit (Celloti dan Laufer, 2001). Ketika proses penyembuhan berjalan maka tanda-tanda seperti rubor atau kemerahan pada area luka dan sekitarnya menjadi berkurang seperti tampak pada kelompok perlakuan tiga (P3).

### **5.1 Pengaruh Pemberian Salep Kombinasi Ekstrak Kulit Buah Naga Dan Lidah Buaya Terhadap Ekspresi Interleukin 1 Beta (IL-1 $\beta$ ) Pada Luka Insisi Tikus Putih**

Hasil penelitian mengenai pengaruh pemberian salep kombinasi ekstrak kulit buah naga dan lidah buaya terhadap ekspresi IL-1 $\beta$  pada luka insisi tikus putih pada lima perlakuan yaitu tikus A (kontrol negatif), tikus B (kontrol positif), tikus C (pemberian terapi salep konsentrasi 5%), tikus D (pemberian terapi salep konsentrasi 10%), tikus E (pemberian terapi salep konsentrasi 15%) memperlihatkan adanya perbedaan ekspresi IL-1 $\beta$  pada setiap kelompok. Kelompok kontrol negatif digunakan sebagai standar untuk mengetahui adanya peningkatan produksi IL-1 $\beta$  pada kelompok lainnya. Gambaran sitokin IL-1 $\beta$  di sel makrofag yang tersebar dibagian dermis terlihat pada semua perlakuan yang ditunjukkan dengan tanda panah berwarna kuning. Ekspresi interleukin 1 Beta (IL-1 $\beta$ ) pada jaringan kulit tikus ditunjukkan dengan adanya warna kecoklatan (**Gambar 5.2**).



**Gambar 5.2** Gambaran ekspresi IL-1 $\beta$  jaringan kulit tikus dengan (pewarnaan imunohistokimia perbesaran 40x lensa objektif).

Keterangan: (A) kelompok kontrol negatif (K-), (B) kelompok kontrol positif (K+), (C) kelompok terapi salep 5% (P1), (D) kelompok terapi salep 10% (P2), (E) kelompok terapi salep 15% (P3).

Tanda  $\rightarrow$  menunjukkan ekspresi IL-1 $\beta$  kulit.

**Tabel 5.1** Ekspresi IL-1 $\beta$  kulit pada berbagai perlakuan

| Kelompok<br>Perlakuan | Rata-rata Presentase<br>Ekspresi IL-1 $\beta$ (%) $\pm$ SD | Peningkatan<br>terhadap K- | Penurunan<br>terhadap K+ |
|-----------------------|--|----------------------------|--------------------------|
| Kontrol negatif       | 20,70 $\pm$ 1,80 <sup>a</sup>                              | -                          | -                        |
| Kontrol Positif       | 63,35 $\pm$ 4,80 <sup>d</sup>                              | 67,32%                     | -                        |
| P1 (Terapi 5%)        | 54,15 $\pm$ 4,24 <sup>c</sup>                              | -                          | 14,52%                   |
| P2 (Terapi 10%)       | 41,60 $\pm$ 3,47 <sup>b</sup>                              | -                          | 34,33%                   |
| P3 (Terapi 15%)       | 27,95 $\pm$ 2,56 <sup>a</sup>                              | -                          | 55,88%                   |

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

Ekspresi IL-1 $\beta$  pada jaringan kulit tikus ditunjukkan dengan adanya warna kecoklatan (**Gambar 5.2**). Hasil pewarnaan imunohistokimia pada tikus kontrol negatif menunjukkan adanya ekspresi IL-1 $\beta$  ekspresi IL-1 $\beta$  pada tikus kontrol negatif menunjukkan keadaan yang normal dalam jumlah 20,70 $\pm$ 1,80 (**Gambar 5.2.A**). Ekspresi IL-1 $\beta$  tertinggi ditunjukkan oleh kelompok kontrol positif (K+) (**Gambar 5.2.B**), yang ditandai dengan adanya peningkatan ekspresi IL-1 $\beta$  dalam jumlah 67,32%.

Sedangkan efek pemberian salep kombinasi ekstrak kulit buah naga (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) dengan konsentrasi 5% (**Gambar 5.2.C**), menunjukkan adanya penurunan ekspresi IL-1 $\beta$  dalam jumlah 14,52% jika dibandingkan dengan kontrol positif. Kelompok terapi 2 dengan pemberian salep kombinasi ekstrak kulit buah naga (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) dengan konsentrasi 10% (**Gambar 5.2.D**), menunjukkan adanya penurunan ekspresi IL-1 $\beta$  sebesar 34,33% jika dibandingkan dengan kontrol positif. Kelompok terapi 3 dengan pemberian salep kombinasi ekstrak

kulit buah naga (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) dengan konsentrasi 15% (**Gambar 5.2.E**), menunjukkan adanya penurunan ekspresi IL-1 $\beta$  sebesar 55,88% jika dibandingkan dengan kontrol positif.

Kelompok kontrol Negatif menunjukkan rata-rata ekspresi IL-1 $\beta$  sebesar 20,70 $\pm$ 1,80, nilai rata-rata produksi IL-1 $\beta$  pada kontrol negatif digunakan sebagai standar untuk mengetahui adanya peningkatan produksi IL-1 $\beta$ . Pada kelompok kontrol positif menunjukkan peningkatan rata-rata IL-1 $\beta$  dengan rata-rata 63,35 $\pm$ 4,80 dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Kelompok kontrol positif menunjukkan hasil yang berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif. Kelompok kontrol positif memiliki ekspresi IL-1 $\beta$  paling tinggi jika dibandingkan dengan kelompok lainnya, ditandai dengan banyaknya area berwarna coklat (**Tabel 5.1**).

Pada kelompok terapi menggunakan salep kombinasi ekstrak kulit buah naga (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) memiliki ekspresi berbeda nyata jika dibandingkan dengan kontrol positif, ditunjukkan dengan adanya penurunan seiring dengan peningkatan dosis. Kelompok terapi 1 dengan dosis 5% menunjukkan rata-rata ekspresi IL-1 $\beta$  sebesar 54,15 $\pm$ 4,24, berbeda signifikan dengan kontrol negatif dan kelompok kontrol positif (**Tabel 5.1**).

Kelompok terapi 2 dengan konsentrasi 10% menunjukkan rata-rata ekspresi IL-1 $\beta$  sebesar 41,60 $\pm$ 3,47, berbeda signifikan dengan kontrol negatif dan kelompok kontrol positif. Kelompok terapi 3 dengan konsentrasi 15% menunjukkan rata-rata ekspresi IL-1 $\beta$  sebesar 27,95 $\pm$ 2,56, berbeda signifikan

dengan kelompok kontrol positif dan mampu mendekati kelompok kontrol negatif.

Terapi yang paling efektif dari ketiga konsentrasi dalam menurunkan ekspresi IL- $\beta$  dengan menggunakan salep kombinasi ekstrak kulit buah naga dan lidah buaya dengan konsentrasi 15% karena hasil penelitian hampir mendekati nilai kelompok kontrol negatif.

Kelompok kontrol negatif digunakan sebagai standar untuk mengetahui adanya peningkatan produksi IL-1 $\beta$ . Kontrol negatif merupakan tikus sehat tanpa insisi luka, sehingga produksi IL-1 $\beta$  relatif sedikit. Hal ini sesuai dengan pendapat Arend (2002), bahwa paparan radikal bebas dalam tubuh hewan coba yang sehat tidak melebihi kapasitas sehingga terjadinya peroksidasi lipid pada membran sel minimal, yang dalam keadaan fisiologis sedikit terdapat sel inflamasi.

Peningkatan ekspresi IL-1 $\beta$  pada kelompok kontrol positif (K+) menunjukkan adanya inflamasi pada jaringan kulit akibat perlakuan insisi, sehingga menyebabkan aktivasi makrofag akibat adanya akumulasi radikal bebas dan memicu sekresi protein yang disebut dengan kemokin, seperti neutrofil dan monosit dari sirkulasi darah menuju ke jaringan. Menurut Butterfield *et al.*, (2006), sitokin dan kemokin yang dihasilkan oleh makrofag sebagai penanda proses inflamasi yang direspon oleh tubuh melalui sekresi sel-sel radang. Sel radang yang lebih dahulu muncul ketika terjadinya inflamasi adalah neutrofil yang berfungsi sebagai fagositosis sel, namun apabila infiltrasi neutrofil terlalu banyak dapat merusak jaringan.

Peningkatan ekspresi sitokin IL-1 $\beta$  kulit pada kontrol positif disebabkan karena adanya akumulasi radikal bebas yang berupa ROS pada organ sehingga menimbulkan stres oksidatif pada membran sel. Menurut Velnar *et al.*, (2009), stres oksidatif menyebabkan terjadinya kerusakan pada lipid bilayer, protein dan makromolekul lainnya sehingga menstimulasi aktivitas dari sel neutrofil, monosit dan limfosit yang kemudian akan infiltrasi menjadi makrofag dan merangsang sekresi sitokin proinflamasi untuk menghambat radikal bebas. Sitokin dalam fase inflamasi pada proses kesembuhan luka merupakan kemoatraktan sel radang, dimana pada fase akhir inflamasi sel radang akan menghasilkan growth factor yang diperlukan pada fase proliferaatif dalam penyembuhan luka.

Penurunan ekspresi IL-1 $\beta$  pada kelompok terapi disebabkan karena pemberian terapi salep kombinasi ekstrak kulit buah naga (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) memiliki kandungan antioksidan. Menurut Wu *et al.*, (2006), kandungan antioksidan dapat memusnakan radikal bebas sehingga dapat meminimalisir peroksidasi lipid pada membran sel, sehingga menurunkan respon dari sel inflamasi.

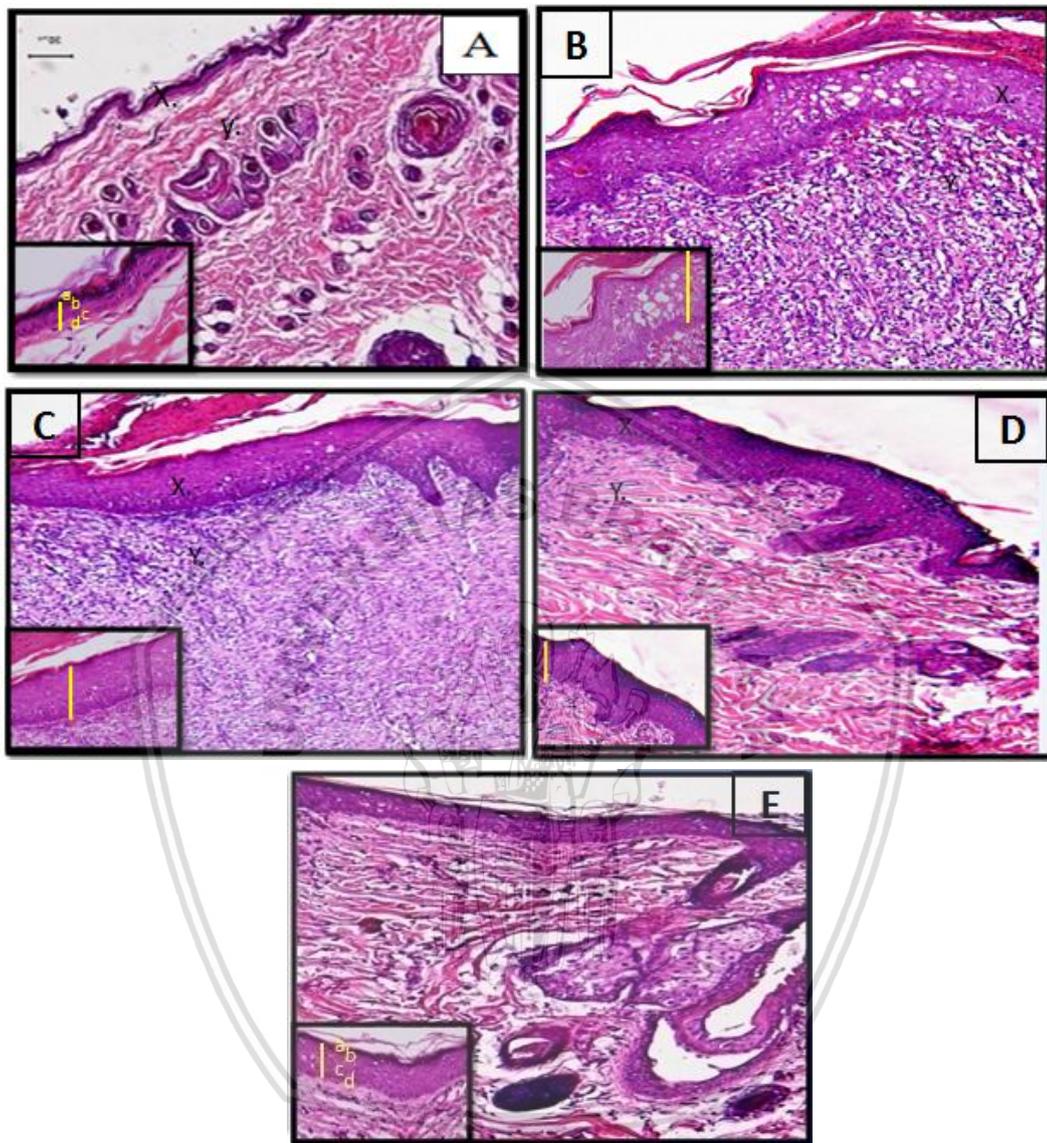
Salep ekstrak kulit buah naga (*Hylicereus polyrhizus*) mengandung senyawa flavonoid yaitu formononetin, apigenin, kaemferol dan quercetin yang bekerja sebagai antioksidan sedangkan pada lidah buaya (*Aloe vera*) juga mengandung vitamin C, vitamin E, dan vitamin A. Bahan aktif yang membantu proses penyembuhan salah satunya adalah flavonoid. Flavonoid ini berfungsi sebagai antioksidan pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan atau reduktor. Antioksidan mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat

radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga menghentikan pembentukan senyawa oksigen (ROS) (Winarsi, 2007).

Flavonoid memiliki efek antioksidan yang dapat mempercepat fase inflamasi dengan cara menangkap radikal bebas dan mencegah reaksi oksidasi dengan meningkatkan aktifitas enzim *Superoxide dismutase* (SOD) dan *glutathion transferase* (Winarsi, 2007).

## **5.2 Pengaruh Pemberian Salep Kombinasi Ekstrak Kulit Buah Naga Dan Lidah Buaya Terhadap Ketebalan Epidermis Kulit Pada Luka Insisi Tikus Putih**

Hasil penelitian mengenai pengaruh pemberian salep kombinasi ekstrak kulit buah naga (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) terhadap perkembangan epidermis. Terdapat lima perlakuan yaitu tikus A (kontrol negatif), tikus B (kontrol positif), tikus C (pemberian terapi salep konsentrasi 5%), tikus D (pemberian terapi salep konsentrasi 10%), tikus E (pemberian terapi salep konsentrasi 15%) memperlihatkan adanya perbedaan pada setiap kelompok kontrol dan kelompok terapi terhadap perkembangan epidermis pada kulit tikus. Hasil dari pengamatan preparat histopatologi pada kelompok kontrol negatif yang digunakan sebagai pembanding dari ketebalan epidermis yang normal. Kelompok kontrol positif yang tanpa diberikan terapi salep kombinasi ekstrak kulit buah naga (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) digunakan sebagai pembanding untuk kelompok terapi (**Gambar 5.3**).



**Gambar 5.3** Perkembangan Ketebalan Epidermis pada Kulit Tikus (*Rattus norvegicus*) Pasca Luka Insisi (pewarnaan HE perbesaran 10x).

**Keterangan :** (A) kelompok kontrol negatif (K-), (B) kelompok kontrol positif (K+), (C) kelompok terapi 5% (P1), (D) kelompok terapi salep 10% (P2), (E) kelompok terapi salep 15% (P3). Tanda garis kuning(→) menunjukkan Ketebalan epidermis. a. Stratum corneum, b. Stratum lucidum, c. Stratum granulosum, d. Stratum spinosum, e. Stratum basale. X (epidermis), Y (dermis). ─ = 30μm.

**Tabel 5.2** Ketebalan epidermis kulit pada berbagai perlakuan

| Kelompok        | Rata-rata ketebalan epidermis<br>(Rata-rata $\pm$ SD) ( $\mu\text{m}$ ) | Peningkatan<br>terhadap K- | Penurunan<br>terhadap K+ |
|-----------------|---|----------------------------|--------------------------|
| Kontrol negatif | 19,93 $\pm$ 0,87 <sup>a</sup>   | -                          | -                        |
| Kontrol positif | 89,46 $\pm$ 8,61 <sup>d</sup>   | 69,53 $\mu\text{m}$        | -                        |
| P1 (Terapi 5%)  | 86,49 $\pm$ 3,67 <sup>d</sup>   | -                          | 2,97 $\mu\text{m}$       |
| P2 (Terapi 10%) | 53,44 $\pm$ 3,85 <sup>c</sup>   | -                          | 36,02 $\mu\text{m}$      |
| P3 (Terapi 15%) | 32,21 $\pm$ 4,87 <sup>b</sup>   | -                          | 57,25 $\mu\text{m}$      |

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

Gambaran mikroskopis perkembangan epidermis pada kulit tikus kontrol negatif menunjukkan bentuk normal epidermis terlihat adanya epitel yang lengkap tanpa adanya peradangan (**Gambar 5.3.A**). Ketebalan epidermis pada tikus kontrol negatif menunjukkan rata-rata 19,93 $\pm$ 0,87. Sedangkan kelompok kontrol positif terlihat adanya infiltrasi sel radang, epitelisasi belum terbentuk, dan serabut kolagen tidak terlihat. Banyaknya sel radang yang terlihat karena adanya respon inflamasi pada jaringan yang mengalami luka (**Gambar 5.3.B**). Ketebalan epidermis pada tikus kontrol positif menunjukkan rata-rata 89,46 $\pm$ 8,61. Kelompok terapi 5% menunjukkan pembentukan *stratum* pada epidermis belum sempurna hanya tampak *stratum basale*, masih banyak terdapat sel radang di daerah sekitar luka dan masih tebal (**Gambar 5.3.C**). Ketebalan epidermis pada kelompok P1 rata-rata 86,49  $\pm$  3,67. Kelompok terapi 10% menunjukkan pembentukan *stratum* tetapi bentuknya masih belum beraturan dan sudah mengalami penipisan dibandingkan dengan terapi 5% (**Gambar 5.3.D**). Ketebalan epidermis pada kelompok P2 rata-rata 53,44  $\pm$  3,85. Kelompok terapi 15% menunjukkan *stratum*

pada epidermis sudah terbentuk secara sempurna yaitu *stratum basale*, *stratum spinosum*, *stratum granulosum*, dan *stratum korneum*, pada *stratum basale* pembentukannya sudah terlihat kompak dan beraturan dan terlihat lebih tipis di bandingkan dengan kelompok terapi lainya tetapi masih terlihat sedikit sel radang (**Gambar 5.3.E**). Ketebalan epidermis pada P3 dengan rata-rata  $32,21 \pm 4,87$ . Hasil terapi 15% menunjukkan bahwa ketebalan epidermis mendekati normal.

Ketebalan epidermis pada kelompok kontrol negatif termasuk ketebalan epidermis yang normal. Menurut Liu (2012), rata-rata ketebalan epidermis normal tikus  $21,7 \mu\text{m}$ . Ketebalan epidermis pada kelompok kontrol positif (K+) menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap kelompok kontrol negatif. Ketebalan epidermis pada kelompok P1 dengan terapi salep kombinasi ekstrak kulit buah naga (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) 5% menunjukkan perbedaan yang nyata dengan kelompok K-, P2, P3, namun tidak berbeda nyata dengan kelompok K+.

Ketebalan epidermis pada kelompok P2 dengan terapi salep kombinasi ekstrak kulit buah naga (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) 10% berbeda nyata terhadap kelompok K+, P1, P3. Ketebalan pada kelompok P3 dengan terapi salep kombinasi ekstrak kulit buah naga (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) 15% berbeda nyata terhadap kelompok K-, K+, P1, dan P2. Dapat diketahui bahwa terapi yang paling efektif terhadap penyembuhan luka adalah menggunakan salep kombinasi ekstrak kulit buah naga (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) dengan konsentrasi 15% karena hasil

penelitian menunjukkan bahwa ketebalan epidermis pada (P3) mendekati kelompok kontrol negatif.

Pada kelompok kontrol positif (K+) terdapat penebalan pada epidermis. Restorasi epitel permukaan pada kulit dicapai dengan meningkatkan aktivitas mitosis epitel di dekat tepi luka, terutama pada lapisan yang lebih dalam. Menurut Kalangi (2013), Epitel merupakan salah satu komponen yang berperan dalam penyembuhan luka. Regenerasi lapisan epitel merupakan serangkaian peristiwa yang sangat terkoordinasi dan terstruktur.

Epidermis merupakan lapisan luar kulit yang terdiri dari lima lapisan yaitu stratum corneum, terdiri dari sel keratinosit yang bisa mengelupas dan berganti. Stratum lucidum berupa garis translusen, biasanya terdapat pada kulit tebal telapak kaki dan telapak tangan tidak tampak pada kulit tipis. Stratum granulosum Ditandai oleh 3-5 lapis sel polygonal gepeng yang intinya ditengah dan sitoplasma terisi oleh granula basofilik kasar yang dinamakan granula keratohialin. Stratum spinosum terdapat berkas-berkas filament yang dinamakan tonofibril, dianggap filamen-filamen tersebut memegang peranan penting untuk mempertahankan koheisi sel dan melindungi terhadap efek abrasi. Stratum basale terdapat aktifitas mitosis yang hebat dan bertanggung jawab dalam pembaharuan sel epidermis secara konstan (Pradanakusuma, 2007).

Reepitelisasi dimulai sel-sel epidermal yang berproliferasi menuju cavitas luka. Keratinosit pada *stratum basal* aktif membelah, bermigrasi dan berproliferasi menuju *stratum spinosum*. Pada *stratum spinosum* sel keratinosit akan bermigrasi dan berproliferasi menuju *stratum korneum*. Proses migrasi dan

proliferasi keratinosit pada stratum basal dan stratum spinosum menyebabkan pada pengamatan histopatologi dengan pewarnaan HE tampak stratum tersebut terlihat lebih tebal jika dibandingkan dengan histologi kulit normal. Keratinosit yang berada di stratum korneum akan berdiferensiasi menjadi keratin (Pastar *et al.*, 2014).

Peningkatan nilai rata-rata perkembangan epidermis pada kelompok P1, P2, P3 menunjukkan bahwa kelompok P3 merupakan dosis paling efektif pada penelitian ini untuk meningkatkan perkembangan epidermis berdasarkan perkembangan epidermis yang mendekati nilai K- (kontrol negatif). P3 menunjukkan peningkatan perkembangan epidermis karena kulit buah naga dan lidah buaya memiliki kandungan antioksidan, sehingga membantu fase inflamasi berjalan normal dan mempercepat terjadinya fase proliferasi (Saneta, 2005). Asam salisilat dalam lidah buaya mencegah biosintesis prostaglandin dari asam arakhidonat yang mengatur peradangan dan reaksi kekebalan tubuh. Lidah buaya bertindak sebagai stimulator penyembuhan luka dan produksi antibodi. Memblokir sintesa prostaglandin dan memodulasi produksi limfosit dan makrofag.

Ketika terjadi perlukaan pada jaringan kulit, proses kesembuhan dan regenerasi sel terjadi secara otomatis sebagai respon fisiologis tubuh. Terdapat tiga fase dalam proses kesembuhan luka, yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase remodeling (Fishman, 2010). Pada awalnya darah akan mengisi jaringan yang cedera dan terpaparnya darah terhadap kolagen akan mengakibatkan terjadinya degranulasi trombosit dan pengaktifan faktor Hageman. Hal ini kemudian akan

memicu sistem biologis lain seperti pengaktifan komplemen kinin, kaskade pembekuan dan pembentukan plasmin. Keadaan ini memperkuat sinyal dari daerah terluka, yang tidak saja mengaktifkan pembentukan bekuan yang menyatukan tepi luka tetapi juga akumulasi dari beberapa mitogen dan menarik zat kimia ke daerah luka. Pembentukan kinin dan prostaglandin menyebabkan vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas dari pembuluh darah di daerah luka. Hal ini menyebabkan edema dan kemudian menimbulkan pembengkakan dan nyeri pada awal terjadinya luka. Poli morfo nuklear (PMN) adalah sel pertama yang menuju ke tempat terjadinya luka. Jumlahnya meningkat cepat dan mencapai puncaknya pada 24 – 48 jam. Fungsi utamanya adalah memfagositosis bakteri yang masuk. Pada penyembuhan luka normal tampaknya kehadiran sel-sel ini tidak begitu penting sebab penyembuhan luka dapat terjadi tanpa keberadaan sel-sel ini. Adanya sel ini menunjukkan bahwa luka terkontaminasi bakteri. Bila tidak terjadi infeksi sel-sel PMN berumur pendek dan jumlahnya menurun dengan cepat setelah hari ketiga (Sabiston, 1997).

Elemen imun seluler yang berikutnya adalah makrofag. Sel ini turunan dari monosit yang bersirkulasi, terbentuk karena proses kemotaksis dan migrasi. Muncul pertama 48 – 96 jam setelah terjadi luka dan mencapai puncak pada hari ke 3 . Makrofag berumur lebih panjang dibanding dengan sel PMN dan tetap ada di dalam luka sampai proses penyembuhan berjalan sempurna. Sesudah makrofag akan muncul limfosit T dengan jumlah bermakna pada hari ke 5 dan mencapai puncak pada hari ke 7. Sebaliknya dari PMN, makrofag dan limfosit T penting keberadaannya pada penyembuhan luka normal. Makrofag seperti halnya netrofil,

memfagositosis dan mencerna organisme-organisme patologis dan sisa-sisa jaringan. Makrofag juga melepas zat biologis aktif. Zat ini mempermudah terbentuknya sel inflamasi tambahan yang membantu makrofag dalam dekontaminasi dan membersihkan sisa jaringan. Makrofag juga melepas faktor pertumbuhan dan substansi lain yang mengawali dan mempercepat pembentukan formasi jaringan granulasi. Zat yang berfungsi sebagai transmitter interseluler ini secara keseluruhan disebut sitokin (Ike, 2001).

Fase proliferasi ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi pada luka. Jaringan granulasi merupakan kombinasi dari elemen seluler termasuk fibroblast dan sel inflamasi, yang bersamaan dengan timbulnya kapiler baru tertanam dalam jaringan longgar ekstra seluler dari matriks kolagen, fibronectin dan asam hialuronik. Fibroblast muncul pertama kali secara bermakna pada hari ke 3 dan mencapai puncak pada hari ke 7. Peningkatan jumlah fibroblast pada daerah luka merupakan kombinasi dari proliferasi dan migrasi. Fibroblast ini berasal dari sel-sel mesenkimal lokal, terutama yang berhubungan dengan lapisan adventisia, pertumbuhannya disebabkan oleh sitokin yang diproduksi oleh makrofag dan limfosit. Fibroblast merupakan elemen utama pada proses perbaikan untuk pembentukan protein struktural yang berperan dalam pembentukan jaringan. Fibroblast juga memproduksi kolagen dalam jumlah besar, kolagen ini berupa glikoprotein berantai tripel, unsur utama matriks luka ekstraseluler yang berguna membentuk kekuatan pada jaringan parut. Kolagen pertama kali dideteksi pada hari ke 3 setelah luka, meningkat sampai minggu ke 3. Kolagen terus menumpuk sampai tiga bulan. Penumpukan kolagen pada saat awal

terjadi berlebihan kemudian fibril kolagen mengalami reorganisasi sehingga terbentuk jaringan reguler sepanjang luka. Fibroblast juga menyebabkan matriks fibronektin, asam hialoronik dan glikos aminoglikan. Proses proliferasi fibroblast dan aktivasi sintetik ini dikenal dengan fibroplasia (Ike, 2001).

Revaskularisasi dari luka terjadi secara bersamaan dengan fibroplasia. Tunas-tunas kapiler tumbuh dari pembuluh darah yang berdekatan dengan luka. Pada hari ke 2 setelah luka sel-sel endotelial dari venulae mulai bermigrasi sebagai respon stimuli angiogenik. Tunas-tunas kapiler ini bercabang di ujungnya kemudian bersatu membentuk lengkung kapiler dimana darah kemudian mengalir. Tunas-tunas baru muncul dari lengkung kapiler membentuk pleksus kapiler. Faktor-faktor terlarut yang menyebabkan angiogenesis ini masih belum diketahui. Tampaknya proses ini terjadi dari kombinasi proliferasi dan migrasi. Mediator pertumbuhan sel endotelial ini dan kemotaksis termasuk sitokin yang dihasilkan trombosit, makrofag dan limfosit pada luka, tekanan oksigen yang rendah, asam laktat dan amin biogenik. Sitokin merupakan stimulan potensial untuk pembentukan formasi baru pembuluh darah termasuk *basic fibroblast growth faktor* (bFGF), *transforming growth factor  $\alpha \beta$*  (TGF  $\alpha \beta$ ) dan *epidermal growth factor* (EGF) (Ike, 2001).

Proses tersebut terjadi dalam luka, sementara itu pada permukaan luka juga terjadi restorasi integritas epitel. Reepitelisasi ini terjadi beberapa jam setelah luka. Sel epitel tumbuh dari tepi luka, bermigrasi ke jaringan ikat yang masih hidup. Epidermis segera mendekati tepi luka dan menebal dalam 24 jam setelah luka. Sel basal marginal pada tepi luka menjadi longgar ikatannya dari

dermis di dekatnya, membesar dan bermigrasi ke permukaan luka yang sudah mulai terisi matriks sebelumnya. Sel basal pada daerah dekat luka mengalami pembelahan yang cepat dan bermigrasi dengan pergerakan menyilang satu dengan yang lain sampai defek yang terjadi tertutup semua. Ketika sudah terbentuk jembatan, sel epitel yang bermigrasi berubah bentuk menjadi lebih kolumnar dan meningkat aktifitas mitotiknya. Proses reepitelisasi sempurna kurang dari 48 jam pada luka sayat yang tepinya saling berdekatan dan memerlukan waktu lebih panjang pada luka dengan defek lebar. Stimulator reepitelisasi ini belum diketahui secara lengkap. Faktor faktor yang diduga berperan adalah EGF, TGF $\beta$  , Bfgf, PDGF dan *insulin like growth factor* (IGF  $\lambda$ ) (Ike, 2001).

Fase remodeling berlangsung setelah matriks ekstrasel terbentuk dan dimulailah reorganisasi. Pada mulanya matriks ekstrasel kaya akan fibronektin. Hal ini tidak hanya menghasilkan migrasi sel substratum dan pertumbuhan sel ke dalam tetapi juga menyebabkan penumpukan kolagen oleh fibroblast. Terbentuk asam hialuronidase dan proteoglikan dengan berat molekul besar berperan dalam pembentukan matriks ekstraseluler dengan konsistensi seperti gel dan membantu infiltrasi seluler. Kolagen berkembang cepat menjadi faktor utama pembentuk matriks. Serabut kolagen pada permulaan terdistribusi acak membentuk persilangan dan beragregasi menjadi bundel-bundel fibril yang secara perlahan menyebabkan penyembuhan jaringan dan meningkatkan kekakuan dan kekuatan ketegangan. Sesudah 5 hari periode jeda, dimana saat ini bersesuaian dengan pembentukan jaringan granulasi awal dengan matriks sebagian besar tersusun dari fibronektin dan asam hialuronidase, terjadi peningkatan cepat dari kekuatan

tahanan luka karena fibrogenesis kolagen. Pencapaian kekuatan tegangan luka berjalan lambat. Sesudah 3 minggu kekuatan penyembuhan luka mencapai 20% dari kekuatan akhir. Bagaimanapun, kekuatan akhir penyembuhan luka tetap kurang dibanding dengan kulit yang tidak pernah terluka, dengan kekuatan tahanan maksimal jaringan parut hanya 70 % dari kulit utuh (Ike, 2001).

Vitamin C yang juga terkandung didalam kulit buah naga maupun lidah buaya dapat merangsang pertumbuhan sel-sel baru melalui reepitelisasi. Fungsi lain dari vitamin C yaitu dapat meningkatkan monosit dan makrofag ke daerah luka (Jeffcoate *et al.*, 2004). Makrofag berasal dari monosit yang berubah menjadi makrofag yang mempunyai salah satu fungsi yaitu dengan menghasilkan faktor pertumbuhan yang dibutuhkan untuk fibroplasia dan angiogenesis. Selain itu makrofag berperan dalam regenerasi dermis dan proliferasi epidermis. Vitamin C merupakan komponen penting yang diperlukan untuk proses hidroksilasi prolin dan lisin menjadi prokolagen, dimana bahan ini penting untuk sintesis kolagen. Selain berperan dalam sintesis kolagen, vitamin C juga berperan meningkatkan fungsi neutrofil dan angiogenesis (Jeffcoate *et al.*, 2004). Selain itu vitamin C akan menstimulasi proses regenerasi sel seperti merangsang reepitelisasi dan pembentukan jaringan baru.

## BAB 6 KESIMPULAN

### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Terapi ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 15% merupakan dosis yang terbaik dari kedua dosis lainnya yang dapat menurunkan ekspresi IL-1 $\beta$  dengan rata-rata 27,95% dan mendekati kelompok kontrol negatif.
2. Terapi ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 15% merupakan dosis yang terbaik dari kedua dosis lainnya yang dapat mempengaruhi ketebalan epidermis dengan rata-rata 32,21  $\mu$ m dan mendekati kelompok kontrol negatif.

### 6.2 Saran

Terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya perlu diaplikasikan pengobatan luka insisi pada *pet animal* atau hewan lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amirlak, B. 2015. Skin Anatomy. <http://emedicine.medscape.com/article/1294744-overview>. [08 mei 2017].
- Arend, W.P. 2002. The Balance Between IL-1 and IL-1 Ra In Disease. *Cytokine Grwth Factor Rev.*
- Atik, N. dan 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*). Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran Bandung.
- Baratawidjaja, K.G. 2006. Imunologi Dasar. ed.7.FK UI. Jakarta.
- Brannon. 2007. Skin Anatomy. <http://dermatology.about.com/cs/skinanatomy/a/anatomy.html>. [08 mei 2017]
- Butterfield, T.A., Thomas, M.B., dan Mark, A.M. 2006. *The Duel Roles of Neutrophils and Macrophages in Inflammation*. A Critical Balance Beetwen Tissue Damage and repair. *Journal of athletic Training* 41 (4):457-465.
- Cahyono, B. 2009. *Buku Terlengkap Sukses Bertanam Buah Naga*. Pustaka Mina. Jakarta.
- Celloti F and Laufer S. 2001. Inflammation, Healing and Repair Synopsis. *J. Phar. Res* 43 (5).
- Danu, M. dan D. Ishandono. 2012. Healing Process of Incision Wound. *Jurnal Plastik Rekontruksi*. Jakarta.
- Dharma. 1995. *Tanaman Obat Tradisional Indonesia*. Balai Pustaka. Jakarta.
- Estina. 2010. Jenis dan Ciri-Ciri Tikus Laboratorium Disertai Gambar. <https://dokterternak.wordpress.com/2010/11/05/jenis-dan-ciri-ciri-tikus-labolatorium-disertai-gamba/.html>. [07 Mei 2017].
- Fishman, T.D. 2010. Phases Of Wound Healing. Website: <http://www.medicaledu.com/phases.htm>. [25 desember 2017].
- George, W. 1994. *Wound healing*. Textbook of surgery. Vol IA. New York. Tokyo. Oxford University Press. 3 – 23.

- Gillian, S. 1999. Topical Estrogen Accelerates Cutaneous Wound Healing in Aged Humans Associated With Analtered Inflammatory Respon. *Am J Pathol.*155. 1137– 1146.
- Gurtner G. C, 2007. *Wound Healing, Normal and Abnormal: Grabb and Smith's Plastic Surgery 6<sup>th</sup> edition.* 15-22.
- Hariana, H. A. 2008. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya.* Penebar Swadaya. Jakarta.
- Haris, R. A. 2009. Efektivitas Penggunaan *Iodin 10%, Iodin 70%, Iodin 80%*, dan *NaCL* dalam Percepatan Proses Penyembuhan Luka pada Punggung Tikus Jantan *Sprague Dawley* [Skripsi]. Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Harrison C. A, M. J. Heaton, C. M. Layton, M. S. Neil. 2006. *Use of an In Vitro Model of Tissue-engineered Human Skin to Study Keratinocyte Attachment and Migration in The Process of Reepithelialization.* (14): 203–209.
- Hess, C.H. 2008. *Clinical Guide to Skin and Wound Care.* 6<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia.
- Ike S.M. 2001. Pengelolaan Nyeri Pasca Bedah.1<sup>st</sup> National Congress Indonesian Pain Society: 58 - 62
- Jaafar, R. Ali, M. Nazri, W. Kahairuddin. 2009. Proximate Analysis of Dragon Fruit (*Hylecereus polyhizus*). *American Journal of Applied Sciences.* 6 : 1341-1346.
- Jatnika A. dan Saptoningsih. 2009. *Meraup Laba dari Lidah Buaya.* Agro Media Pustaka. Jakarta. 1-26.
- Jeffcoate. 2008. Ekstraksi Antioksidan Dari Buah Naga : bandung.
- Johnson M. 2012. Laboratory Mice and Rats. *Mater Methods* 2:113. <http://www.labome.com/method/Laboratory-Mice-and-Rats.html>. [07 Mei 2017].
- Kalangi, S.J.R. 2013. Histofisiologi Kulit. *Jurnal Biomedik.* Manado.
- Krinke, G. J. 2000. *The Laboratory Rat.* San Diego, CA: Academic Press. Hal: 150-152
- Kristanto, D. 2008. *Buah Naga : Pembudidayaan di Pot dan di Kebun.* Penebar Swadaya. Jakarta.

- Kusriningrum. 2008. Dasar Perancangan Percobaan Rancangan Acak Lengkap. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Laila, D. L. 2016. Studi Ekspresi TGF- $\beta$  dan Ketebalan Epidermis Tikus Jantan Strain Wistas (*Rattus novvergicus*) pada Luka Insisi yang Diterapi Salep Ekstrak Kulit Buah Naga (*Hylicereus costaricensis*) [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Lorentz, H. P. and M. T. Longaker. 2006. *Wound Healing: Repair Biology and Wound and Scar Treatment*. Mathes, S. J. and Hentz, V. R., *Plasticsurgery Philadelphia: Saunders Elsevier*. 34-209.
- Mulyata, S. 2002. Analisis Imunohistokimia TGF  $\beta$  1, Indikasi Hambatan Kesembuhan Luka Operasi Episiotomi Pada Tikus *Sprague Dawley*. 1<sup>st</sup> Indonesian sSimposium on Obstetric Anaesthesia, Bandung.
- Naibaho, O. H., P. V. Y. Yamlean, W. Wiyono. 2013. Pengaruh Basis Salep Terhadap Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L.*) pada Kulit Punggung Kelinci yang Dibuat Infeksi *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2 (2).
- Nontji, W., S. Hariati, R. Arafat. 2015. Teknik Perawatan Luka Modern Dan Konvensional Terhadap Kadar Interleukin 1 Dan Interleukin 6 Pada Pasien Luka Diabetik. *Jurnal Ners*. Program Studi Ilmu Keperawatan. Fakultas Kedokteran. Universitas Hasanuddin. Makasar
- Panjuantiningrum. 2009. Ekstraksi dan Uji Kualitas Pigmen Antosianin pada kulit Buah Naga Merah (*Hyalocereus costaricensis*) [Skripsi]. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Fakultas Pertanian. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Pastar, I., Olivera, S., Natalie, C.Y., Horacio, R., Aron, G.N., Andrew, S., Shailee, B.P., Laiqua, K., Rivkah, R.I., and Marjana, T.C. 2014. Epithelialization in Wound Healing: A Comprehensive Review. *Advances in Wound Care*. 3(7):445-464.
- Perdanakusuma D.S. 2007. Anatomi Fisiologi Kulit dan Penyembuhan Luka. Fakultas Kedokteran. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Potter, P .A. and A.G. Perry. 2006. *Buku Ajar Fundamental Keperawatan: Konsep, Proses, dan Praktik*. Edisi 4. Volume 2. Alih Bahasa oleh Renata Komalasari, dkk. EGC. Jakarta.

- Rahayu, F., W.F.W. Ade, dan W. Rahayu. 2013. Pengaruh Pemberian Topikal Gel Lidah Buaya (*Aloe chinensis Baker*) Terhadap Reepitalisasi Epidermis Pada Luka Sayat Kulit Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Kedokteran Riau*.
- Richard, B. 2004. *Fibrocytes : Circulating Fibroblast that Mediate Tissue Repair*. [http : //www.etr.com](http://www.etr.com). [08 Mei 2017]
- Robert, H.D. 1997. *Aloe Vera: A Scientific Approach*. Vantage Press, Inc. New York.
- Sabiston, C. D. 1997. *Wound healing : Biologic and Clinical Features*. Textbook of Surgery The Biological Basis of Modern Surgical Practice, 15<sup>th</sup>. WB Saunders Comp. Philadelphia: 207 – 219.
- Saneta, B. 2005. Karakteristik Kulit Buah Naga merah. *Jurnal Agarika*. Vol 2 :143-149
- Schmitz N, Kurrer M, Bachmann MF, Kopf M. 2005. Interleukin-1 is responsible for acute lungimmunopathology but increases survival of respiratory influenza virus infection. *J Virol*. 79:6441-6448.
- 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.
- Schwartz S. I, G. T. Shires, F.C. Spencer. 2000. *Intisari Prinsip-Prinsip Ilmu Bedah*. Edisi 6. Chandranata L, editor. EGC. Jakarta
- Smith JB dan Mangkoewidjojo S. 1988. Tikus Laboratorium (*Rattus norvegicus*). Dalam: Pemeliharaan, Pembiakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). hal 37-57.
- Sjamsuhidajat, R., dan D. J. Wim. 2004. *Buku Ajar Ilmu Bedah Ed-2*. EGC. Jakarta.
- Suriadi. 2004. *Perawatan Luka Edisi 1*. CV. Sagung Seto. Jakarta.
- Titus, R. G., B. Sherry, A. Cerami. 2005. *The involvement of TNF, IL-1 and IL-6 in the immune response to protozoan parasites*. Parasitology. A13-A16.
- Velnar, T., T. Baily, V. Smrkolj. 2009. The wound Healing Process: an Overview of the Cellular and Molecular Mechanism. *The journal of International Medical Research* 37: 1528-1542.

Wijayakusuma, H. M. H. 2008. *Atasi Kanker dengan Tanaman Obat*. Puspa Swara. Jakarta.

Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius

Wu, L. C., Hsu, H. W., Chen, Y., Chiu, C. C., and Ho, Y. I., 2006. *Antioxidant and Antiproliferative Activities of Red Pitaya, Food Chemistry*. Volume 95 : 319-327.

