

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI SALEP EKSTRAK
KULIT BUAH NAGA (*Hylocereus polyrhizus*) DAN DAGING
LIDAH BUAYA (*Aloe vera*) TERHADAP EKSPRESI *Interleukin*
6 (IL-6) DAN JUMLAH SEL NEUTROFIL PADA
PROSES KESEMBUHAN LUKA INSISI
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Oleh :
ANANG MASRUR
135130101111038



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

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI SALEP EKSTRAK KULIT BUAH
NAGA (*Hylocereus polyrhizus*) DAN DAGING LIDAH BUAYA (*Aloe vera*)
TERHADAP EKSPRESI *Interleukin 6* (IL-6) DAN JUMLAH SEL
NEUTROFIL PADA PROSES KESEMBUHAN LUKA INSISI
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

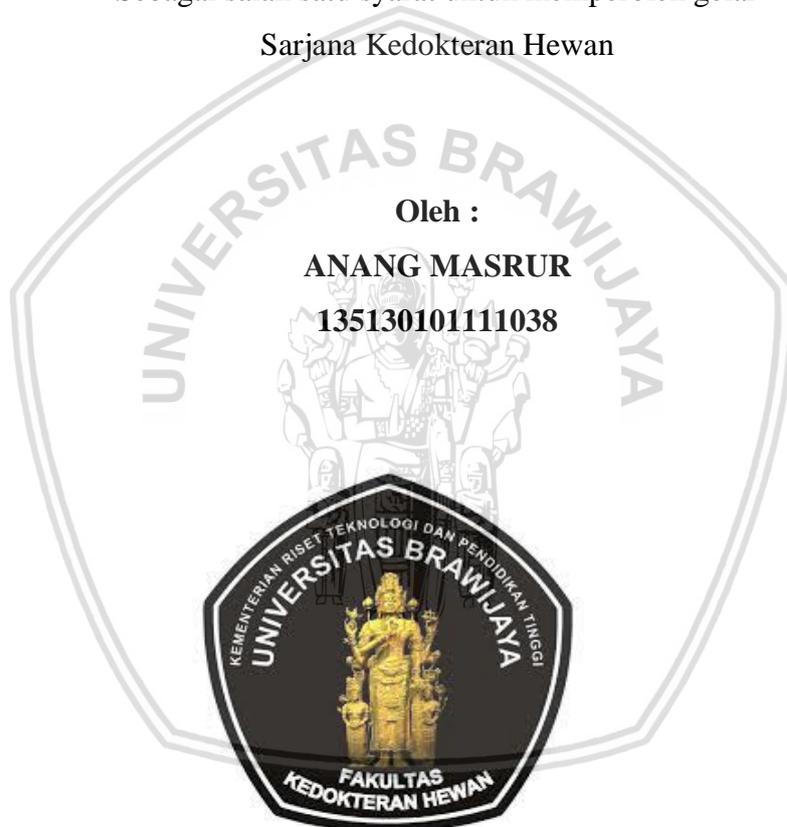
SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :

ANANG MASRUR

135130101111038



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

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI SALEP EKSTRAK KULIT BUAH
NAGA (*Hylocereus polyrhizus*) DAN DAGING LIDAH BUAYA (*Aloe vera*)
TERHADAP EKSPRESI *Interleukin 6* (IL-6) DAN JUMLAH SEL
NEUTROFIL PADA PROSES KESEMBUHAN LUKA INSISI
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

Malang, 05 Maret 2018

Oleh:

ANANG MASRUR

135130101111038

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 21 Februari 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES **drh. Analis Wisnu Wardhana, M.Biomed**
NIP. 196009031988022001 NIP. 19800904 200812 1 001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 196009031988022001



LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Anang Masrur

NIM : 135130101111038

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulisan Skripsi berjudul:

Pengaruh Pemberian Kombinasi Salep Ekstrak Kulit Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*) dan Daging Lidah Buaya (*Aloe vera*) Terhadap Ekspresi *Interleukin 6* (IL-6) dan Jumlah Sel Neutrofil pada Proses Kesembuhan 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 diisi 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, 05 Maret 2018
Yang menyatakan,

(Anang Masrur)
NIM. 135130101111038

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI SALEP EKSTRAK KULIT
BUAH NAGA (*Hylocereus polyrhizus*) DAN DAGING LIDAH BUAYA
(*Aloe vera*) TERHADAP EKSPRESI *Interleukin 6* (IL-6) DAN JUMLAH
SEL NEUTROFIL PADA PROSES KESEMBUHAN LUKA INSISI
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

ABSTRAK

luka adalah hilang atau rusaknya sebagian jaringan tubuh (diskontinuitas jaringan). 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. 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 (*Hylocereus polyrhizus*) dan daging lidah buaya (*Aloe vera*) terhadap ekspresi *Interleukin 6* (IL-6) dan jumlah sel neutrofil pada luka insisi tikus putih (*Rattus norvegicus*). Penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan menggunakan tikus jantan wistar dengan berat badan 150-250 g sebanyak 20 ekor yang dibagi lima kelompok perlakuan dengan jumlah ulangan 4 kali dalam setiap kelompok. Kelompok perlakuan meliputi kelompok kontrol negatif, kontrol positif, P1(salep konsentrasi 5%), P2 (salep konsentrasi 10%) P3 (salep konsentrasi 15%). Terapi dilakukan selama 10 hari pada luka insisi secara topikal. Pengamatan IL-6 (*Interleukin 6*) menggunakan metode Imunohistokimia (IHK), sedangkan jumlah sel neutrofil dilihat berdasarkan pewarnaan *Hematoxyline Eosin* (HE). Analisa data menggunakan analisis statistik ANOVA satu arah dan dilanjutkan uji Tukey $\alpha=0,05$. Hasil penelitian menunjukkan pemberian kombinasi salep ekstrak kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) dan daging lidah buaya (*Aloe vera*) secara topikal signifikan ($p<0,05$) menurunkan ekspresi *Interleukin 6* (IL-6) dan infiltrasi sel neutrofil. Kombinasi salep ekstrak kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) dan daging lidah buaya (*Aloe vera*) konsentrasi 15% merupakan dosis efektif untuk menurunkan ekspresi IL-6 dan jumlah sel neutrofil pada proses kesembuhan luka insisi, sehingga dapat digunakan sebagai terapi luka insisi yang terbaik.

Kata Kunci : Luka insisi, buah naga (*Hylocereus polyrhizus*), lidah buaya (*Aloe vera*), *Interleukin 6*, sel neutrofil.

The Therapy of Combination Ointment Extracts Skin Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*) and Aloe Vera (*Aloe vera*) Toward *Interleukin 6* (IL-6) Expression and Level Of Neutrophil Cells Of The Wound Healing Incision Process On Rats (*Rattus norvegicus*)

ABSTRACT

The wound is missing or damaged body tissues (tissue discontinuity). At the time of the wound, the body normally causes a response to injury by way of an inflammatory process 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 research was to investigate the therapy of combination of skin dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) and aloe vera extract toward *Interleukin 6* (IL-6) expression and level of neutrophil cells of the wound healing incision process on rats (*Rattus norvegicus*). Experimental research using Completely Randomized Design using wistar male rats (*Rattus norvegicus*) weighing of 150-250 grams as many as 20 treatments groups with 4 replications in each group. Treatment group include negative control group, positive control group, P1 (concentration ointment 5%), P2 (10% concentration ointment) P3 (concentration ointment 15 %). Therapy was performed for 10 days on topically incision wounds. The *Interleukin 6* (IL-6) observation used *Immunohistochemistry* (IHC) method, while the level of neutrophil cells determined using *Hematoxyline Eosin* (HE) staining. The data analysis used one-way ANOVA and Tukey test $\alpha = 0,05$. The result showed that therapy using combination of combination of ointment extract of skin dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) and aloe vera significantly ($p < 0.05$) decrease *Interleukin 6* (IL-6) expression and infiltration level of neutrophil cells. Combination of ointment extract of the dragon fruit skin (*Hylocereus polyrhizus*) and aloe vera (*Aloe vera*) concentration of 15% is an effective dose to decrease the expression of IL-6 and the level of neutrophil cells in the wound healing process an incision area and have possibility used as the best incision wound therapy.

Keywords: Wound incision, dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*), aloe vera (*Aloe vera*), interleukin 6, neutrophil cells.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang mengatur segala urusan manusia dan atas segala limpahan rahmat, taufik, serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan SKRIPSI ini yang berjudul **“Pengaruh Pemberian Kombinasi Salep Ekstrak Kulit Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*) dan Daging Lidah Buaya (*Aloe vera*) Terhadap Ekspresi *Interleukin 6 (IL-6)* dan Jumlah Sel Neutrofil pada Proses Kesembuhan Luka Insisi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)”**. Sholawat dan salam semoga tetap tercurah kepada Nabi Agung Muhammad SAW.

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

1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya selaku dosen pembimbing pertama yang telah banyak memberikan bimbingan, nasehat dan arahan kepada penulis.
2. drh. Analis Wisnu Wardhana, M.Biomed selaku dosen pembimbing kedua atas segala bantuan, kesempatan, nasehat, dan arahan yang diberikan tiada hentinya kepada penulis.
3. drh. Ajeng Aeka, M.Sc dan drh. Aldila Noviatry, M.Biomed selaku dosen penguji atas tanggapan dan saran yang diberikan.
4. Secara khusus penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Ibu Altantiyah tercinta dan Bapak Damin yang penulis banggakan yang telah banyak memberikan dukungan, do'a dan pengorbanan baik secara moril maupun materil sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik.

5. Sahabat dalam penelitian Novi, Haris, Zulfika, dan Ganes, serta Team B-Tis Minor yang melaksanakan penelitian, terimakasih atas segala dukungan, semangat dan motivasi.
6. 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.
7. Sahabat Eki Bahtiar, Abdul Haris Anafi dan Dhedy Nur Hasan, M.Pd,i yang telah memberikan banyak dorongan semangat.
8. 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, 05 Maret 2018

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Batasan Masalah.....	5
1.4 Tujuan Masalah	5
1.5 Manfaat Penelitian	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Luka Insisi	7
2.2 Kulit	9
2.2.1 Epidermis.....	10
2.2.2 Dermis	12
2.2.3 Subkutis	12
2.3 Neutrofil	13
2.4 Sitokin <i>Interleukin 6 (IL-6)</i>	15
2.5 Proses Penyembuhan Luka	15
2.5.1 Fase Inflamasi	16
2.5.2 Fase Proliferasi	17
2.5.3 Fase <i>Remodelling</i> Jaringan.....	18
2.6 Buah Naga Merah (<i>Hylocereus polyrhizus</i>)	19
2.7 Lidah Buaya (<i>Aloe vera</i>).....	23
2.8 Definisi Salep	24
2.9 Hewan Coba Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	25
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konsep	27
3.2 Hipotesis Penelitian	31
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN	
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	32
4.2 Alat dan Bahan	32
4.3 Rancangan Penelitian.....	34
4.4 Variabel Penelitian	36
4.5 Tahapan Penelitian	36
4.6 Prosedur Kerja.....	37

4.6.1	Persiapan Hewan Coba.....	37
4.6.2	Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Naga dan Lidah Buaya....	37
4.6.3	Pembuatan Salep Kombinasi Ekstrak Kulit Buah Naga dan Lidah Buaya.....	39
4.6.4	Perlakuan Luka Insisi Dengan Panjang 2 cm pada Daerah Punggung	39
4.6.5	Terapi Salep Kombinasi Kulit Buah Naga dan Lidah Buaya dengan Konsentrasi 5%, 10%, 15%	40
4.6.6	Euthanasi dan Pengambilan Kulit	40
4.6.7	Pembuatan Preparat Kulit	41
4.6.8	Pengamatan Sel Neutrofil di Jaringan Kulit Tikus <i>Wistar</i> (<i>Rattus Norvegicus</i>).....	42
4.6.9	Ekspresi <i>Interleukin 6</i> (IL-6) dengan Imunohistokimia (IHK)	43
4.6.10	Pengamatan Histopatologi.....	44
4.6.11	Analisa Data.....	45
BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN		
5.1	Gambaran Makroskopis Kesembuhan Luka Insisi.....	46
5.2	Pengaruh Kombinasi Ekstrak Kulit Buah Naga dan Daging Lidah Buaya Terhadap Ekspresi <i>Interleukin 6</i> (IL-6) Pada Kulit Tikus Pasca Insisi.....	49
5.3	Pengaruh Kombinasi Ekstrak Kulit Buah Naga dan Daging Lidah Buaya Terhadap Ekspresi Jumlah Neutrofil Pada Kulit Tikus Pasca Insisi.....	56
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN		
6.1	Kesimpulan	67
6.2	Saran	67
DAFTAR PUSTAKA		
LAMPIRAN		
		73

DAFTAR GAMBAR

2.2.1	Struktur Kulit.....	10
2.3.1	Sel Neutrofil.....	14
2.6.1	Buah Naga Merah (<i>Hylocereus polyzhiurus</i>).....	21
2.7.1	Lidah Buaya (<i>Aloe vera</i>).....	24
2.8.1	Tikus Putih (<i>Rattus novergicus</i>).....	27
4.6.8.1	Sel Neutrofil.....	42
5.1	Makroskopis Kesembuhan Luka pada Hari 10.....	46
5.2	Hasil Pewarnaan Imunohistokimia pada Preparat Kulit dengan Perbesaran 400x.....	50
5.3	Hasil Pewarnaan <i>Hematoxyline Eosin</i> (HE) pada Preparat Kulit dengan Perbesaran 400x.....	58



DAFTAR TABEL

2.6.1	Kandungan Gizi Buah Naga Super Merah.....	21
4.3.1	Rancangan Penelitian.....	35
5.2	Pengaruh Terapi Kombinasi Salep Ekstrak Kulit Buah Naga dan Daging Lidah Buaya Terhadap Ekspresi <i>Interleukin 6</i> (IL-6) pada Kulit Tikus Pasca Luka Insisi.....	53
5.3	Pengaruh Terapi Kombinasi Salep Ekstrak Kulit Buah Naga dan Daging Lidah Buaya Terhadap Jumlah Neutrofil pada Kulit Tikus Pasca Luka Insisi.....	61



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka merupakan hal yang sering terjadi dan dapat mengenai pada semua orang maupun hewan di seluruh dunia, luka adalah hilang atau rusaknya sebagian jaringan tubuh (diskontinuitas jaringan). Menurut Angel (2014), luka didefinisikan sebagai diskontinuitas dari suatu jaringan atau keadaan hilang atau rusaknya sebagian dari jaringan tubuh. Kerusakan ini dapat disebabkan oleh trauma benda tajam dan benda tumpul, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik atau gigitan serangga. Luka biasanya banyak terjadi pada daerah kulit. Fungsi kulit sebagai proteksi dan keberadaannya dipermukaan tubuh menyebabkan kulit rentan terhadap trauma dan terjadinya luka.

Luka berdasarkan sifat kejadian dibagi menjadi dua, yaitu luka terbuka dan luka tertutup. Luka terbuka merupakan luka dimana kulit atau selaput jaringan rusak, kerusakan terjadi karena kesengajaan (operasi) maupun ketidaksengajaan (kecelakaan). Sedangkan luka tertutup merupakan luka dimana jaringan yang ada pada permukaan tidak rusak (kesleo, terkilir, patah tulang). Salah satu luka terbuka yang dapat mengalami infeksi adalah luka insisi. Luka insisi biasanya terjadi karena teriris oleh instrumen yang tajam, misalnya akibat pembedahan (Tim Pelaksana Skills Lab, 2013).

Proses perbaikan terjadi segera setelah adanya luka dengan mengeluarkan berbagai *growth factor*, cytokine dan molekul dari serum pembuluh darah yang cedera dan degranulasi platelet. Cytokine pada fase inflamasi terdiri dari

Interleukin 1 (IL-1), Interleukin 6 (IL-6) dan TNF α , Leukosit polimorfonukleus dan makrofag merupakan sumber utama dari cytokines tersebut (Nontji, 2015). Interleukin 6 mengatur proses inflamasi selama perbaikan jaringan dalam respon kekebalan serta metabolisme (Hewajuli, 2016). Dalam imunitas nonspesifik, *Interleukin 6* (IL-6) merangsang hepatosit untuk memproduksi *Acute Phase Protein* (APP) dan bersama *Cerebrospinal Fluid* (CSF) merangsang progenitor di sumsum tulang untuk memproduksi neutrofil. Sedangkan pada imunitas spesifik, *Interleukin 6* (IL-6) merangsang pertumbuhan dan diferensiasi sel B menjadi sel mast yang memproduksi antibodi (Baratawidjaja dan Rengganis, 2013).

Neutrofil merupakan fagosit PMN (polimorfonuklear) atau polimorf atau granulosit. Fungsi utama neutrofil adalah fagositosis (Baratawidjaja dan Rengganis, 2013). Jumlah neutrofil 62% dari jumlah leukosit (Saputri, 2010). Oleh karena itu neutrofil memiliki peran besar dalam menjalankan tugasnya. Pada kondisi terjadi luka, sel-sel radang neutrofil utamanya akan bertambah yang menunjukkan adanya proses radang. Salah satu tanda terpenting dari radang akut ialah terjadinya emigrasi sel-sel radang yang berasal dari darah. Proses tersebut berlangsung secara cepat (menit-hari) dengan ciri khas utama eksudasi cairan dan akumulasi neutrofil (Wijaya dkk, 2015).

Povidon iodine 10% umumnya dapat digunakan untuk mengobati luka karena mempunyai fungsi sebagai antiseptik, selain itu juga bisa digunakan sebagai antibakteri. Akan tetapi penggunaan povidon iodine 10% ini memiliki kelemahan diantaranya resisten bakteri, hipersensitivitas, harga yang relatif

mahal, dalam penggunaan yang berlebihan dapat menghambat proses granulasi luka (Amiruddin, 2015).

Indonesia sebagai negara megabiodiversitas banyak sumber tanaman yang bisa digunakan untuk mengobati luka berdasarkan kandungan bioaktivitasnya. Salah satu alternatif yang dapat dimanfaatkan adalah dengan cara pembuatan kombinasi salep yang berbahan dari kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*), kedua jenis tumbuhan ini dapat ditemukan di lingkungan sekitar rumah dan banyak dijual di pasar-pasar tradisional maupun pasar-pasar modern. Sehingga sangat mudah di dapatkan.

Kulit buah naga mengandung vitamin C, E, A, dan antioksidan berupa flavonoid yang dapat membantu dalam proses penyembuhan luka. Aktivitas antioksidan pada kulit buah naga lebih besar dibandingkan aktivitas antioksidan pada daging buahnya, sehingga berpotensi untuk dikembangkan menjadi sumber antioksidan alami (Putri, 2015). Sedangkan menurut Maulana (2016), kulit buah naga terdapat kandungan pentacyclic triterpene taraxast 20 ene 3 α ol dan taraxast 12,20(30) dien 3 α ol yang berperan menjaga dan melindungi kelenturan pembuluh darah, sehingga mengurangi resiko pecahnya pembuluh darah.

Lidah buaya (*Aloe vera*) biasa digunakan sebagai penyembuhan luka, dan perawatan kulit (Natsir, 2013). Menurut Aswarita (2013), dalam getah daun lidah buaya mengandung pencahar zat antimikroba, memiliki efek analgesik serta antiinflamasi. Menurut Hapsari (2014), lidah buaya mengandung vitamin C yang berfungsi sebagai antioksidan alami yang mampu mencegah maupun memperbaiki kerusakan yang terjadi akibat serangan radikal bebas.

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi salep buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) terhadap kesembuhan luka insisi hewan model tikus putih (*Rattus norvegicus*) di lihat berdasarkan dari ekspresi *Interleukin 6* (IL-6) dan jumlah sel neutrofil.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah yang didapat adalah :

1. Apakah pemberian kombinasi salep buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan daging lidah buaya (*Aloe vera*) dapat mempengaruhi ekspresi *Interleukin 6* (IL-6) sebagai penyembuhan luka insisi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*)?
2. Apakah pemberian kombinasi salep buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan daging lidah buaya (*Aloe vera*.) dapat mempengaruhi jumlah sel neutrofil sebagai penyembuhan luka insisi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*)?

1.3 Batasan Masalah

Untuk menghindari meluasnya permasalahan dalam penelitian ini, maka perlu diberikan batasan-batasan penelitian agar tidak menyimpang dari rumusan masalah. Adapun batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Objek penelitian yang digunakan adalah sekelompok tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang berumur lebih dari 75-90 hari dengan berat tubuh sekitar 150-250 g. Penggunaan hewan coba telah mendapat persetujuan laik etik dari KEP UB No: 812-KEP-UB.
2. Luka insisi dibuat dengan menginsisi pada daerah punggung sepanjang 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 berbeda 5%, 10% dan 15% sebanyak satu kali sehari selama 10 hari pasca perlakuan.
4. Variable yang diamati dalam penelitian ini adalah ekspresi *Interleukin 6* (IL-6) dan jumlah sel neutrofil pada luka insisi. Pengamatan ekspresi IL-6 menggunakan metode Imunohistokimia (IHK) dan pengamatan jumlah sel neutrofil menggunakan pewarnaan *Hematoksilin Eosin* (HE).

1.4 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh pemberian salep kombinasi kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan daging lidah buaya (*Aloe vera*) terhadap

ekspresi *Interleukin 6* (IL-6) pada proses kesembuhan luka insisi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

2. Mengetahui pengaruh pemberian salep kombinasi kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan daging lidah buaya (*Aloe vera*) terhadap jumlah sel neutrofil pada proses kesembuhan luka insisi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diharapkan penulis dari penelitian ini dapat memberikan manfaat kepada pembaca tentang pemanfaatan kombinasi salep kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan daging lidah buaya (*Aloe vera*) terhadap ekspresi *Interleukin 6* (IL-6) dan jumlah sel neutrofil pada proses kesembuhan luka insisi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Luka Insisi

Luka merupakan hal yang sering terjadi dan dapat mengenai pada semua orang maupun hewan di seluruh dunia. Luka adalah hilang atau rusaknya sebagian jaringan tubuh (diskontinuitas jaringan). Luka didefinisikan sebagai diskontinuitas dari suatu jaringan atau keadaan hilang atau rusaknya sebagian dari jaringan tubuh. Kerusakan ini dapat disebabkan oleh trauma benda tajam dan benda tumpul, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik atau gigitan serangga. Luka biasanya banyak terjadi pada daerah kulit. Fungsi kulit sebagai proteksi dan keberadaannya dipermukaan tubuh menyebabkan kulit rentan terhadap trauma dan terjadinya luka (Angel, 2014). Luka berdasarkan sifat kejadian dibagi menjadi dua, yaitu luka terbuka dan luka tertutup. Luka terbuka merupakan luka dimana kulit atau selaput jaringan rusak, kerusakan terjadi karena kesengajaan (operasi) maupun ketidaksengajaan (kecelakaan). Sedangkan luka tertutup merupakan luka dimana jaringan yang ada pada permukaan tidak rusak (kesleo, terkilir, patah tulang). Salah satu luka terbuka yang dapat mengalami infeksi adalah luka insisi. Luka insisi biasanya terjadi karena teriris oleh instrumen yang tajam, misalnya akibat pembedahan (Tim Pelaksana Skills Lab, 2013). Berdasarkan mekanisme terjadinya, luka dapat dibagi menjadi 7 macam yaitu (Baroroh, 2011) :

- a. Luka insisi (*Incised Wound*): terjadi karena teriris oleh instrumen yang tajam. Misalnya akibat pembedahan.

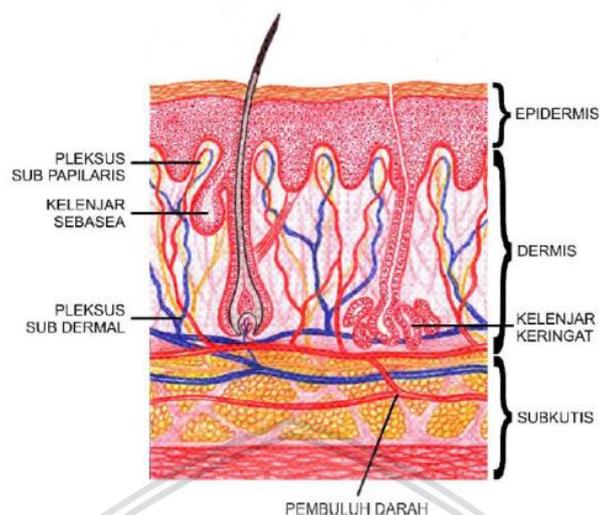
- b. Luka memar (*Contusion Wound*): terjadi akibat benturan oleh suatu tekanan dan dikarakteristikan oleh cedera pada jaringan lunak, perdarahan, dan bengkak.
- c. Luka lecet (*Abraded Wound*): terjadi akibat kulit bergesekan dengan benda lain yang biasanya dengan benda yang tidak tajam.
- d. Luka tusuk (*Puncture Wound*): terjadi akibat adanya benda, seperti peluru atau pisau yang masuk ke dalam kulit dengan diameter yang kecil.
- e. Luka gores (*Lacerated Wound*): terjadi akibat benda tumpul seperti oleh kaca atau kawat.
- f. Luka tembus (*Penetrating Wound*): luka yang menembus organ tubuh, biasanya pada bagian awal luka masuk diameternya kecil tetapi bagian ujung biasanya lukanya akan melebar.
- g. Luka bakar (*Combustio*)
- h. Luka tekan (*Decubitus*): luka yang terjadi karena proses tertekan yang lama di area tertentu bagian tubuh. Tekanan tersebut menyebabkan gangguan sirkulasi, memperberat nekrosis, timbulnya lecet kemerahan.

Luka terbuka merupakan suatu keadaan rusaknya sebagian jaringan tubuh dari kondisi normal yang disebabkan oleh trauma benda tajam atau tumpul, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik, atau gigitan hewan. Salah satu contoh luka terbuka adalah luka insisi yaitu adanya robekan linier pada kulit dan jaringan di bawahnya karena teriris oleh instrumen tajam, misalnya yang terjadi akibat pembedahan (Fatimatuzzahroh, 2015).

2.2 Kulit

Kulit merupakan organ yang berfungsi sangat penting bagi tubuh diantaranya adalah memungkinkan bertahan dalam berbagai kondisi lingkungan, sebagai barier infeksi, mengontrol suhu tubuh (termoregulasi), sensasi, ekskresi dan metabolisme. Kulit adalah suatu organ pembungkus seluruh permukaan luar tubuh, merupakan organ terberat dan terbesar dari tubuh. Seluruh kulit beratnya sekitar 16 % berat tubuh, pada orang dewasa sekitar 2,7 – 3,6 kg dan luasnya sekitar 1,5 – 1,9 meter persegi. Tebalnya kulit bervariasi mulai 0,5 mm sampai 6 mm tergantung dari letak, umur dan jenis kelamin.

Kulit tipis terletak pada kelopak mata, penis, labium minus dan kulit bagian medial lengan atas. Sedangkan kulit tebal terdapat pada telapak tangan, telapak kaki, punggung, bahu dan bokong. Secara embriologis kulit berasal dari dua lapis yang berbeda, lapisan luar adalah epidermis yang merupakan lapisan epitel berasal dari ectoderm sedangkan lapisan dalam yang berasal dari mesoderm adalah dermis atau korium yang merupakan suatu lapisan jaringan ikat (Perdanakusuma, 2007). Pendapat tersebut sama dengan pendapat Kalangi (2013), yang menyebutkan bahwa kulit terdiri atas 2 lapisan utama yaitu epidermis dan dermis. Epidermis merupakan jaringan epitel yang berasal dari ektoderm, sedangkan dermis berupa jaringan ikat agak padat yang berasal dari mesoderm, dibawah dermis terdapat selapis jaringan ikat longgar yaitu hipodermis, yang pada beberapa tempat terutama terdiri dari jaringan lemak.



Gambar 2.2.1 Struktur Kulit (Sumber: Perdanakusuma, 2007).

2.2.1 Epidermis

Epidermis adalah lapisan luar kulit yang tipis dan avaskuler. Terdiri dari epitel berlapis gepeng bertanduk, mengandung sel melanosit, Langerhans dan merkel. Tebal epidermis berbeda-beda pada berbagai tempat di tubuh, paling tebal pada telapak tangan dan kaki. Ketebalan epidermis hanya sekitar 5 % dari seluruh ketebalan kulit. Terjadi regenerasi setiap 4-6 minggu. Epidermis terdiri atas lima lapisan (dari lapisan yang paling atas sampai yang terdalam):

1. Stratum Korneum

Terdiri dari sel keratinosit yang bisa mengelupas dan berganti.

2. Stratum Lusidum

Berupa garis translusen, biasanya terdapat pada kulit tebal telapak kaki dan telapak tangan. Tidak tampak pada kulit tipis.

3. Stratum Granulosum

Ditandai oleh 3-5 lapis sel polygonal gepeng yang intinya ditengah dan sitoplasma terisi oleh granula basofilik kasar yang dinamakan granula keratohialin yang mengandung protein kaya akan histidin. Terdapat sel Langerhans.

4. Stratum Spinosum

Terdapat berkas-berkas filament yang dinamakan tonofibril, dianggap filamenfilamen 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 Malpighi. Terdapat sel Langerhans.

5. 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. Merupakan satu lapis sel yang mengandung melanosit (Perdanakusuma, 2007).

Fungsi Epidermis meliputi untuk proteksi barrier, organisasi sel, sintesis vitamin D dan sitokin, pembelahan dan mobilisasi sel, pigmentasi (melanosit) dan pengenalan alergen (sel Langerhans) (Perdanakusuma, 2007).

2.2.2 Dermis

Merupakan bagian yang paling penting di kulit yang sering dianggap sebagai “True Skin”. Terdiri atas jaringan ikat yang menyokong epidermis dan menghubungkannya dengan jaringan subkutis. Tebalnya bervariasi, yang paling tebal pada telapak kaki sekitar 3 mm. Dermis mempunyai banyak jaringan pembuluh darah. Dermis juga mengandung beberapa derivat epidermis yaitu folikel rambut, kelenjar sebacea dan kelenjar keringat. Kualitas kulit tergantung banyak tidaknya derivat epidermis di dalam dermis. Fungsi dermis meliputi struktur penunjang, mechanical strength, suplai nutrisi, menahan shearing forces dan respon inflamasi. Dermis terdiri dari dua lapisan yang terdiri dari lapisan papiler: tipis mengandung jaringan ikat longgar dan lapisan retikuler: tebal terdiri dari jaringan ikat padat (Perdanakusuma, 2007). Menurut Kalangi (2013), Jumlah sel dalam dermis relatif sedikit. Sel-sel dermis merupakan sel-sel jaringan ikat seperti fibroblas, sel lemak, sedikit makrofag dan sel mast.

2.2.3 Subkutis

Subkutis merupakan lapisan di bawah dermis atau hipodermis yang terdiri dari lapisan lemak. Lapisan ini terdapat jaringan ikat yang menghubungkan kulit secara longgar dengan jaringan di bawahnya. Jumlah dan ukurannya berbeda-beda menurut daerah di tubuh dan keadaan nutrisi individu. Berfungsi menunjang suplai darah ke dermis untuk regenerasi. Fungsi Subkutis / hipodermis yaitu melekat ke struktur dasar, isolasi panas, cadangan kalori, kontrol bentuk tubuh dan mechanical shock absorber (Perdanakusuma, 2007).

2.3 Neutrofil

Neutrofil disebut "*Soldiers of the Body*" karena merupakan sel pertama yang dikerahkan ke tempat bakteri masuk dan berkembang dalam tubuh, sehingga fungsi utama neutrofil adalah untuk fagositosis. Neutrofil merupakan sebagian besar dari leukosit dalam sirkulasi. Biasanya hanya berada dalam sirkulasi kurang dari 7-10 jam sebelum bermigrasi ke jaringan, dan hidup selama beberapa hari dalam jaringan. Neutrofil yang bermigrasi pertama dari sirkulasi ke jaringan terinfeksi dengan cepat. Neutrofil dapat mengenal patogen secara langsung. Ikatan dengan patogen dan fagositosis dapat meningkat bila antibodi atau komplemen yang berfungsi sebagai opsonin diikatnya (Baratawidjaja dan Rengganis, 2013).

Neutrofil merupakan sel darah putih yang mengandung inti, dilihat dalam mikroskop cahaya sel darah putih mempunyai granula spesifik (granulosit), yang dalam keadaan hidup berupa tetesan setengah cair, dalam sitoplasmanya dan mempunyai bentuk inti yang bervariasi, sitoplasmanya homogen dengan inti bentuk bulat atau bentuk ginjal. Persentase normal dari sel darah putih yaitu neutrofil polimorfonuklear 62%, eosinofil polimorfonuklear 2,3%, basofil polimorfonuklear 0,4%, monosit 5,3%, dan limfosit 30%. Neutrofil memiliki granula yang tidak berwarna, mempunyai inti sel yang terangkai, kadang seperti terpisah-pisah, serta banyaknya sekitar 60 -70 % (Saputri, 2010).



Gambar 2.3.1 Gambar Sel Neutrofil (Sumber: Saputri, 2010).

Neutrofil merupakan leukosit darah perifer yang paling banyak. Sel ini memiliki masa hidup singkat, sekitar 10 jam dalam sirkulasi. Sekitar 50% neutrofil dalam darah perifer menempel pada dinding pembuluh darah. Neutrofil memasuki jaringan dengan cara bermigrasi sebagai respon terhadap kemotaktik. Neutrofil yang cacat dapat dilihat dari jumlah maupun bentuknya. Bentuk maupun jumlahnya berpotensi untuk menjelaskan tingkat (Saputri, 2010). Menurut Fahrimal (2014), jumlah leukosit normal berkisar antara $5,10^3$ - $25,10^3$ sel/ μ l.

Sel neutrofil merupakan sel-sel radang (PMN), dalam keadaan normal tanpa adanya luka ditemukan pada bagian dermis kulit. Ketika terjadi luka, sel-sel radang akan bertambah yang menunjukkan adanya proses radang. Salah satu tanda terpenting dari radang akut ialah terjadinya emigrasi sel-sel radang yang berasal dari darah. Proses tersebut berlangsung secara cepat (menit-hari) dengan ciri khas utama eksudasi cairan dan akumulasi neutrofil (Wijaya dkk, 2015).

2.4 Sitokin *Interleukin 6* (IL-6)

Sitokin IL-6 merupakan sitokin pro inflamasi yang diproduksi fagosit mononuklear, sel endotel vaskular, fibroblas, dan sel lain sebagai respons terhadap mikroba dan sitokin lain. Dalam imunitas nonspesifik, IL-6 merangsang hepatosit untuk memproduksi APP (*Acute Phase Protein*) dan bersama CSF (*Cerebrospinal Fluid*) merangsang progenitor di sumsum tulang untuk memproduksi neutrofil. Dalam imunitas spesifik, IL-6 merangsang pertumbuhan dan diferensiasi sel B menjadi sel mast yang memproduksi antibodi (Baratawidjaja dan Rengganis, 2013). Interleukin 6 mengatur proses inflamasi selama perbaikan jaringan dalam respon kekebalan serta metabolisme. Interleukin ini mempromosikan diferensiasi sel B menjadi sel plasma, mengaktifasi sel T sitotoksik serta mengatur homeostasis, merupakan *endogenous pyrogen* yang menstimulasi demam dan produksi protein pada fase akut. Sinyal yang ditimbulkan oleh IL-6 menyebabkan rekrutmen monosit ke daerah inflamasi (Hewajuli, 2016).

2.5 Proses Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka adalah proses yang kompleks dan dinamis dengan perubahan lingkungan luka dan status kesehatan individu. Fisiologi dari penyembuhan luka yang normal adalah melalui fase hemostasis, inflamasi, granulasi (proliferatif) dan maturasi. Proses perbaikan terjadi segera setelah adanya luka dengan mengeluarkan berbagai *growth factor*, sitokin dan molekul dari serum pembuluh darah yang cedera dan degranulasi platelet. Respons inflamasi menyebabkan pembuluh darah menjadi bocor mengeluarkan plasma dan

PMN's ke sekitar jaringan. Neutrofil memfagositosis sisa-sisa mikroorganisme dan merupakan pertahanan awal terhadap infeksi. Proses ini dibantu sel-sel mast lokal. Fibrin kemudian pecah sebagai bagian dari pembersihan ini. Untuk membangun kembali kompleksitas yang membutuhkan kontraktor. Sel yang berperan sebagai kontraktor pada penyembuhan luka ini adalah makrofag. Makrofag mampu memfagosit bakteri. Makrofag juga mensekresi kemotaktik yang bervariasi dan faktor pertumbuhan seperti faktor pertumbuhan fibroblas (FGF), faktor pertumbuhan epidermal (EGF), faktor pertumbuhan betatrasformasi (tgf) dan Interleukin-1 (IL-1) dan Interleukin-6 (IL-6). Proses perbaikan terjadi segera 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 α , Leukosit polimorfonukleus dan makrofag merupakan sumber utama dari sitokin tersebut (Nontji, 2015). Sedangkan menurut Triyono (2005), tahapan penyembuhan luka meliputi fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase *Remodelling* jaringan.

2.5.1 Fase Inflamasi

Proses inflamasi sangat erat berhubungan dengan penyembuhan luka. Fase inflamasi terjadi pada hari 0–5. Pada awal terjadinya luka, polimorfonuklear (PMN) adalah sel pertama yang menuju ke tempat terjadinya luka. Jumlahnya meningkat cepat dan fungsi utamanya adalah memfagositosis bakteri yang masuk. Pada penyembuhan luka normal tampaknya kehadiran sel-sel ini tidak begitu

penting, adanya sel ini menunjukkan bahwa luka terkontaminasi bakteri. 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. Sebaliknya dari PMN, makrofag penting keberadaannya pada penyembuhan luka normal.

Makrofag seperti halnya netrofil, memfagositosis dan mencerna organisme-organisme patologis dan sisa-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 (Triyono, 2005). Inflamasi bertujuan untuk menghancurkan mikroorganisme yang menginvasi tubuh serta menghilangkan aktivitas toksiknya dan mempersiapkan jaringan bagi kesembuhan.

2.5.2 Fase Proliferasi

Fase proliferasi yang kompleks meliputi angiogenesis, pembentukan jaringan granulasi, deposisi kolagen, epitelisasi dan retraksi luka yang terjadi secara bersamaan. Fase proliferasi menurut Triyono (2005), terjadi pada hari ke 3-14. Apabila tidak ada kontaminasi atau infeksi yang bermakna, fase inflamasi berlangsung pendek. Setelah luka berhasil dibersihkan dari jaringan mati dan sisa material yang tidak berguna, dimulailah fase proliferasi. Fase proliferasi ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi pada luka.

Setelah terjadi luka, fibroblas dirangsang untuk berkembang biak oleh faktor pertumbuhan yang dilepaskan oleh faktor pembekuan hemostatik dan kemudian bermigrasi ke luka. Pada hari ketiga, luka menjadi kaya akan fibroblas dan kemudian memproduksi kolagen dan fibronektin. Fibroblas 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. 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 (Triyono, 2005).

2.5.3 Fase *Remodelling Jaringan*

Fase ini berlangsung dari hari ke tujuh sampai dengan satu tahun. Segera setelah matrik ekstrasel terbentuk, 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 matrik ekstraseluler dengan konsistensi seperti gel dan membantu infiltrasi seluler. Kolagen berkembang cepat menjadi faktor utama pembentuk matrik. 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 lima hari periode jeda, dimana saat ini bersesuaian dengan pembentukan jaringan granulasi awal dengan matrik 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 tiga 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 (Triyono, 2005).

2.6 Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*)

Daerah asal kaktus hutan yang buahnya berwarna merah dan bersisik ini adalah Meksiko, Amerika Tengah, dan Amerika Utara, di daerah asalnya tersebut buah naga atau *dragon fruit* ini dinamai pitahaya atau *pitaya roja*. Penduduk indian sering memanfaatkan buah yang berasa manis agak asam ini sebagai buah meja atau buah yang dikonsumsi segar. Buah naga memang berasal dari Amerika, namun tanaman ini lebih dikenal sebagai tanaman dari Asia. Hal ini disebabkan buah naga dikembangkan secara besar-besaran di Asia seperti Vietnam dan Thailand. Sebenarnya buah naga masuk ke daratan Asia, yaitu Vietnam, oleh orang Perancis sekitar tahun 1870 yang dibawa dari Guyana, Amerika Selatan. Buah naga di Indonesia mulai dikenal sekitar pertengahan tahun 2000, itu pun bukan hasil budi daya di negeri sendiri, tetapi hasil impor dari Thailand (Kristanto, 2008).

Hylocereus polyrhizus memiliki ciri buah berwarna merah muda dengan daging buah merah. Jenis yang ini paling banyak diminati dan ditanam secara besar-besaran di Indonesia. Selain karena rasanya lebih manis dan lebih berair, dari segi budidayanya juga tidak terlalu sulit bila dibandingkan dengan jenis yang lainnya (Syukur, 2015).



Gambar 2.6.1 Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) (Sumber: Syukur, 2015).

Buah naga termasuk dalam kelompok tanaman kaktus atau famili Cactaceae dan subfamili Hylocereanae dengan subfamili yang terdapat beberapa genus, sedangkan buah naga termasuk dalam genus *Hylocereus*. Adapun klasifikasi buah naga tersebut sebagai berikut Sigarlaki (2016) :

- Divisi : *Spermatohyta*
- Subdivisi : *Angiospermae*
- Kelas : *Dicotyledonae*
- Ordo : *Cactales*
- Famili : *Cactaceae*
- Subfamili : *Hylocereanae*
- Genus : *Hylocereus*

Species : - *Hylocereus polyrhizus* (daging merah)
 - *Hylocereus undatus* (daging putih)

Buah naga isi merah beratnya mencapai 350-550 g. Buah naga isi merah memiliki kandungan antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan jenis yang putih. Ada berbagai jenis antioksidan yang ada dalam buah naga salah satunya adalah antosianin. Kadar antosianin berkisar 8,8 mg/100gr buah naga. Antosianin adalah zat warna alami golongan flavonoid yang tersebar luas di alam. Senyawa antosianin memberikan warna merah, ungu dan biru pada beberapa bagian tanaman, misalnya kulit buah naga, mahkota bunga, dan akar. Buah naga merah dan putih memiliki potensi kapasitas antioksidan, akan tetapi antioksidan buah naga merah lebih tinggi dibandingkan buah naga putih karena adanya pigmen merah (antosianin) (Sigarlaki, 2016). Kandungan nilai gizi buah naga daging merah (*Hylocereus polyrhizus*) per 100 g disajikan pada tabel berikut (Jayanti, 2010) :

Tabel 2.6.1 Kandungan Nilai Gizi Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) (Jayanti, 2010).

Jenis	Jumlah (per 100 gram)
Air (gr)	82,5 – 83 %
Protein (gr)	0,16 – 0,23
Lemak (gr)	0,21 – 0,61
Serat (gr)	0,7 – 0,9
Betakaroten (mg)	0,005 – 0,012
Kalsium (mg)	6,3 – 8,8
Fosfor (mg)	30,2 – 36,1
Besi (mg)	0,55 – 0,65
Vitamin B1 (mg)	0,28 – 0,30
Vitamin B2 (mg)	0,043 – 0,045
Vitamin C (mg)	8 – 9
Niasin (mg)	1,297 – 1,300

Buah naga merupakan tumbuhan yang berasal dari daerah beriklim tropis kering. Pertumbuhan buah naga dipengaruhi oleh suhu, kelembaban udara, keadaan tanah dan curah hujan. Kulit buah naga mengandung vitamin C, vitamin E, vitamin A, alkaloid, terpenoid, flavonoid, tiamin, niasin, piridoksin, kobalamin, fenolik, karoten, dan fitoalbumin. 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 (Putri, 2015). Hal ini sependapat dengan Indriasai (2012), buah naga juga dilaporkan sebagai anti radikal bebas. Kandungan kulit buah naga terdiri dari vitamin C, A, E, dan flavonoid.

Sebagai antioksidan, flavonoid dapat menghambat penggumpalan keping-keping sel darah, merangsang produksi nitrit oksida yang dapat melebarkan (relaksasi) pembuluh darah. Selain itu buah naga dijadikan salah satu buah yang berkhasiat pada luka karena mengandung fitoalbumin yang kemampuan antioksidannya sangat tinggi. Antioksidan dari buah naga ini mampu mencegah pembentukan radikal bebas penyebab kanker (Ide, 2009). Vitamin C adalah nutrisi dan vitamin yang larut dalam air dan penting untuk kehidupan serta untuk menjaga kesehatan. Vitamin C dikenal dengan nama Asam askorbat. Vitamin C sangat penting untuk biosintesis kolagen (Zakaria, 2000).

2.7 Lidah Buaya (*Aloe vera*)

Lidah buaya merupakan tanaman asli Afrika, tepatnya Ethiopia. Lidah buaya (*Aloevera*), mempunyai beberapa kandungan Lignin, Saponin, anthraquarnonealoin, barbaloin, isobarbaloin, anthrax nol, aloemodin, anthracenesinamat, asam krisophanat, eteraloin resistanol. Sehingga lidah buaya (*Aloe vera*) digolongkan sebagai pengobatan seperti antibiotik, antiseptik dan antibakteri. Lidah buaya (*Aloe vera*) biasa digunakan sebagai penyembuhan luka, dan perawatan kulit (Natsir, 2013). Sedangkan menurut Aswarita (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. Selain itu daun lidah buaya juga mengandung campesterol, sitosterol dan lupeol. Senyawa ini berperan sebagai antiinflamasi dan antibakteri.

Lidah buaya memiliki rasa pahit dan bersifat dingin. Efek farmakologis lidah buaya diantaranya rasa anti-inflamasi, pencahar (*laxatic*), *parasiticide* (Hariana, 2008). Bagian yang bisa digunakan adalah daging daun lidah buaya (gel) (Wijayakusuma, 2008). Agen anti inflamasi dalam daun lidah buaya diantaranya asam salisilat, indometasin (yang dapat mengurangi edema, menghambat enzim siklooksigenase dan menghambat motilitas dari leukosit *poly morpho nuclear* (PMN) yang bila jumlahnya berlebihan dapat merusak jaringan) (Chindo, 2015).



Gambar 2.7.1 Lidah Buaya (*Aloe vera*) (Sumber: Wijayakusuma, 2008).

Menurut Hapsari (2014), lidah buaya mengandung vitamin C yang berfungsi sebagai antioksidan alami yang mampu mencegah maupun memperbaiki kerusakan yang terjadi akibat serangan radikal bebas. Terdapat juga vitamin E yang penting untuk regenerasi sel.

2.8 Definisi Salep

Salep merupakan sediaan semisolid berbahan dasar lemak ditujukan untuk kulit dan mukosa (Yanhendri, 2012). Menurut Syamsuni (2006), salep (*unguenta, unguentum, ointment*) adalah sediaan setengah padat yang mudah dioleskan dan digunakan sebagai obat luar. Bahan obat harus larut atau terdispersi secara homogen dalam dasar salep. Dasar salep yang baik, yaitu (a) stabil, tidak terpengaruh oleh suhu dan kelembaban, dan harus bebas dari inkompatibilitas selama pemakaian, (b) lunak, harus halus, dan homogen, (c) mudah dipakai, (d) dasar salep yang cocok, (e) dapat terdistribusi secara merata.

Salep dipilih sebagai bentuk sediaan karena stabilitasnya baik, berupa sediaan halus, mudah digunakan, mampu menjaga kelembapan kulit, tidak mengiritasi kulit dan mempunyai tampilan yang lebih menarik. Salep terdiri dari bahan obat yang terlarut ataupun terdispersi di dalam basis atau basis salep sebagai pembawa zat aktif (Naibaho, 2013).

2.9 Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Salah satu hewan coba yang banyak digunakan dalam penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*). Tikus putih baik digunakan dalam penelitian karena mudah dipelihara, mudah berkembang biak sehingga cepat mendapatkan hewan coba yang seragam dan mudah dikelola di laboratorium (Berata, 2010). Hewan laboratorium atau hewan percobaan adalah hewan yang sengaja dipelihara dan diternakkan untuk dipakai sebagai hewan model guna mempelajari dan mengembangkan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pangamatan laboratorik. Penggunaan tikus sebagai hewan percobaan juga didasarkan atas pertimbangan ekonomis dan kemampuan hidup tikus hanya 2-3 tahun. Menurut Fitria (2014), rodentia seperti tikus (*Rattus norvegicus*) sering dijadikan hewan model karena memilikisistem faal yang mirip dengan manusia. Tikus Wistar adalah salah satu hewan coba yang paling banyak digunakan sebagai model dalam penelitian biomedik. Adapun klasifikasi Tikus putih (*Rattus norvegicus*) menurut Maula (2014), adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Animalia*

Phylum : *Chordata*

Subphylum	: <i>Vertebrata</i>
Class	: <i>Mammalia</i>
Order	: <i>Rodentia</i>
Family	: <i>Muridae</i>
Genus	: <i>Rattus</i>
Species	: <i>Novergicus</i>

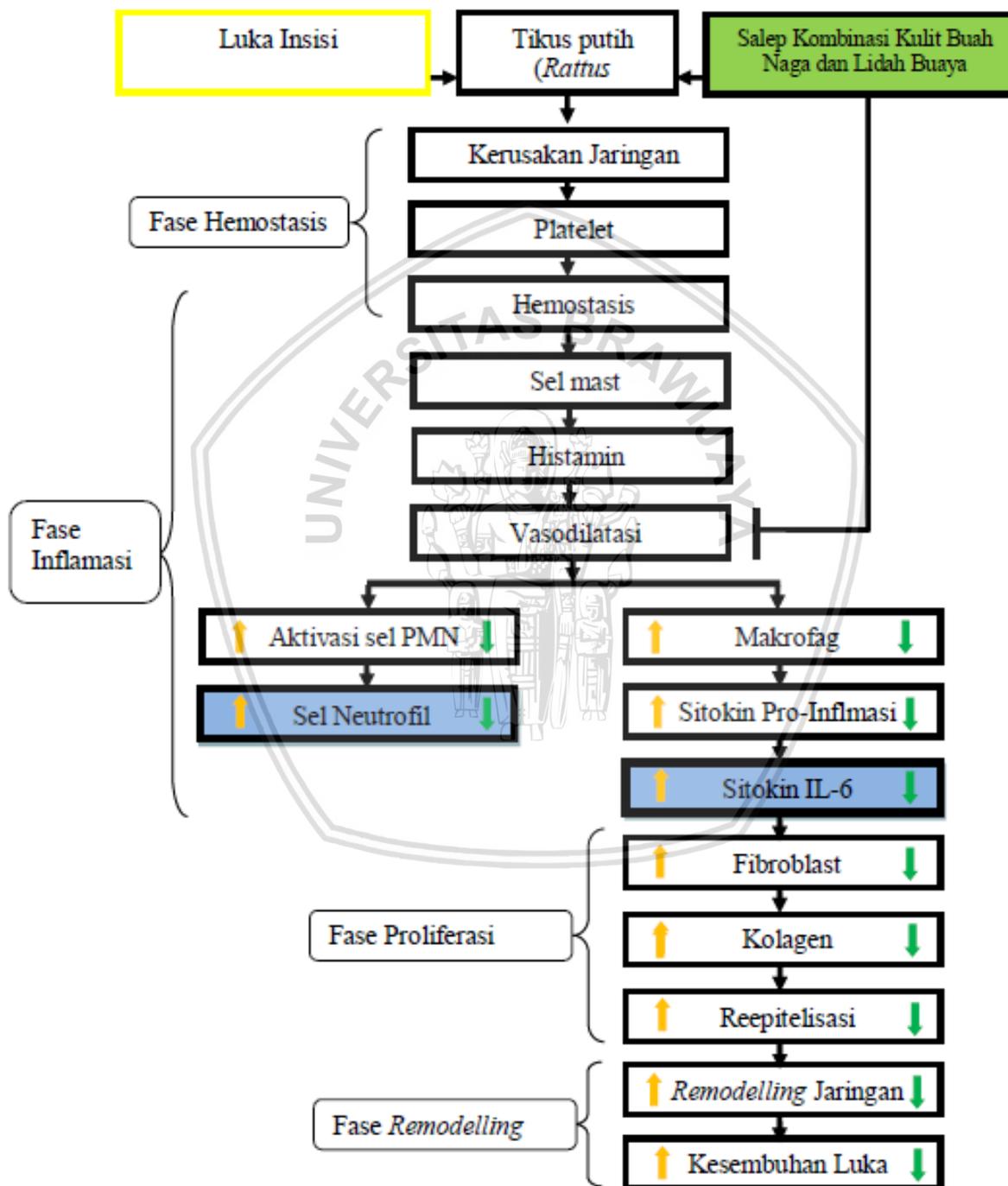


Gambar 2.8.1 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar* (Sumber: Estina, 2010).

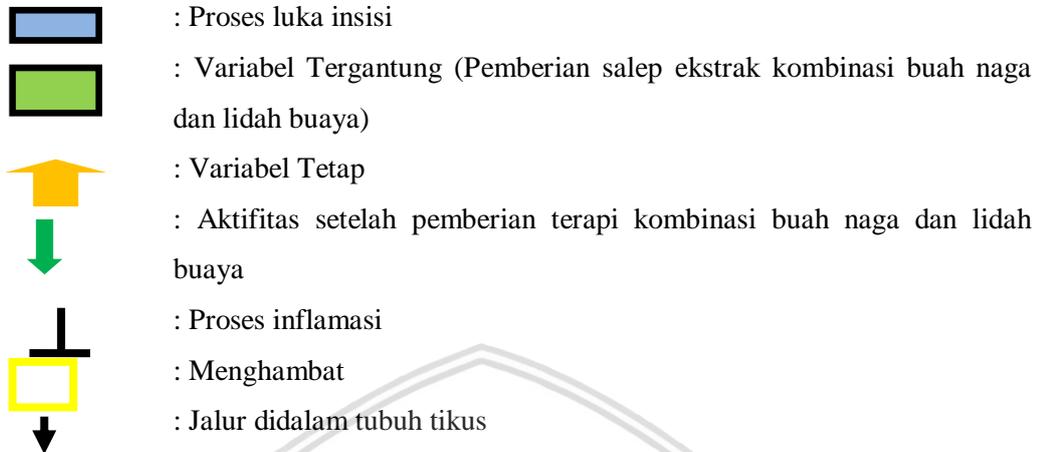
Keunggulan tikus putih dibandingkan tikus liar antara lain lebih cepat dewasa, tidak memperlihatkan perkawinan musiman, dan umumnya lebih cepat berkembang biak. Kelebihan lainnya sebagai hewan laboratorium adalah sangat mudah ditangani, dapat ditinggal sendirian dalam kandang asal dapat mendengar suara tikus lain dan berukuran cukup besar sehingga memudahkan pengamatan. Secara umum, berat badan tikus laboratorium lebih ringan dibandingkan berat badan tikus liar. Biasanya pada umur empat minggu beratnya 35-40 g, dan berat dewasa rata-rata 200-250 g (Maula, 2014).

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :



Luka insisi pada tikus akan menyebabkan tikus mengalami kerusakan jaringan perifer dan fase inflamasi dimulai. Sesaat setelah terjadi luka, akan terjadi hemostasis dimana platelet akan teraktivasi dan akan menghentikan proses perdarahan. Platelet yang keluar dari pembuluh darah akan mengeluarkan trombokinase. Trombokinase akan mengubah protrombin menjadi trombin dan trombin akan mengubah fibrinogen menjadi benang-benang fibrin. Terbentuknya benang-benang fibrin akan menyebabkan luka menjadi tertutup sehingga darah tidak mengalir keluar. Setelah terjadi proses hemostasis, maka proses yang selanjutnya terjadi 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.

Respons inflamasi menyebabkan pembuluh darah menjadi bocor mengeluarkan plasma dan PMN's ke sekitar jaringan. Pada awal terjadinya luka,

polimorfonuklear (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. Neutrofil memfagositosis sisa-sisa mikroorganisme dan merupakan pertahanan awal terhadap infeksi. Proses ini dibantu sel-sel mast lokal. Fibrin kemudian pecah sebagai bagian dari pembersihan ini. Jumlah dari neutrofil akan meningkat untuk memfagositosis dan sebagai bentuk pertahanan terhadap mikroba. Monosit akan berubah menjadi makrofag di dalam jaringan dan akan memfagositosis neutrofil yang apoptosis. Jumlah makrofag akan meningkat di sekitar luka 48-96 jam setelah terjadi luka. Makrofag juga akan menghasilkan sitokin, salah satunya adalah Interleukin 6 (IL-6) yang berfungsi mengatur proses inflamasi selama perbaikan jaringan dalam respon kekebalan serta metabolisme. Interleukin ini mempromosikan diferensiasi sel B menjadi sel plasma, mengaktifkan sel T sitotoksik serta mengatur homeostasis, merupakan *endogenous pyrogen* yang menstimulasi demam dan produksi protein pada fase akut. Sinyal yang ditimbulkan oleh IL-6 menyebabkan rekrutmen monosit ke daerah inflamasi.

Fase proliferasi dari luka ditandai dengan terbentuknya jaringan granulasi pada luka. Proses proliferasi dan migrasi fibroblas menunjukkan luka mulai memasuki fase proliferasi. Fibroblas akan menghasilkan sitokin (IL-6) yang akan menstimulus migrasi dan proliferasi dari keratinosit dan akan memulai proses epitelisasi. Kolagen akan disintesis oleh fibroblas dengan dirangsang oleh TGF- β . Kolagen akan memberikan kekuatan dan integritas pada luka.

Adanya sitokin juga akan menstimulus terbentuknya *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) memiliki peranan meningkatkan proliferasi dan migrasi sel endotel dan membantu pembentukan struktur pembuluh darah (angiogenesis). Sel endotel akan teraktivasi dan berproliferasi yang akan membentuk tunas kapiler yang akan mejadi pembuluh darah baru. Terbentuknya pembuluh darah baru, epitelisasi, dan terbentuknya kolagen menunjukkan luka akan memasuki fase *remodelling*.

Ekstrak kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) yang dijadikan salep mengandung vitamin C, E, A, dan antioksidan flavonoid yang mampu mencegah pembentukan radikal bebas penyebab kanker. Sebagai antioksidan, flavonoid dapat menghambat penggumpalan keping-keping sel darah, merangsang produksi nitrit oksida yang dapat melebarkan (relaksasi) pembuluh darah. Selain itu buah naga dijadikan salah satu buah yang berkhasiat pada luka karena mengandung fitoalbumin yang kemampuan antioksidannya sangat tinggi. Antioksidan dari buah naga ini mampu mencegah pembentukan radikal bebas penyebab kanker. Vitamin C adalah nutrien dan vitamin yang larut dalam air dan penting untuk kehidupan serta untuk menjaga kesehatan. Vitamin C dikenal dengan nama Asam askorbat sangat penting untuk biosintesis kolagen.

Sedangkan ekstrak lidah buaya (*Aloe vera*) yang dijadikan salep mengandung asam salisilat yang merupakan agen antiinflamasi serta mengandung *anthroquinone* yang merupakan senyawa fenolik dan ditemukandalam getah. Senyawa ini berperan sebagai pencahar zat antimikroba dan memiliki efek

analgesik yang kuat, selain itu lidah buaya digolongkan ke dalam obat antibiotik, antiseptik, dan antibakteri.

Berdasarkan kandungan yang terdapat dalam kedua bahan tersebut, diharapkan masing-masing kandungan yang terdapat dalam ekstrak kulit buah naga dan lidah buaya bisa saling mengisi dan menambahkan berdasarkan fungsi kandungannya dalam proses penyembuhan luka yang mempengaruhi ekspresi *Interleukin 6* (IL-6) dan jumlah sel neutrofil.

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang disebutkan, maka hipotesis dalam penelitian ini yaitu:

1. Terapi salep ekstrak kombinasi kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan daging lidah buaya (*Aloe vera*) pada tikus putih (*Rattus novergicus*) dengan luka insisi mampu menurunkan *Interleukin 6* (IL-6), sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan luka.
2. Terapi salep ekstrak kombinasi kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan daging lidah buaya (*Aloe vera*) pada tikus putih (*Rattus novergicus*) dengan luka insisi dapat menekan radikal bebas maupun mikroorganisme, sehingga dapat berpengaruh pada jumlah sel neutrofil untuk mempercepat proses penyembuhan luka.

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

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

4.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah kandang tikus, botol minum tikus, underpad, sarung tangan (glove), timbangan, scalpel, gunting tajam-tajam, gunting tajam-tumpul, pinset, mikroskop olympus, autoclave, penyaring karet, gelas ukur, blender, wadah kaca tertutup, lemari pendingin, plastik klip, mikrotom, cawan petri, spuit injeksi.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan strain Wistar dengan 150-250 g, NaCL fisiologis, alkohol 70%, ketamin, formula salep kombinasi kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*), underpad, makanan pellet, minuman, pewarnaan HE, formalin 10%, jaringan kulit tikus, vaselin album, aquades, larutan xylol, parafin cair, antibodi *Interleukin 6* (IL-6), formalin 10%, kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*), lidah buaya (*Aloe vera*), PBS, antibodi sekunder Goat Anti Rat berlabel biotin, pewarna Kromogen DAB.

4.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan Acak Lengkap digunakan apabila ragam satuan percobaan yang digunakan homogen atau seragam. Hewan model dibagi menjadi kelompok masing-masing 4 ulangan berdasarkan rumus menurut Kusningrum (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. Hewan coba dalam penelitian ini dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan diantaranya, kelompok kontrol negatif (K-), kelompok kontrol positif (K+), Kelompok P1 (Terapi salep kombinasi kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) dengan konsentrasi 5%), kelompok P2 (Terapi salep kombinasi kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) dengan konsentrasi 10%), dan kelompok 3 (Terapi salep kombinasi kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) dengan konsentrasi 15%). Kelompok K(-) merupakan kelompok tikus sehat tanpa pemberian perlakuan apapun, kelompok K(+) merupakan kelompok tikus yang diberi perlakuan luka insisi tanpa diberi terapi

salep kombinasi kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*), kelompok P1 merupakan kelompok tikus yang diberi perlakuan insisi serta terapi salep kombinasi kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) dengan konsentrasi 5%, kelompok P2 merupakan kelompok tikus yang diberi perlakuan insisi serta terapi salep kombinasi kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) dengan konsentrasi 10%, kelompok P3 merupakan kelompok tikus yang diberi perlakuan insisi serta terapi salep kombinasi kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) dengan konsentrasi 15%.

Tabel 4.3.1 Rancangan Penelitian

Kelompok Perlakuan	Perlakuan
Kelompok K(-)	tikus sehat tanpa pemberian perlakuan apapun
Kelompok K(+)	tikus yang diberi perlakuan luka insisi tanpa diberi terapi salep kombinasi kulit buah naga (<i>Hylocereus polyrhizus</i>) dan daging lidah buaya (<i>Aloe vera</i>)
Kelompok P1	tikus yang diberi perlakuan insisi serta terapi salep kombinasi kulit buah naga (<i>Hylocereus polyrhizus</i>) dan daging lidah buaya (<i>Aloe vera</i>) dengan konsentrasi 5%
Kelompok P2	tikus yang diberi perlakuan insisi serta terapi salep kombinasi kulit buah naga (<i>Hylocereus polyrhizus</i>) dan daging lidah buaya (<i>Aloe vera</i>) dengan konsentrasi 10%
Kelompok P3	tikus yang diberi perlakuan insisi serta terapi salep kombinasi kulit buah naga (<i>Hylocereus polyrhizus</i>) dan daging lidah buaya (<i>Aloe vera</i>) dengan konsentrasi 15%

4.4 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

Variabel bebas : Luka insisi dan konsentrasi terapi salep kombinasi kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) dan daging lidah buaya (*Aloe vera*).

Variabel terikat : Ekspresi *Interleukin 6* (IL-6) dan jumlah sel neutrofil.

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 kombinasi kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*)
4. Perlakuan luka insisi dengan panjang 2 cm pada daerah punggung
5. Terapi salep kombinasi kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) dengan konsentrasi 5%, 10% dan 15%
6. Euthanasi dan pengambilan kulit
7. Pembuatan preparat kulit
8. Pengamatan sel neutrofil di Jaringan Kulit Tikus *wistar* (*Rattus norvegicus*)
9. Ekspresi *Interleukin 6* (IL-6) dengan Imunohistokimia (IHK)
10. Pengamatan Histopatologi
11. Analisis data

4.6 Prosedur Kerja

4.6.1 Persiapan Hewan Coba

Pada percobaan ini terdapat 20 ekor tikus. Sampel yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar dengan berat badan 150-250 g. Umur tikus 75-90 hari karena proliferasi sel pada usia pertumbuhan ini cepat sehingga mendukung proses penyembuhan luka (Fatimatuzzahroh, 2015). Tikus diadaptasikan selama tujuh hari dengan pakan pellet pada semua tikus. Tikus dibagi 5 kelompok perlakuan. Setiap kelompok perlakuan terdiri dari 4 ekor tikus.

Tikus dikandangkan dalam kandang yang berukuran 17.5 x 23.75 x 17.5 cm. Kandang terbuat dari bahan plastik dengan tutup terbuat dari rangka kawat. Satu kandang dibagi menjadi 2 bagian diberi sekat tengah dengan kawat. Kandang tikus berlokasi pada tempat yang bebas dari suara ribut dan terjaga dari asap industri serta polutan lainnya. Lantai kandang menggunakan underpad mudah dibersihkan dan disanitasi.

4.6.2 Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Naga dan Daging Lidah Buaya

Sampel buah naga super merah dikupas dan dibersihkan untuk memisahkan daging buah dengan kulitnya, selanjutnya kulit buah naga dipotong kecil-kecil kemudian dicuci setelah itu dikeringkan selama 3 hari selanjutnya diblender sampai halus. Menurut Widada (2012), pembuatan serbuk kulit buah naga sebagai berikut, kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dipisahkan dengan daging buahnya. Setelah itu, kulit buah naga merah dipotong kecil-kecil (± 5 mm) kemudian dikeringkan dengan bantuan sinar matahari dalam keadaan tertutup kain hitam dilanjutkan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C.

Fungsi kain hitam dapat menyerap sinar ultraviolet sehingga kulit buah naga merah tidak mengalami kerusakan akibat paparan langsung sinar matahari. Kulit buah naga merah yang sudah kering diblender sehingga didapatkan serbuk kering kulit buah naga merah (Widada, 2012). Hasil yang didapat sebanyak 250 g sampel kulit buah yang telah halus diekstrak dengan teknik maserasi basah menggunakan pelarut etanol 96% dalam toples dan ditutup selama 24 jam, kemudian di shaker dengan kecepatan 50 rpm sampai homogen. Saring ekstrak cair dengan penyaring kain dan ditampung ekstrak dalam erlenmeyer. Ampas dimasukkan lagi dalam toples berisi etanol 96% dan dibiarkan selama 24 jam, kemudian di shaker dengan kecepatan 50 rpm sampai homogen. Hasil ekstrak cair pertama dan kedua dijadikan satu dan diuapkan menggunakan rotary evaporator selama 2 jam. Ekstrak yang didapatkan dievaporasi/diuapkan diatas waterbath selama 2 jam.

Sedangkan pembuatan ekstrak lidah buaya meliputi, daun lidah buaya dicuci bersih kemudian dipotong kecil-kecil dan dikering anginkan selama tiga hari. Selanjutnya daun ditimbang sebanyak 100 g dan direndam dengan etanol sebanyak 1000 mL selama 24 jam. Kemudian campuran etanol tersebut disaring untuk memisahkan filtrat dengan residu. Filtrat yang diperoleh masih mengandung banyak pelarut sehingga harus dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 45⁰C. Hasil pemekatan ini disebut ekstrak, kemudian hasil ekstrak diencerkan dalam berbagai konsentrasi penelitian yang diperlukan (Aswarita, 2013).

4.6.3 Pembuatan Salep Kombinasi Kulit Buah Naga(*Hylocereuspolyrhizus*) dan Daging Lidah Buaya (*Aloe vera*)

Salep buah naga dan lidah buaya dibuat dengan bahan dasar vaselin album. Menurut Naibaho, dkk (2013), salep dengan bahan dasar hidrokarbon memiliki waktu kontak dan daya absorpsi yang tinggi dibandingkan dengan basis salep lainnya. Pembuatan salep kombinasi kulit buah naga dan lidah buaya menggunakan formulasi salep vaselin albumin 95% dan cera alba 5%. Prosedur pembuatannya yaitu cera alba 5% dileburkan pada cawan penguap menggunakan waterbath kemudian ditambahkan vaselin albumin 95% dan diaduk hingga merata, angkat cawan dari waterbath dan dimasukkan kulit buah naga 1g dan lidah buaya sebanyak 1 g, aduk hingga menjadi salep.

4.6.4 Perlakuan Luka Insisi dengan Panjang 2 Cm pada Daerah Punggung.

Tikus dianestesi menggunakan ketamin dengan dosis 10 mg/kg BB [100 mg/mL] dan xylazin dosis 2 mg/kg BB [20 mg/mL] secara intra muscular (IM). Setelah tikus teranestesi, hewan dicukur rambutnya pada bagian punggung (dorsal). Kemudian dilakukan desinfeksi menggunakan alkohol 70% dan povidon iodine 10% pada punggung tikus yang telah dicukur. Insisi dilakukan pada punggung tikus dengan menggunakan *blade (scalpel blade)* (Mahandaru & Dachlan (2012). Insisi dibuat dengan panjang 2 cm hingga kedalaman mencapai subkutan dengan cara mengangkat kulit ke atas hingga terdapat sekat antara kulit bagian luar dengan subkutan kemudian dilakukan insisi. Setelah itu dilakukan pemberian terapi salep kombinasi kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%.

Menurut Anggraeini (2015), cara perlakuan insisi sebagai berikut tikus dianestesi umum secara intramuskular pada kaki belakang (muskulus quadriceps). Setelah terbius, bulu di daerah dorsolateral punggung dicukur kemudian kulit diolesi dengan iodine. Luka insisi dibuat pada kulit sampai dengan lapisan subkutan dan kemudian diberi terapi. Selama penelitian tikus diperlakukan sebaik-baiknya, tikus diusahakan tidak lapar, tidak haus, bebas stres, dan leluasa bergerak. Pemberian pakan dan minum dilakukan setiap hari secara *ad libitum*. Kandang ditempatkan di ruangan yang tenang, tidak bising dan cukup cahaya, serta kebersihan kandang dijaga setiap hari.

4.6.5 Terapi Salep Kombinasi Kulit Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*) dan Lidah Buaya (*Aloe vera*) dengan Konsentrasi 5%, 10% dan 15%.

Pemberian terapi dilakukan sehari sekali secara topikal dengan cara mengoleskan salep kulit buah naga kombinasi lidah buaya sebanyak 5 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.

4.6.6 Euthanasi dan Pengambilan Kulit

Seluruh tikus (20 ekor) yang sudah diadaptasi, pada hari pertama penelitian dibagi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus. Masing-masing tikus diberi tanda atau label pada ekornya dengan menggunakan spidol tahan air sesuai kelompoknya. Eutanasia dilakukan pada hari ke-10 setelah semua perlakuan selesai. Hewan coba dianestesi terlebih dahulu dengan diinjeksi ketamin dosis 10 mg/kg BB dan xylazin dosis 2 mg/kg BB secara intramuskuler.

Setelah teranastesi maka dilakukan dislokasi cervicalis, kemudian tikus diletakkan dengan posisi rebah dorsal, sehingga bagian punggung terletak dibagian dorsal untuk mempermudah pengambilan sampel. Bagian kulit tempat insisi diisolasi dan dibilas dengan NaCl fisiologis. Kulit dimasukkan dalam pot yang berisi larutan formalin 10% untuk selanjutnya dibuat preparat histopatologi dengan pewarnaan hematoxilin eosin (HE).

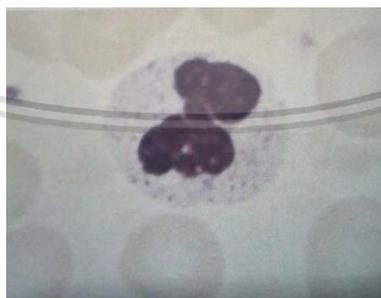
4.6.7 Pembuatan Preparat Kulit

Pembuatan preparat dilakukan dengan cara jaringan kulit yang telah difiksasi menggunakan larutan formalin 10% selama 24 jam, kemudian dilakukan *trimming* organ dan dimasukkan dalam *cassette tissue* dari plastik. Tahap selanjutnya dilakukan proses dehidrasi alkohol menggunakan konsentrasi alkohol bertingkat yaitu 70%, 80%, 90%, alkohol absolut I, alkohol absolut II, kemudian dilakukan penjernihan menggunakan xylol I dan Xylol II. Proses pencetakan menggunakan parafin I, parafin II, dan parafin III. Sediaan dimasukkan ke dalam alat pencetak yang berisi parafin setengah volume dan sediaan diletakkan kearah vertikal dan horizontal sehingga potongan melintang melekat pada dasar parafin. Setelah mulai membeku, parafin ditambahkan kembali hingga alat pencetak penuh dan dibiarkan sampai parafin mengeras. Blok-blok parafin kemudian dipotong tipis setebal 5 mikron dengan menggunakan mikrotom. Hasil potongan yang berbentuk pita (*ribbon*) tersebut dibentangkan diatas air hangat bersuhu 46⁰C dan langsung diangkat untuk meregangkan potongan agar tidak berlipat atau menghilangkan lipatan akibat dari pemotongan. Sediaan tersebut kemudian diangkat dan diletakkan diatas *object glass* dan dikeringkan semalaman dalam

inkubator bersuhu 60°C. Kemudian diwarnai dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) untuk pemeriksaan mikroskopik (Balqis, 2014).

4.6.8 Pengamatan Sel Neutrofil di Jaringan Kulit Tikus *wistar* (*Rattus norvegicus*)

Pewarnaan *Hematoxyline Eosin* (HE) menggunakan 2 macam zat warna yaitu *hematoxyline* yang berfungsi untuk memulas inti sel dan memberikan warna biru (basofilik) serta *eosin* yang merupakan *counterstaining hematoxyline*, digunakan untuk memulas sitoplasma sel dan jaringan penyambung dan memberikan warna merah muda dengan nuansa yang berbeda. Menurut Baratawidjaya (2006) bahwa sel PMN terdiri atas sel neutrofil, basofil dan eosinofil. Menurut Lestaringrum (2012), Sel neutrofil memiliki lobus inti 3-5. Usia sel neutrofil dibedakan berdasarkan bentuk inti sel. Neutrofil muda atau neutrofil stab (batang) mempunyai inti sel yang melengkung seperti tapal kuda, Neutrofil dewasa (mature) mempunyai bentuk inti lobus yang bersegmen.



Gambar 4.6.8.1 Sel Neutrofil (Saputri, 2010).

Keterangan : karakteristik dari sel neutrofil memiliki inti 3-5 berwarna biru (Pewarnaan HE).

4.6.9 Ekspresi *Interleukin 6* (IL-6) dengan Imunohistokimia (IHK)

Pengamatan ekspresi IL-6 menggunakan metode imunohistokimia. Pertama preparat kulit direndam dalam xylol I dan xylol II masing-masing selama 5 menit, kemudian direndam menggunakan ethanol bertingkat mulai ethanol 70%, ethanol 80%, ethanol 90%, dan ethanol 100% masing-masing selama 5 menit, setelah itu direndam pada aquades steril selama 3x5 menit. Preparat dicuci dengan PBS steril selama 3x5 menit lalu dikeringkan dengan tisu. Kemudian preparat ditetesi dengan larutan H₂O₂ 3% lalu diinkubasi selama 15-20 menit, dicuci kembali menggunakan PBS steril selama 3x5 menit. Kemudian di blok dengan susu skim 1% dalam PBS selama 30 menit dengan suhu ruang, dicuci kembali dengan PBS steril selama 3x5 menit. Selanjutnya diberi antibodi primer (anti rabbit *Interleukin 6*) monoclonal dalam susu skim 1%, diinkubasi pada suhu 4^oC selama 24 jam, kemudian dicuci kembali menggunakan PBS steril selama 3x5 menit. Selanjutnya diinkubasi dengan antibodi sekunder *goat anti-rabbit* berlabel biotin selama 1 jam dengan suhu ruang, dicuci kembali dengan PBS steril selama 3x5 menit.

Preparat kemudian ditetesi dengan SA-HRP (*Strep Avidin Horse Radish Peroxidase*) selama 40 menit dengan suhu ruang. Kemudian dicuci kembali dengan PBS steril selama 3x5 menit lalu dicuci kembali menggunakan aquades steril 3x5 menit. Ditetesi dengan DAB (*Diamono Benzidine*) selama 20 menit dengan suhu ruang. Dicuci kembali dengan PBS steril selama 3x5 menit. Selanjutnya di *counterstaining* dengan menggunakan *Mayer Hematoxylen* dan diinkubasi selama 5-10 menit pada suhu ruang, lalu slide direndam dalam air kran selama 15 menit, dicuci dengan aquades dan dikeringkan kurang lebih satu

malam. Slide di mounting dengan entelan lalu dikeringkan, dan ditutup dengan *coverglass*. Hasil diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Pengamatan preparat *Interleukin 6* (IL-6) dilakukan dengan pengamatan dalam 5 lapang pandang. Pengamatan preparat imunohistokimia dilakukan dengan menghitung persentase area yang kemudian dianalisa dengan software *Immunoratio*. Menurut Ramadhani (2012), analisis menggunakan *Immunoratio* dilakukan dengan menghitung jumlah persentase sel berwarna coklat. *Immunoratio* dapat di akses secara bebas atau digunakan secara online melalui perambah (browser) internet mendukung semua jenis perambah dan sistem operasi komputer.

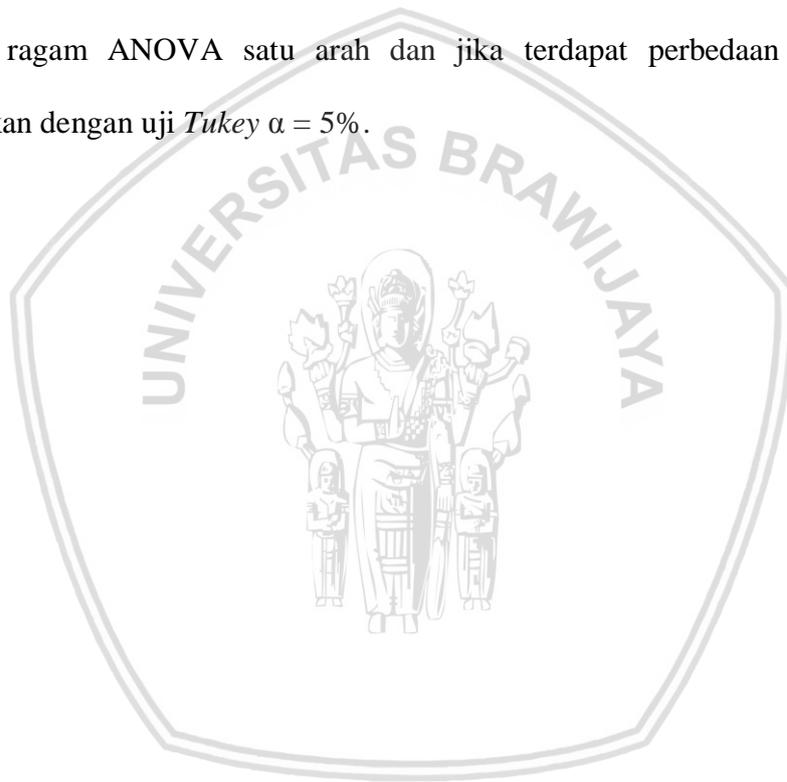
4.6.10 Pengamatan Histopatologi

Pengamatan histopatologi menggunakan metode penghitungan, menurut Prasetyo, dkk (2010) cara pengamatan histopatologi dengan menghitung jumlah sel yang diamati. Parameter yang digunakan adalah sel neutrofil dan ekspresi *Interleukin 6* (IL-6) yang ada dalam luka. Pengamatan histopatologi dilakukan menggunakan mikroskop cahaya (Olympus).

Interpretasi hasil jumlah sel neutrofil yang terlihat pada sediaan jaringan didapatkan dengan menghitung jumlah sel neutrofil yang tampak pada lima lapang pandang dari setiap preparat. Hasil pengamatan jumlah sel neutrofil pada lima lapang pandang dari masing-masing sampel dirata-rata, kemudian membandingkan rata-rata sel neutrofil dengan kelompok kontrol dan perlakuan.

4.6.11 Analisis Data

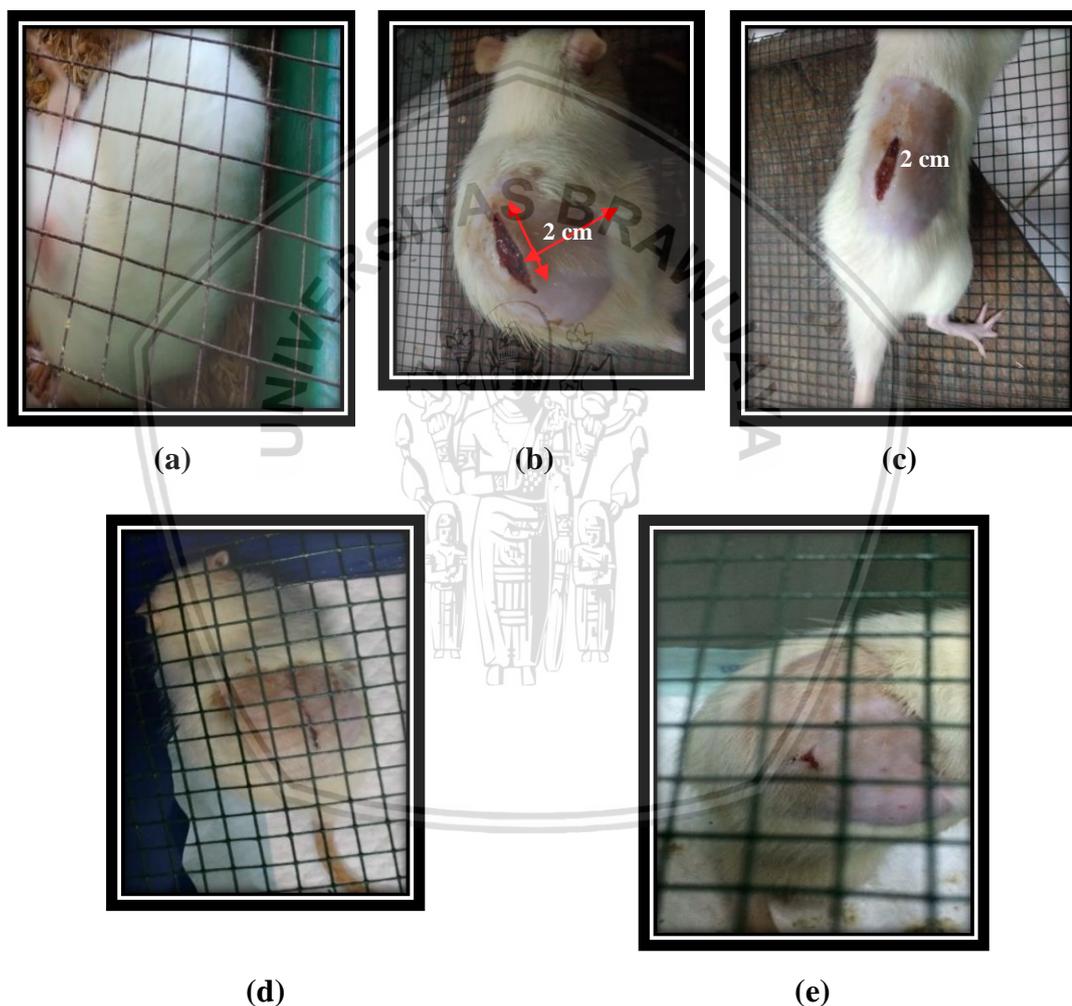
Data penelitian ini berupa data kuantitatif ekspresi *Interleukin 6* (IL-6) dan jumlah sel neutrofil dari gambaran histopatologi jaringan kulit daerah luka insisi diamati menggunakan mikroskop cahaya (Olympus) dengan perbesaran 400x. Perubahan histopatologi dianalisis secara kuantitatif menggunakan *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for windows* dengan analisis statistik ragam ANOVA satu arah dan jika terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji *Tukey* $\alpha = 5\%$.



BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Gambaran Makroskopis Kesembuhan Luka Insisi

Pengamatan kesembuhan luka insisi secara makroskopis pada jaringan kulit tikus putih galur *wistar* (*Rattus norvegicus*) diamati pada hari ke-10 terdapat perbedaan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.



Gambar 5.1: Makroskopis kesembuhan luka pada hari 10

Keterangan :

(a) Luka insisi kontrol negatif

(b) Luka insisi kontrol positif

(c) Terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya 5%

(d) Terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya 10%

(e) Terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya 15%



: Perlakuan panjang awal luka insisi 2 cm

Gambaran makroskopis jaringan kulit tikus kontrol negatif (**Gambar 5.1.a**) tidak diberikan perlakuan apapun atau tanpa dilakukan insisi menunjukkan kulit dalam keadaan normal atau sehat. Pada tikus kontrol positif (**Gambar 5.1.b**) diberi perlakuan insisi pada daerah punggung namun tidak diberikan terapi menunjukkan penutupan luka belum sempurna pada hari ke-10, area insisi terdapat banyak debris, adanya jaringan parut yang lembab, terjadi pembengkakan, tidak ada pertumbuhan rambut pada area kulit yang luka.

Kelompok terapi 1 (**Gambar 5.1.c**) tikus diberi perlakuan insisi pada daerah punggung dan diberikan terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 5% menunjukkan luka belum mengering sempurna pada hari ke 10, area luka masih terbuka dan belum tampak adanya pertumbuhan rambut, berwarna rubor memudar, dan debris menghilang. Kelompok terapi 2 (**Gambar 5.1.d**) tikus diberi perlakuan insisi pada daerah punggung dan diberikan terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 10% menunjukkan luka belum mengering sempurna pada hari ke 10, area luka masih terbuka dan belum tampak adanya pertumbuhan rambut, berwarna rubor memudar, dan debris menghilang. Perbedaan dengan perlakuan 1, area luka tikus perlakuan 2 semakin menutup. Kelompok terapi 3 (**Gambar 5.1e**) dilakukan insisi pada daerah punggung dan diberikan terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya 15% menunjukkan adanya penutupan luka tapi belum sempurna pada hari ke-10, yaitu area luka sedikit bersih dari debris, luka sudah mulai menipis dan kulit mulai ditumbuhi rambut. Pengaruh pemberian salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya

terhadap ekspresi *Interleukin 6* (IL-6) dapat diketahui dengan cara dilakukan pewarnaan metode *Imunohistokimia* (IHK) sedangkan jumlah neutrofil dilakukan pewarnaan metode *Hematoxyline Eosin* (HE).

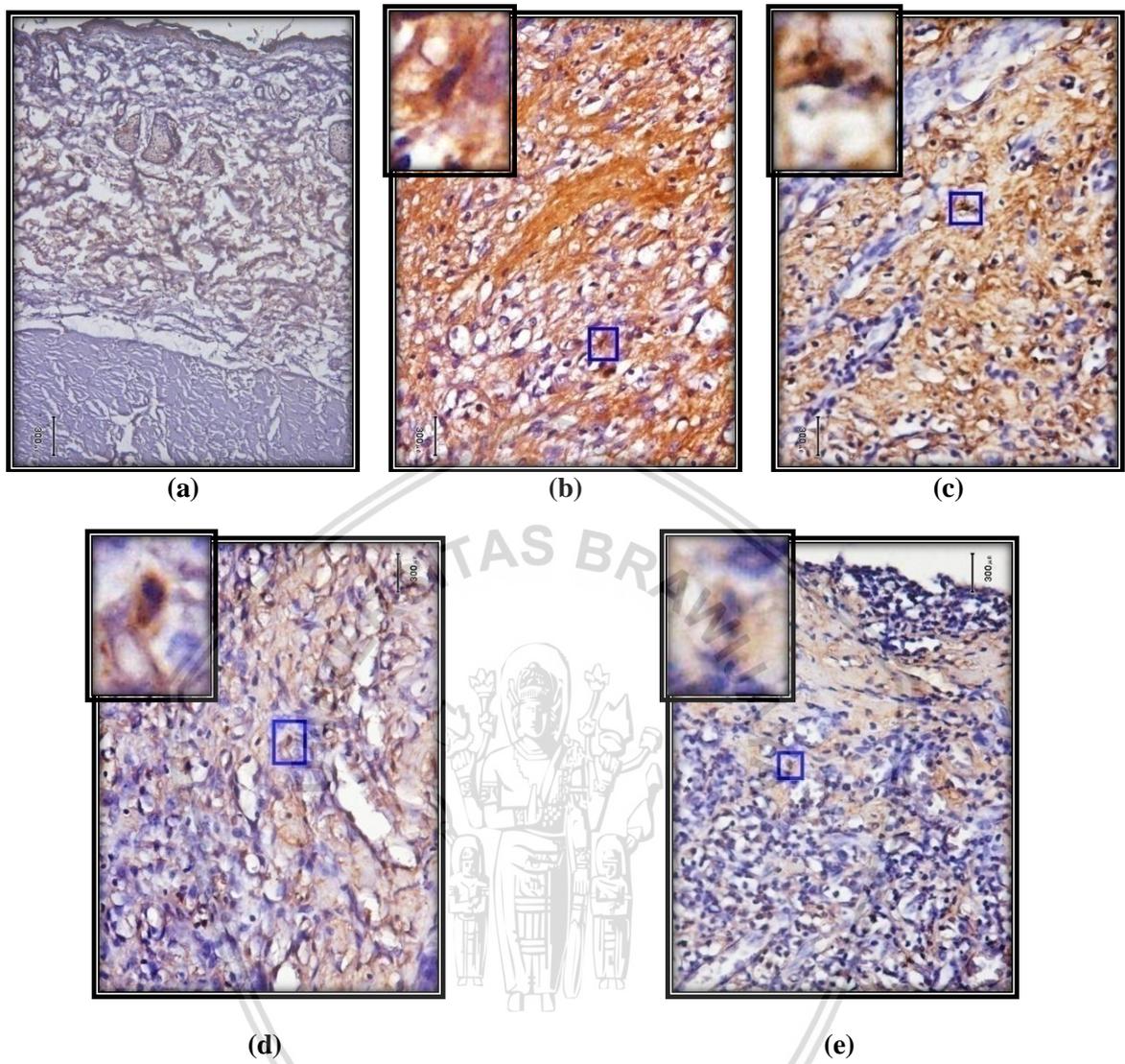
Debris muncul pada jaringan yang tidak dapat hidup atau jaringan yang telah mengalami nekrosis. Debris atau keropeng ini berasal dari bekuan darah yang menggumpal dan mengeras. Respon inflamasi menyebabkan vasodilatasi dimana histamin dan media lain dari sel yang mengalami cedera dilepaskan dan terjadi migrasi sel darah putih menuju daerah luka. Pengamatan makroskopis luka secara klinis hari ke-10 pada kelompok perlakuan masih menunjukkan adanya luka meskipun bentuk dan ukurannya berbeda. Pengamatan mikroskopis dilakukan pada hari ke-10 setelah tikus di eutanasi dan dilakukan isolasi jaringan luka kulit yang nantinya akan dibuat preparat slide kulit guna diamati di bawah mikroskop.

Menurut Triyono (2005), kesembuhan luka fase *remodelling* jaringan berlangsung pada hari ke tujuh. Pada penelitian ini kesembuhan luka tikus putih belum sembuh total pada hari ke-10, terlihat luka masih terbuka belum mengering sempurna dan berwarna rubor memudar. Hal ini disebabkan oleh faktor tata letak insisi pada punggung tikus putih terdapat vertebrae yang berfungsi menopang dan membentuk tubuh. Hewan quadripedal lebih aktif dibandingkan dengan hewan yang lain. Pada saat hewan bergerak, vertebrae ikut bergerak yang menyebabkan terhambatnya proses kesembuhan luka.

Pada penelitian ini konsentrasi salep efektif dalam kesembuhan luka adalah 15% dilihat berdasarkan bentuk makroskopis luka yang diberi terapi salep konsentrasi 15% dibandingkan dengan kontrol positif, terapi 5% dan terapi 10%.

5.2. Pengaruh Kombinasi Salep Ekstrak Kulit Buah Naga dan Daging Lidah Buaya Terhadap Ekspresi *Interleukin 6* (IL-6) pada Kulit Tikus Pasca Luka Insisi.

Sitokin IL-6 merupakan sitokin pro inflamasi yang diproduksi fagosit mononuklear, sel endotel vaskular, fibroblas, dan sel lain sebagai respons terhadap mikroba (Baratawidjaja dan Rengganis, 2013). Penyembuhan luka adalah proses biologis yang kompleks untuk memperbaiki integritas jaringan. Proses penyembuhan luka dibagi menjadi beberapa tahapan. Salah satu tahapan penyembuhan luka yang sangat penting terutama untuk mempersiapkan kesembuhan luka adalah inflamasi. Pada fase inflamasi akan ada infiltrasi dari sel-sel inflamasi, faktor pertumbuhan, dan aktivasi sitokin yang akan membantu dalam fase tersebut. Salah satu sitokin yang akan teraktivasi pada fase inflamasi adalah *Interleukin 6* (IL-6). Pada penelitian ini, pengaruh pemberian terapi salep ekstrak kulit buah naga dan daging lidah buaya terhadap ekspresi *Interleukin 6* (IL-6) pada luka insisi tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) diamati menggunakan metode imunohistokimia (IHK). Hasil ditunjukkan dengan adanya bercak berwarna coklat pada preparat histopatologi. Munculnya bercak tersebut menunjukkan adanya interaksi antara *Interleukin 6* (IL-6) pada jaringan kulit dengan antibodi IL-6.



Gambar 5.2: Hasil pewarnaan Imunohistokimia pada preparat kulit dengan perbesaran 400x.
 : Ekspresi *Interleukin 6* (IL-6)

- Keterangan :
- (a) Luka insisi kontrol negatif
 - (b) Luka insisi kontrol positif
 - (c) Terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya 5%
 - (d) Terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya 10%
 - (e) Terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya 15%

Hasil preparat imunohistokimia menunjukkan adanya bercak berwarna coklat yang menunjukkan adanya ekspresi *Interleukin 6* (IL-6). Bercak berwarna

coklat terbentuk karena adanya interaksi antara *Interleukin 6* (IL-6) pada jaringan kulit dengan antibodi yang ditambahkan saat pewarnaan imunohistokimia. Antibodi primer berikatan dengan antigen pada jaringan dan antibodi sekunder berlabel biotin. Pemberian antibodi sekunder diikuti penambahan *Streptavidin-Horseradish Peroxidase* (SA-HRP) dan substratnya berupa *Diaminobenzidine* (DAB). *Diaminobenzidine* (DAB) merupakan substrat dari peroksidase yang menghasilkan warna kecoklatan pada jaringan.

Jumlah ekspresi *Interleukin 6* (IL-6) diukur dengan menggunakan software *Immunoratio* dan didapatkan data ekspresi IL-6 berupa persentase yang kemudian dibandingkan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol untuk mengetahui perbandingan ekspresi IL-6. Gambaran mikroskopis sitokin IL-6 terlihat pada semua kelompok yang tersebar di lapisan dermis. Pada kelompok K- terlihat adanya ekspresi IL-6 dengan rerata 22,5%. Hal ini menunjukkan keadaan yang normal karena sitokin IL-6 secara alami terdapat didalam tubuh dalam jumlah yang relatif sedikit sebagai imunitas tubuh (**Gambar 5.2.a**). Pada kelompok K+ terlihat adanya ekspresi IL-6 dengan rerata 71,25%. Hal ini menunjukkan suatu keadaan adanya respon terhadap mikroba pada kesembuhan luka (**Gambar 5.2.b**). Pada kelompok P1 terapi luka dengan kombinasi salep ekstrak kulit buah naga dan daging lidah buaya konsentrasi 5% terlihat adanya ekspresi IL-6 dengan rerata 49,7%. Hal ini menunjukkan bahwa ada respon zat bioaktif ekstrak kulit buah naga dan daging lidah buaya pada proses kesembuhan luka yang dibandingkan dengan rerata ekspresi IL-6 K+ (**Gambar 5.2.c**). Pada kelompok P2 terapi luka dengan kombinasi salep ekstrak kulit buah naga dan

daging lidah buaya konsentrasi 10% terlihat adanya ekspresi IL-6 dengan rerata 37,6%. Hal ini menunjukkan bahwa ada respon zat bioaktif ekstrak kulit buah naga dan daging lidah buaya pada proses kesembuhan luka yang dibandingkan dengan rerata ekspresi IL-6 K+ dan P1 (**Gambar 5.2.d**). Pada kelompok P3 terapi luka dengan kombinasi salep ekstrak kulit buah naga dan daging lidah buaya konsentrasi 15% terlihat adanya ekspresi IL-6 dengan rerata 29,45%. Hal ini menunjukkan bahwa ada respon zat bioaktif ekstrak kulit buah naga dan daging lidah buaya pada proses kesembuhan luka yang dibandingkan dengan rerata ekspresi IL-6 K+, P1, dan P2.

Tingkat persentase ekspresi IL-6 diamati menggunakan mikroskop perbesaran 400x dengan 5 lapang pandang, kemudian diukur dengan menggunakan software *Immunoratio* dan didapatkan data ekspresi IL-6. Setelah rata-rata persentase ekspresi IL-6 pada jaringan kulit setiap kelompok didapatkan, selanjutnya dilakukan uji statistika diantaranya adalah uji normalitas, uji homogenitas, uji *One Way* ANOVA serta uji Beda Nyata Jujur (BNJ).

Hasil uji normalitas dan homogenitas ekspresi IL-6 pada semua kelompok perlakuan menunjukkan bahwa semua data tersebut berdistribusi normal dan data berasal dari kelompok-kelompok yang homogen (**Lampiran 12**), sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *One Way* ANOVA. Uji *One Way* ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan menggunakan terapi salep kombinasi kulit buah naga buaya dan daging lidah buaya pada luka insisi memberikan pengaruh yang berbeda signifikan ($p < 0,05$) terhadap ekspresi IL-6 (**Lampiran 12**) dengan pewarnaan

imunohistokimia (IHK). Ekspresi IL-6 ditunjukkan dengan adanya intensitas warna kecoklatan.

Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan tingkat kesalahan $\alpha=5\%$ menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar perlakuan yang diberikan. Hasil ekspresi IL-6 pada tikus kontrol negatif, kontrol positif, P1 (5%), P (10%), dan P (15%) disajikan dalam tabel sebagai berikut:

Tabel 5.2 Pengaruh Terapi Kombinasi Salep Ekstrak Kulit Buah Naga dan Daging Lidah Buaya Terhadap Ekspresi *Interleukin 6* (IL-6) pada Kulit Tikus Pasca Luka Insisi.

Kelompok Perlakuan	Ekspresi <i>Interleukin 6</i> (IL-6)		
	Rata-rata (IL-6) \pm SD	Peningkatan Terhadap K-	Penurunan Terhadap K+
Kontrol negatif (K-)	22,50 \pm 0,32 ^a	-	-
Kontrol positif (K+)	71,25 \pm 3,30 ^d	68,42%	-
P1 (Terapi 5%)	49,70 \pm 4,24 ^c	-	30,25%
P2 (Terapi 10%)	37,60 \pm 4,00 ^b	-	47,23%
P3 (Terapi 15%)	29,45 \pm 6,73 ^{ab}	-	58,67%

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

Menurut data yang didapat terdapat peningkatan produksi IL-6 secara signifikan ($p<0,05$) pada kelompok kontrol positif yang diberi perlakuan insisi dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (**lampiran 12**). Pada **Gambar 5.2** dapat dilihat adanya peningkatan persentase ekspresi IL-6 sebesar 68,42% pada K+ terhadap dengan K-, akan tetapi hasil ini berbeda pada kelompok perlakuan. Pada P1 mengalami penurunan ekspresi IL-6 sebesar 30,25% terhadap K+, pada P2 mengalami penurunan ekspresi IL-6 sebesar 47,23% terhadap K+, pada P3 mengalami penurunan ekspresi IL-6 sebesar 58,67% terhadap K+. Dari hasil

tersebut P1 (terapi salep ekstrak kulit buah naga dan lidah buaya konsentrasi 5%) dan P2 (terapi salep ekstrak kulit buah naga dan lidah buaya konsentrasi 10%) belum menunjukkan hasil yang optimal walaupun keduanya sama-sama menunjukkan penurunan pada ekspresi IL-6 dibandingkan dengan K+ karena nilainya masih jauh dari K-. Pada P3 menunjukkan hasil yang optimal pada penelitian ini karena persentase ekspresi IL-6 menunjukkan penurunan yang signifikan terhadap K+ dan nilainya mendekati (tidak berbeda nyata) dengan K-.

Peningkatan nilai presentase IL-6 menunjukkan adanya progresivitas atau keparahan suatu penyakit. Produksi IL-6 yang berlebih merupakan dampak dari adanya respon inflamasi. *Interleukin 6* (IL-6) merupakan sitokin yang menyebabkan respon inflamasi akut dan memegang peranan penting dalam pathogenesis penyakit inflamasi. Pada saat terjadi luka terdapat infiltrasi sel inflamasi seperti monosit dan limfosit yang diduga merupakan sumber IL-6, sehingga semakin meningkat aktivitas penyakit, atau semakin progresif penyakitnya akan ditunjukkan dengan beberapa perubahan klinis, seperti pembengkakan jaringan terkait karena infiltrasi sel inflamasi atau peradangan yang mengakibatkan kadar IL-6 juga ikut meningkat. Peningkatan kadar IL-6 berkorelasi dengan kerusakan jaringan dan inflamasi yang diakibatkan (Tania, 2014). Interleukin 6 adalah sitokin proinflamasi yang memediasi terjadinya peradangan. Sitokin IL-6 disintesis oleh sel granulosit, sel *mononuclear*, sel endotel vaskuler, fibroblas, serta beberapa sitokin lain seperti TNF- α dan IL-1. Ketika produksi IL-6 meningkat, maka hal ini akan berdampak pada sintesis APP dan aktivasi faktor pertumbuhan fibroblas. Salah satu APP yang berperan adalah

alpha-1-acid glycoprotein. Penyakit hati yang bersifat kronis akan menimbulkan produksi IL-6 secara terus menerus sehingga produksi APP meningkat. Peran *alpha-1-acid glycoprotein* ialah meningkatkan interaksi kolagen dan juga faktor pertumbuhan fibroblas.

Penurunan produksi sitokin IL-6 merupakan tanda kesembuhan suatu penyakit (luka) akibat mulai menurunnya infiltrasi sel inflamasi yang dipengaruhi oleh keadaan fisiologis host. IL-6 merupakan sitokin pro inflamasi yang memiliki peran penting dalam mekanisme pertahanan host. Pada kondisi fisiologis, kadar IL-6 serum sangat rendah, kadarnya akan meningkat cukup tinggi pada kondisi patologis, misal pada inflamasi. Pada fase inflamasi terjadi vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas kapiler sehingga terjadi eritema, oedema, dan suhu yang meningkat pada daerah yang terluka. Perubahan permeabilitas vaskular ini memungkinkan masuknya makrofag, neutrofil, mast cells dan antibodi. Makrofag juga mempunyai peran sebagai fagosit dan memproduksi kolagenase yang akan menghancurkan jaringan non-vital. Makrofag melakukan peran mediasi pada transisi dari fase inflamasi menuju fase proliferasi dengan mensekresi beberapa growth factor dan cytokines salah satunya adalah IL-6. Sekitar 48 jam setelah trauma neutrofil masuk ke dalam fibrin matrik mengisi ruang luka dan berfungsi sebagai agen debridement dengan membuang jaringan mati dan mencegah infeksi (Hernawati, 2015).

Penurunan produksi IL-6 ini dipengaruhi oleh keadaan fisiologis host dengan bantuan dari eksternal berupa terapi salep ekstrak kulit buah naga dan daging lidah buaya pada luka. Kandungan ekstrak kulit buah naga dan daging

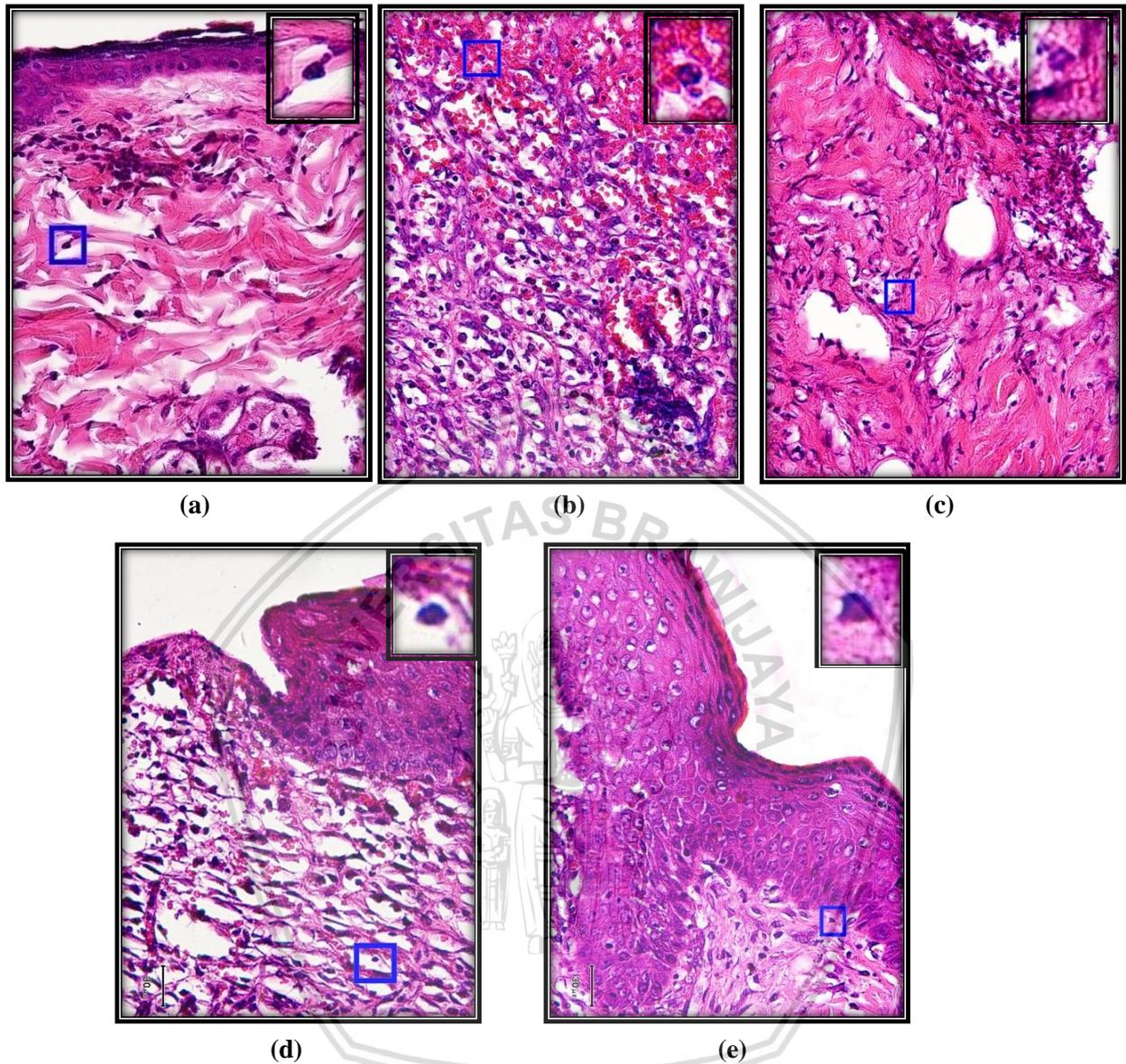
lidah buaya terdapat antioksidan, vitamin C, dan asam salisiat dimana ketiganya mempunyai fungsi untuk mempercepat kesembuhan luka. Menurut Widianingsih (2016), antioksidan berperan menetralkan radikal bebas dengan menyumbangkan satu atau lebih elektron sehingga dapat mencegah pembentukan radikal bebas dan menghambat reaksi berantai yang akan berakibat pada kerusakan sel maupun jaringan. Antioksidan yang terkandung dalam buah naga merah salah satunya ada flavonoid yang berfungsi untuk menetralkan radikal bebas. Flavonoid bekerja dengan cara menghambat akumulasi leukosit di situs inflamasi, mengurangi aktivasi komplemen sehingga menurunkan adhesi leukosit ke endotel dan secara langsung terjadi penurunan respon inflamasi tubuh. Fungsi flavonoid sebagai antiinflamasi bekerja dengan cara menghambat pelepasan mediator inflamasi. Vitamin C merupakan salah satu jenis antioksidan sekunder yang banyak dimanfaatkan bagi kesehatan tubuh. Vitamin C bersifat polar. Antioksidan sekunder dapat melindungi sel ataupun jaringan dari stres oksidatif akibat paparan radikal bebas.

5.3. Pengaruh Terapi Kombinasi Salep Ekstrak Kulit Buah Naga dan Daging Lidah Buaya Terhadap Jumlah Neutrofil pada Kulit Tikus Pasca Luka Insisi.

Sel neutrofil merupakan sel-sel radang, dalam keadaan normal tanpa adanya luka ditemukan pada bagian dermis kulit. Ketika terjadi luka, sel-sel radang akan bertambah yang menunjukkan adanya proses radang. Salah satu tanda terpenting dari radang akut ialah terjadinya emigrasi sel-sel radang yang

berasal dari darah. Proses tersebut berlangsung secara cepat (menit-hari) dengan ciri khas utama eksudasi cairan dan akumulasi neutrofil (Wijaya dkk, 2015). Pada penelitian ini, pengaruh pemberian terapi salep ekstrak kulit buah naga dan daging lidah buaya terhadap jumlah neutrofil pada luka insisi tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) diamati menggunakan metode pewarnaan *Hematoxyline Eosin* (HE). Hasil ditunjukkan dengan adanya sitoplasma sel berwarna merah muda dan inti sel berwarna biru (basofilik).





Gambar 5.3: Hasil pewarnaan *Hematoxyline Eosin* (HE) pada preparat kulit dengan perbesaran 400x.

□ : Sel Neutrofil

Keterangan :

- (a) Luka insisi kontrol negatif
- (b) Luka insisi kontrol positif
- (c) Terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya 5%
- (d) Terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya 10%
- (e) Terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya 15%

Gambar 5.3.a merupakan gambaran mikroskopis (histopatologi) infiltrasi sel PMN terhadap kesembuhan luka insisi pada jaringan kulit tikus sehat (kontrol

negatif) yang menunjukkan dalam keadaan normal terlihat adanya sel neutrofil di daerah dermis dengan jumlah yang sedikit. Pada pewarnaan *Hematoxyline Eosin* (HE) terlihat sel neutrofil memiliki inti tiga atau lebih dan bersegmen berwarna ungu-merah muda. Menurut Wijaya (2015) dalam keadaan normal tanpa adanya luka sel-sel radang leukosit polimorfonuklear (PMN) ditemukan pada bagian dermis kulit. Ketika terjadi luka, sel-sel radang akan bertambah yang menunjukkan adanya proses radang. Salah satu tanda terpenting dari radang akut ialah terjadinya migrasi sel-sel radang yang berasal dari darah. Proses tersebut berlangsung secara cepat (menit-hari) dengan ciri khas utama eksudasi cairan dan akumulasi neutrofil. **Gambar 5.3.b** merupakan gambaran mikroskopik jaringan kulit luka insisi (kontrol positif) menunjukkan adanya peradangan berat ditandai banyaknya jumlah sel PMN di daerah dermis. Banyaknya sel radang yang terlihat karena adanya respons inflamasi pada jaringan yang mengalami luka. Infiltrasi sel-sel inflamasi pada penyembuhan luka terjadi dalam waktu 24 jam setelah terjadi jejas. Sel inflamasi pertama yang berespons pada penyembuhan luka adalah sel PMN (neutrofil).

Gambar 5.3 menunjukkan hasil yang berbeda antara kelompok P1 (terapi 5%), P2 (terapi 10%) dan P3 (terapi 15%) dengan kelompok (K-) dan (K+). Pada kelompok (K-) didapatkan hasil rerata 5,50, pada kelompok (K+) didapatkan hasil 40,15, pada P1 5% didapatkan hasil 29,95, pada kelompok P2 10% didapatkan hasil 17,00, pada kelompok P3 15% didapatkan hasil 7,25. Cara menghitung jumlah sel neutrofil dengan cara mengamati jumlah lobus inti neutrofil 3-5. Pada gambar (K-) terlihat adanya sel neutrofil dengan 4 lobus inti, pada gambar (K+)

terlihat 3 lobus inti, pada gambar P1 terlihat 4 lobus inti, pada gambar P2 terlihat 3 lobus inti, pada P3 terlihat 4 lobus inti.

Perhitungan jumlah sel neutrofil diamati menggunakan Optilab® perbesaran 400x dengan program *Image Raster 3* dengan 5 lapang pandang dan didapatkan rata-rata jumlah sel neutrofil. Fungsi *Image Raster 3* hanya sebagai counter. Setelah rata-rata gambaran histologi sel neutrofil pada jaringan kulit setiap kelompok didapatkan, selanjutnya dilakukan uji statistika diantaranya adalah uji normalitas, uji homogenitas, uji *One Way ANOVA* serta uji Beda Nyata Jujur (BNJ).

Hasil uji normalitas dan homogenitas nilai sel neutrofil pada semua kelompok perlakuan menunjukkan bahwa semua data tersebut berdistribusi normal dan data berasal dari kelompok-kelompok yang homogen (**Lampiran 10**), sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA*. Uji *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa perlakuan menggunakan terapi salep kombinasi kulit buah naga buaya dan daging lidah buaya pada luka insisi memberikan pengaruh yang berbeda signifikan ($p < 0,05$) terhadap jumlah sel neutrofil (**Lampiran 10**) dengan pewarnaan *Hematoxyline Eosin* (HE). Infiltrasi sel PMN neutrofil ditandai dengan inti berwarna ungu terdiri atas 3-5 inti.

Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan tingkat kesalahan $\alpha = 5\%$ menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar perlakuan yang diberikan. Hasil jumlah sel neutrofil pada tikus kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan terapi 5%, perlakuan terapi 10%, dan perlakuan terapi 15% disajikan dalam tabel sebagai berikut:

Tabel 5.3 Pengaruh Terapi Kombinasi Salep Ekstrak Kulit Buah Naga dan Daging Lidah Buaya Terhadap Jumlah Neutrofil pada Kulit Tikus Pasca Luka Insisi.

Kelompok Perlakuan	Jumlah Sel Neutrofil		
	Rata-rata (sel) \pm SD	Peningkatan Terhadap K-	Penurunan Terhadap K+
Kontrol negatif (K-)	5,50 \pm 1,22 ^a	-	-
Kontrol positif (K+)	40,15 \pm 6,65 ^d	86,30%	-
P1 (Terapi 5%)	29,95 \pm 0,28 ^c	-	25,40%
P2 (Terapi 10%)	17,00 \pm 1,63 ^b	-	57,66%
P3 (Terapi 15%)	7,25 \pm 1,42 ^a	-	81,94%

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

Uji *Tukey* diperoleh hasil seperti pada **Tabel 5.3** yang menunjukkan K-berbeda nyata dengan K+, P1, dan P3 dan terjadi peningkatan jumlah sel PMN. Peningkatan jumlah sel neutrofil pada kelompok K+ (kontrol positif) terjadi akibat adanya respon inflamasi menyebabkan vasodilatasi dimana histamin dan media lain dari sel yang mengalami cedera dilepaskan dan terjadi migrasi sel darah putih (*polymorphonuclear* neutrofil) menuju daerah luka. Neutrofil adalah sel radang yang muncul pertama dan juga karena neutrofil terdapat dalam jumlah yang banyak dalam sirkulasi darah. Neutrofil aktif pada awal reaksi radang, sehingga neutrofil dapat dijadikan sebagai penanda dimulai fase inflamasi dan berakhirnya proses suatu inflamasi (Robbins, 2007). Neutrofil disebut “*Soldiers of the Body*” karena memiliki fungsi untuk fagositosis pertama kali. Neutrofil merupakan sebagian besar dari leukosit dalam sirkulasi. Biasanya hanya berada dalam sirkulasi kurang dari 7-10 jam sebelum bermigrasi ke jaringan, dan hidup selama beberapa hari dalam jaringan. Neutrofil yang bermigrasi pertama dari sirkulasi ke

jaringan terinfeksi dengan cepat. Neutrofil dapat mengenal patogen secara langsung. Ikatan dengan patogen dan fagositosis dapat meningkat bila antibodi atau komplemen yang berfungsi sebagai opsonin diikatnya (Baratawidjaja dan Rengganis, 2013). Neutrofil muncul pertama kali pada daerah inflamasi yaitu 6 sampai 24 jam pertama dan memuncak pada hari ketiga, setelah itu neutrofil mulai mengalami apoptosis dan digantikan oleh monosit sebagai makrofag sehingga setelah hari ketiga neutrofil mengalami penurunan jumlah secara bertahap hingga hari ke 14 (Robbins, 2007).

Tabel 5.3 menunjukkan bahwa hasil P1 berbeda nyata dengan K+, akan tetapi P1 (terapi salep ekstrak kombinasi kulit buah naga dan daging lidah buaya konsentrasi 5%) mengalami penurunan 25,40%. Kelompok P1 dengan perlakuan terapi konsentrasi 5% merupakan dosis yang kurang optimal pada penelitian ini untuk menurunkan jumlah sel neutrofil karena sel neutrofil masih mendekati kontrol positif. Nilai P1 mengalami penurunan dibandingkan dengan nilai K+ dikarenakan adanya pengaruh kandungan vitamin C yang berfungsi sebagai antioksidan dan sintesis kolagenserta peran dari pentacyclic triterpene taraxast 20 ene 3 α ol dan taraxast 12,20(30) dien 3 α ol yang berperan menjaga dan melindungi kelenturan pembuluh darah yang terdapat dalam salep ekstrak kombinasi kulit buah naga dan daging lidah buaya.

Hasil P2 berbeda nyata dengan K+, akan tetapi P2 (terapi salep ekstrak kombinasi kulit buah naga dan daging lidah buaya konsentrasi 10%) mengalami penurunan 57,66%. Kelompok P2 dengan perlakuan terapi konsentrasi 10% merupakan dosis yang kurang optimal pada penelitian ini untuk menurunkan

jumlah sel neutrofil karena sel neutrofil masih mendekati kontrol positif walaupun dibandingkan dengan P1. Nilai P2 mengalami penurunan dibandingkan dengan nilai K+ dikarenakan adanya pengaruh kandungan vitamin C yang berfungsi sebagai antioksidan dan sintesis kolagen serta peran dari pentacyclic triterpene taraxast 20 ene 3α ol dan taraxast 12,20(30) dien 3α ol yang berperan menjaga dan melindungi kelenturan pembuluh darah yang terdapat dalam salep ekstrak kombinasi kulit buah naga dan daging lidah buaya.

Hasil P3 tidak berbeda nyata dengan K-. Kelompok P3 dengan perlakuan terapi salep ekstrak kombinasi kulit buah naga dan daging lidah buaya konsentrasi 15% merupakan dosis yang efektif pada penelitian ini untuk menurunkan jumlah sel neutrofil berdasarkan jumlah sel neutrofil mendekati nilai K- (kontrol negatif). Pemberian terapi salep ekstrak kombinasi kulit buah naga dan daging lidah buaya konsentrasi 15% menunjukkan penurunan jumlah sel neutrofil yang signifikan terhadap K+ karena adanya pengaruh kandungan vitamin C yang berfungsi sebagai antioksidan dan sintesis kolagen serta peran dari pentacyclic triterpene taraxast 20 ene 3α ol dan taraxast 12,20(30) dien 3α ol yang berperan menjaga dan melindungi kelenturan pembuluh darah yang terdapat dalam salep ekstrak kombinasi kulit buah naga dan daging lidah buaya.

Penurunan dan peningkatan nilai rata-rata neutrofil pada kelompok P1, P2, dan P3 yang dibandingkan dengan kelompok K- dan K+ menunjukkan bahwa kelompok P3 merupakan dosis yang efektif untuk mengurangi jumlah sel neutrofil yang jumlahnya mendekati nilai K- (kontrol negatif). P3 menunjukkan penurunan jumlah neutrofil yang signifikan dibandingkan dengan P1, P2, dan K+, karena

persentase konsentrasi kulit buah naga dan lidah buaya pada P3 lebih tinggi daripada P1 dan P2 sehingga memiliki kandungan zat bioaktif yang lebih efektif dalam menurunkan sel neutrofil. Persentase kandungan antioksidan P3 dalam buah naga lebih banyak daripada P1 dan P2, sehingga efektif dalam membantu fase inflamasi berjalan normal dan mempercepat terjadinya fase proliferasi.

Pemberian terapi salep secara topikal dengan menggunakan dasar salep *vaselin album* yang merupakan dasar salep hidrokarbon. Sifat dasar salep hidrokarbon sukar dicuci, tidak mengering dan tidak berubah dalam waktu lama. Salep ini ditujukan untuk memperpanjang kontak bahan obat dengan kulit dan bertindak sebagai penutup. Dasar salep hidrokarbon terutama digunakan sebagai bahan emolien (Yanhendri, 2012). Penggunaan dasar salep vaselin album 95% berdasarkan pada cera alba 5%. Menurut Murniati (2014), Peningkatan konsentrasi cera alba menyebabkan peningkatan viskositas sediaan salep. Hal ini disebabkan karena cera alba memiliki konsistensi semipadat, sehingga peningkatan konsentrasi cera alba akan mengarahkan sediaan yang mendekati konsistensi cera alba. Semakin tinggi konsentrasi cera alba, semakin padat bentuk salep yang digunakan.

Secara umum perjalanan sediaan topikal setelah diaplikasikan melewati tiga kompartemen yaitu: permukaan kulit, stratum korneum, dan jaringan sehat. Stratum korneum dapat berperan sebagai reservoir bagi dasar salep tempat sejumlah unsur pada obat masih berkontak dengan permukaan kulit namun belum berpenetrasi tetapi tidak dapat dihilangkan dengan cara digosok atau terhapus oleh pakaian. Unsur bahan dasar salep sediaan topikal dapat mengalami evaporasi,

selanjutnya zat aktif berikatan pada lapisan yang dilewati seperti pada epidermis, dermis. Pada kondisi tertentu sediaan obat dapat membawa bahan aktif menembus hipodermis. Sementara itu, zat aktif pada sediaan topikal akan diserap oleh vaskular kulit pada dermis dan hipodermis (Yanhendri, 2012).

Vitamin C yang terkandung didalam lidah buaya membantu merangsang pertumbuhan sel-sel baru melalui reepitelisasi. Menurut Arel (2015), Vitamin C adalah salah satu zat gizi yang berperan sebagai antioksidan dan efektif mengatasi radikal bebas yang dapat merusak sel atau jaringan. Hal ini sesuai dengan pendapat Rahmawati (2009), vitamin C memiliki peran sangat penting dalam memperkuat daya tahan tubuh untuk memerangi infeksi. Vitamin C adalah nutrien dan vitamin yang larut dalam air dan penting untuk kehidupan serta untuk menjaga kesehatan. Vitamin C dikenal dengan nama Asam askorbat. Vitamin C sangat penting untuk biosintesis kolagen (Zakaria, 2000).

Fungsi lain dari vitamin C yaitu dapat meningkatkan monosit dan makrofag ke daerah luka 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. Selain berperan dalam sintesis kolagen, vitamin C juga berperan meningkatkan fungsi neutrofil, angiogenesis dan reepitelisasi. Selain itu juga terdapat kandungan pentacyclic triterpene taraxast 20 ene 3 α ol dan taraxast 12,20(30) dien 3 α ol yang berperan menjaga dan melindungi kelenturan pembuluh darah (Maulana, 2016). Sehingga mengurangi resiko pecahnya pembuluh darah.

Berdasarkan klasifikasinya, penyembuhan luka dapat dibedakan menjadi penyembuhan primer dan penyembuhan sekunder. Penyembuhan primer terjadi pada luka yang bersih, tidak terinfeksi, dan luka yang diusahakan segera melekat dengan jahitan. Sedangkan penyembuhan sekunder terjadi apabila tidak ada pertolongan dari luar, penyembuhan berjalan secara alami dimana luka akan terisi jaringan granulasi dan ditutupi epitel. Pada penyembuhan luka sekunder, tepi luka tidak dapat menyatu dengan mudah, karena terjadi hilangnya jaringan yang cukup luas atau karena infeksi. Biasanya luka terbuka, dengan pembentukan kavitas. Penyembuhan dimulai dari dasar luka dan diakhiri dengan kontraksi tepi-tepi luka. Proses penyembuhan luka akan lebih cepat dan lebih baik setelah pemberian Aloe vera (Linn.) secara topikal. Hal tersebut terjadi karena Aloe vera (Linn.) memiliki aksi untuk melembabkan, efek penyembuhan luka, antiinflamasi, dan antibakteri/antifungal/antiviral. Anthraquinone: aloin dan emodin yaitu senyawa fenol, yang secara tradisional dikenal sebagai laksatif. Aloin dan emodin bertindak sebagai analgetik, antibakteri, dan antiviral (Sugiaman, 2011).

Menurut Anggaeini (2015), kesembuhan luka pada subkutan akan terjadi pada hari ke-5 dengan ditandai menutupnya lapisan epidermis. Namun demikian, celah luka pada lapisan dermis sebagian tikus pada semua kelompok perlakuan masih ada yang terbuka. Sel-sel radang masih dapat dijumpai di daerah sekitar luka. Jaringan granulasi yang terdiri dari fibroblas, sel-sel radang, kolagen dan pembuluh darah juga sudah mulai mengisi celah luka.

BAB 6 KESIMPULAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi daging lidah buaya dapat menurunkan ekspresi *Interleukin 6* (IL-6) pada luka insisi dengan dosis efektif pada konsentrasi 15%.
2. Terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi daging lidah buaya dapat menurunkan jumlah neutrofil pada luka insisi dengan dosis efektif pada konsentrasi 15%.

6.2. Saran

Terapi salep kombinasi kulit buah naga dan daging lidah buaya perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan frekuensi pemberian yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Amiruddin., Syafruddin., Zuraidawati., R. Desky., T. Nizwan Siregar., A. Sayuti., dan A. Harris. 2015. Pengaruh Pemberian Getah Buah Pepaya (*Carica papaya* L.) Dan *Povidone Iodine* Terhadap Kesembuhan Luka Kastrasi Pada Kucing (*Felis domestica*) Jantan. Banda Aceh: Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala.
- Angel, P.G., S. Kalangi., dan S. Wangko. 2014. Gambaran Proses Radang Luka Postmortem Pada Hewan Coba. Manado: Kandidat Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado.
- Anggraeini, D., D.J., R.M. 2015. Kesembuhan Luka Setelah Pemberian Topikal Zink Pada Tikus Dengan Pakan Lemak Tinggi. Yogyakarta: Jurnal Kedokteran Hewan, Vol. 9 No. 2, September 2015.
- Arel, Afdhil., B.A. Martinus., S.A. Ningrum. 2017. Penetapan Kadar Vitamin C Pada Buah Naga Merah (*Hylocereus Costaricensis* (F.A.C. Weber) Britton & Rose) dengan Metode Spektrofotometri Uv-Visibel. Padang: Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Yayasan Perintis Padang, Scientia Vol. 7 No. 1, Februari 2017.
- Aswarita, Rika. 2013. Interaksi Ekstrak Daun Lidah Buaya (*Aloe vera*) Dan Daun Jambu Biji(*Psidium Guajava* L.) Terhadap Daya Hambat *Escherichia Coli* Secara In Vitro. Jurnal Edubio Tropika, Vol. 1, No. 2, hlm. 61-120.
- Balqis, U., Rasmidar., Marwiyah. 2014. Gambaran Histopatologis Penyembuhan Luka Bakar Menggunakan Daun Kedondong (*Spondias Dulcis* F.) dan Minyak Kelapa pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*). Jurnal Medika Veterinaria. Vol. 8 No. 1. 31-36.
- Baratawidjaja, G.K., dan I. Rengganis. 2013. Imunologi Dasar Edisi ke-10. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Baroroh, D. Baririet., S. Kep., NS. 2011. Konsep Luka. Malang: Basic Nursing Department PSIK FIKES UMM.
- Berata, I Ketut., A.A.G. Arjana, I.W. Sudira., I.M. Merdana., I.K. Budhiasa., dan I.B.M. Oka. 2010. Studi Patologi Kejadian *Cysticercosis* pada Tikus Putih. Denpasar: Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana.
- Chindo, N.A. 2015. Benefits Of *Aloe Vera* Substances Anti-Inflammatory Of Stomatitis. Lampung: Faculty of Medicine, Lampung University.

- Estina. 2010. Jenis dan Ciri-Ciri Tikus Laboratorium Disertai Gambar. <https://dokterternak.wordpress.com/2010/11/05/jenis-dan-ciri-ciri-tikus-laboratorium-disertai-gamba/>.html. [07 Mei 2017].
- Fahrimal, Y., Eliawardani., A. Rafina., A. Azhar., dan N. Asmilialia. 2014. Profil Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang diinfeksi *Trypanosoma Evansi* dan diberikan Ekstrak Kulit Batang Jaloh (*Salix Tetrasperma* Roxb). Jurnal Kedokteran Hewan Vol. 8 No. 2.
- Fatimatuzzahroh., N.K. Firani., dan H. Kristianto. 2015. Efektifitas Ekstrak Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap Jumlah Pembuluh Darah Kapiler pada Proses Penyembuhan Luka Insisi Fase Proliferasi. Majalah Kesehatan FKUB Vol. 2, No. 2.
- Fitria, L., dan S. Mulyati. 2014. Profil Hematologi Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar Jantan dan Betina Umur 4, 6, dan 8 Minggu. Biogenesis Jurnal Ilmiah Biologi, Vol. 2, No. 2, hal. 94-100.
- Hapsari, Y.T., A.C. Kusumastuti. 2014. Pengaruh Vitamin C Terhadap Kadar Low Density Lipoprotein (LDL) Lanjut Usia Setelah Pemberian Jus Lidah Buaya (*Aloe barbadensis* Miller). Semarang: Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Hariana, A. 2008. Tumbuhan obat dan khasiatnya. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hernawati, S. 2015. Ekstrak Buah Delima sebagai Alternatif Terapi *Recurrent Aphthous Stomatitis* (RAS). Jember: Bagian Ilmu Penyakit Mulut, Fakultas Kedokteran Gigi - Universitas Jember.
- Hewajuli, D.A., dan NLPI Dharmayanti. 2016. Disregulasi Sitokin pada Unggas dan Mamalia yang Terinfeksi Virus *Avian Influenza*. Bogor: Balai Besar Penelitian Veteriner.
- Ide, P. 2009. Health Secret Of Dragon Fruit Menguak Keajaiban si Kaktus Eksotis Dalam Penyembuhan Penyakit. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Indriasari, I. 2012. Ekstrak Ethanol Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*) Memperbaiki Profil Lipid Pada Tikus Wistar Jantan (*Rattus Norvegicus*) Dislipidemia [Tesis]. Denpasar: Program Pascasarjana Universitas Udayana.
- Jayanti, P.R. 2010. Kajian kandungan senyawa fungsional dan karakteristik sensoris es goyang buah naga super merah (*Hylocereus costaricensis*). Surakarta: Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret.

- Kalangi, S.J.R. 2013. Histofisiologi Kulit. Manado: Bagaian Anatomi-Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi.
- Kristanto, D. 2008. Buah Naga : Pembudidayaan di Pot dan di Kebun. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Kusriningrum. 2008. Dasar Perancangan Percobaan Rancangan Acak Lengkap. Fakultas Kedokteran Hewan. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Lestaringrum, N. A., F.F. Karwur., M. Martosupono. 2012. Pengaruh Vitamin E Tokotrienol dan Gabungannya dengan Asam Askorbat terhadap Jenis Leukosit Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.). Salatiga: Program Pascasarjana Magister Biologi Universitas Kristen Satya Wacana, Vol. 4, No. 1.
- Mahandaru, D., and I. Dachlan. 2012. Wound Healing / Experimental : The Effect Of Aloe Vera On Healing Process Of Incision Wound. *Jurnal Plastik Rekonstruksi*.
- Maula, I.F. 2014. Uji Antifertilitas Ekstrak N-Heksana Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus*) Galur *Sprague Dawley* Secara In Vitro [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan.
- Maulana, Z., A.T.Fitriyah., Z.Razak. 2016. Peningkatan Diversifikasi dan Kualitas Olahan Buah Naga. Makasar: Dosen Fakultas Pertanian Universitas Bosowa Makassar. *Jurnal Ecosystem* Volume 16 Nomor 3, Oktober – Desember 2016.
- Murniati, H. D.I. Sari. 2014. Uji Pelepasan Dan Aktivitas Glutation Sediaan Krim Tipe A/M Menggunakan Cera Alba. Banjarbaru: Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Lambung Mangkurat.
- Naibaho, O.H., P.V.Y. Yamlean, dan 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 – UNSRAT* Vol. 2 No. 02.
- Natsir, N.A. 2013. Pengaruh Ekstrak Daun Lidah Buaya (*Aloe vera*) Sebagai Penghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Ambon: Fakultas Pendidikan Biologi IAIN Ambon.
- Nontji, W., S. Hariati., dan R. Arafat. 2015. Teknik Perawatan Luka Modern Dan Konvensional Terhadap Kadar Interleukin 1 Dan Interleukin 6 Pada Pasien Luka Diabetik. Makasar: Program Studi Ilmu Keperawatan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

- Perdanakusuma, D.S. 2007. *Anatomi Fisiologi Kulit dan Penyembuhan Luka*. Surabaya: Airlangga University School of Medicine – Dr. Soetomo General Hospital.
- Prasetyo, B.F., I. Wientarsih., B.P Priosoeryanto. 2010. Aktivitas Sediaan Gel Ekstrak Batang Pohon Pisang Ambon dalam Proses Penyembuhan Luka pada Mencit. *Jurnal Veteriner* Vol. 11 No. 2 : 70-73.
- Putri, N.K.M., I W.G. Gunawan., dan I.W. Suarsa. 2015. Aktivitas Antioksidan Antosianin Dalam Ekstrak Etanol Kulit BuahNaga Super Merah (*Hylocereus costaricensis*) dan Analisis Kadar Totalnya. Bali: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran.
- Rahmawati, Banati., Edwi Mahajoeno. 2009. Variasi Morfologi, Isozim Dan Kandungan Vitamin C Pada Varietas Buah Naga. Surakarta: Program Studi Biosains, Program Pascasarjana, Universitas Sebelas Maret.
- Ramadhani, Dwi., I.Kurnia., S.Soetopo., D.Tetrian., I.Ramli., Budiningsih., Andrijono., T.Kurjana., M.D.L.T.Tobing. 2012. Analisis Serta *Stitching* Citra Imunohistokimia MIB-1 dengan *Immunoratio* dan Perangkat Lunak *Nish Element D 2.30*. Jakarta: Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi - BATAN Jakarta.
- Robbins, S.L dan V. Kumar. 2007. "*Basic Phatology Part 1*". Seventh Edition. Terjemahan Jonathan Oswari. *Buku ajar patologi I*. Edisi 7. Jakarta: EGC.
- Saputri, D. N. E., A. P. Dyah., N. Abdulgani. Jumlah Total dan Diferensial Leukosit Mencit (*Mus Musculus*) pada Evaluasi In Vivo Antikanker Ekstrak Spons Laut *Aaptos Suberitoides*. Surabaya: Program Studi Biologi-Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Sigalarki, E.D., A. Tjiptaningrum. 2016. Pengaruh Pemberian Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap Kadar Kolesterol Total. Lampung: Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, Majority, Volume 5, Nomor 5, Desember 2016.
- Sugiaman, V.S. 2011. Peningkatan Penyembuhan Luka di Mukosa Oral Melalui Pemberian *Aloe vera* (Linn.) Secara Topikal. Bandung: Program Studi Kedokteran Gigi, Universitas Kristen Maranatha.
- Syukur. 2015. Mengenal Buah Naga. Jambi: Balai Pelatihan Pertanian Jambi.

- Tania, P.O.A., D. Simmamora., W.D. Parmasari., F. Rahmawati. 2014. Kadar Interleukin 6 (IL-6) Sebagai Indikator Progresivitas Penyakit Reumatoid Arthritis (Ra). Surabaya: Bagian Biomedik Penelitian Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya.
- Tim Pelaksana Skills Lab. 2013. Perawatan Luka, Jahit Luka dan Balutan Sederhana. Padang: Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.
- Triyono, B. 2005. Perbedaan Tampilan Kolagen Di Sekitar Luka Insisi Pada Tikus Wistar Yang Diberi Infiltrasi Penghilang Nyeri Levobupivakain dan yang Tidak diberi Levobupivakain [Tesis]. Semarang: Program Magister Biomedik dan PPDS I Universitas Diponegoro.
- Widada, H., N.S.Sari. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Dan Fotoprotektif Fraksi Etilasetat Ekstrak Etanolik Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). Yogyakarta: Muhammadiyah University of Yogyakarta.
- Widianingsih, M. 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* (F.A.C Weber) Britton & Rose) Hasil Maserasi dan dipekatkan dengan Kering Angin. Kediri: Iik Bhakti Wiyata Kediri.
- Wijaya, Y.A., S. J. R. Kalangi., dan M.M. Kaseke. 2015. Gambaran Reaksi Radang Luka Postmortem Pada Hewan Coba. Manado: Kandidat Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado.
- Wijayakusuma, H. 2008. Atasi Kanker dengan Tanaman Obat. Jakarta: Puspa Swara.
- Yanhendri., S.W. Yenny. 2012. Berbagai Bentuk Sediaan Topikal dalam Dermatologi. Padang: Bagian Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.
- Zakaria, F.R., Irawan, B., Pramudya, S.M., Sanjaya. 2000. Intervensi Sayur dan Buah Pembawa Vitamin C dan E Meningkatkan Sistem Imun Populasi Buruh Pabrik di Bogor. Dalam: Buletin Teknologi dan Industri Pangan. 11 (2): 21-27.