

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI SALEP EKSTRAK
ETANOL KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylicereus
polyrhizus*) DAN LIDAH BUAYA (*Aloe vera*) TERHADAP
KESEMBUHAN LUKA INSISI HEWAN TIKUS PUTIH
(*Rattus novergicus*) BERDASARKAN EKSPRESI
VEGF DAN HISTOPATOLOGI KULIT**

SKRIPSI

Oleh:

GANES SEPTIAN ATU BUANA

135130107111035



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

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI SALEP EKSTRAK
ETANOL KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylicereus
polyrhizus*) DAN LIDAH BUAYA (*Aloe vera*) TERHADAP
KESEMBUHAN LUKA INSISI HEWAN TIKUS PUTIH
(*Rattus novergicus*) BERDASARKAN EKSPRESI
VEGF DAN HISTOPATOLOGI KULIT**

SKRIPSI

Oleh:

GANES SEPTIAN ATU BUANA

135130107111035



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

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI
PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI SALEP EKSTRAK ETANOL
KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylicereus polyrhizus*) DAN LIDAH BUAYA
(*Aloe vera*) TERHADAP KESEMBUHAN LUKA INSISI HEWAN
TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) BERDASARKAN EKSPRESI
VEGF DAN HISTOPATOLOGI KULIT

Oleh:

GANES SEPTIAN ATU BUANA
NIM. 135130107111035

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

Dr. Sri Murwani.drh.MP
NIP. 19630101 198903 2 001

drh. Fajar Shodiq P., M. Biotech
NIK. 19870501 201504 1 001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

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

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ganes Septian Atu Buana

NIM : 135130107111035

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul:

PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI SALEP EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylicereus polyrhizus*) DAN LIDAH BUAYA (*Aloe vera*) TERHADAP KESEMBUHAN LUKA INSISI HEWAN TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) BERDASARKAN EKSPRESI VEGF DAN HISTOPATOLOGI KULIT

Dengan ini menyatakan bahwa:

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

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang,

Yang menyatakan,

(Ganes Septian Atu Buana)

NIM. 135130107111035

KATA PENGANTAR

Penulis mengucapkan puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan segala nikmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Kombinasi Salep Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah (*Hylicereus polyrhizus*) dan Lidah Buaya (*Aloe Vera*) Terhadap Kesembuhan Luka Insisi Hewan Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Berdasarkan Ekspresi VEGF dan Histopatologi Kulit”. Dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas akan adanya bantuan serta dukungan moril dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis berterima kasih kepada :

1. Dr. Sri Murwani, drh., MP selaku dosen pembimbing I atas bimbingan, kesabaran, fasilitas, dan waktu yang telah diberikan.
2. Drh. Herlina Pratiwi, M.Si dan drh. Fajar Shodiq Permata, M. Biotech selaku dosen pembimbing II atas bimbingan, kesabaran, fasilitas, dan waktu yang telah diberikan.
3. Drh. Dodik Prasetyo, M. Vet dan Drh. Aldila Noviatry, M.Biomed selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik, saran dan masukan yang sangat membangun.
4. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
5. Orang tua, kakak, dan adik tercinta untuk kasih sayang, doa, semangat serta dukungan dan pengorbanan baik moril maupun materi selama ini.
6. Novi Andriani, Zulfika Gayoh Kurniawan, Anang Masrur, dan Abdul Haris Hanafi sebagai kelompok Skripsi.
7. Ida Sukma Kuswardhani atas semangat, dorongan, dan waktu yang tak henti-hentinya diberikan.
8. Teman-teman seperjuangan mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan angkatan 2013 yang telah memberikan semangat dan dukungan kepada

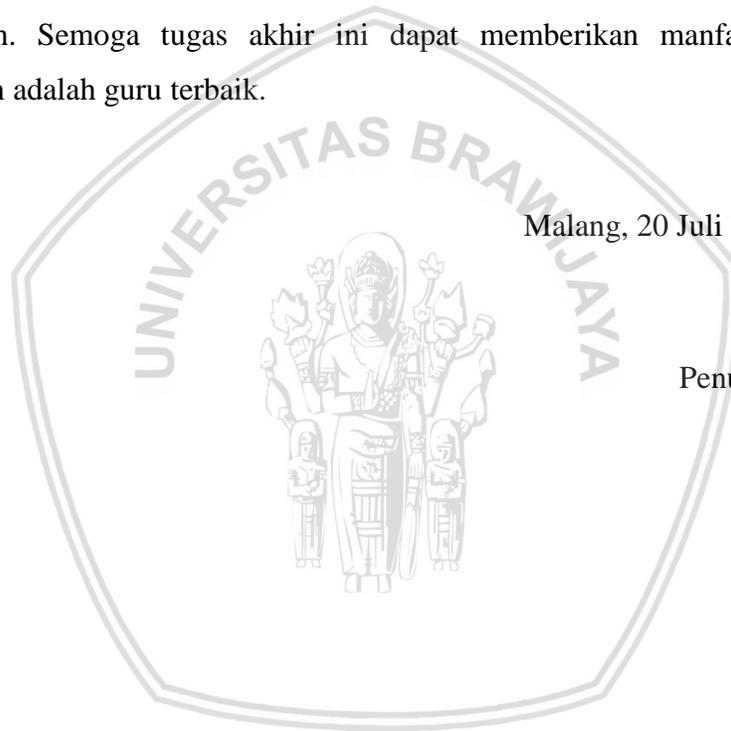
penulis.

9. Seluruh staf dan karyawan FKH, yang telah membantu jalannya proses administrasi dalam membuat tugas akhir.
10. Semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis sangat menerima kritik atau saran yang membangun. Semoga tugas akhir ini dapat memberikan manfaat karena pengalaman adalah guru terbaik.

Malang, 20 Juli 2017

Penulis



**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI SALEP EKSTRAK
ETANOL KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylicereus polyrhizus*)
DAN LIDAH BUAYA (*Aloe vera*) TERHADAP KESEMBUHAN
LUKA INSISI HEWAN TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*)
BERDASARKAN EKSPRESI VEGF DAN
HISTOPATOLOGI KULIT**

ABSTRAK

Kulit buah naga merah mengandung flavonoid sebagai antioksidan dan lidah buaya mengandung asam salisilat sebagai antiinflamasi dalam membantu penyembuhan luka. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi salep ekstrak etanol kulit buah naga merah dan lidah buaya secara topikal terhadap peningkatan ekspresi *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan histopatologi kulit berkaitan dengan penyembuhan luka insisi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap dengan menggunakan 20 ekor tikus jantan strain Wistar 250 gram dengan umur 3 bulan yang dibagi dalam lima kelompok perlakuan. Kelompok kontrol negatif adalah tikus yang tidak diinsisi dan tidak diberi terapi salep kombinasi ekstrak etanol kulit buah naga merah dan lidah buaya, kontrol positif adalah kelompok tikus yang diinsisi tanpa diberi terapi salep kombinasi ekstrak etanol kulit buah naga merah dan lidah buaya, perlakuan 1, 2, dan 3 adalah kelompok tikus yang diinsisi dan diberi terapi salep kombinasi ekstrak etanol kulit buah naga merah dan lidah buaya dosis 5%, 10%, dan 15%. Terapi salep diberikan sehari sekali selama 10 hari. Pewarnaan VEGF menggunakan metode imunohistokimia sedangkan pengukuran luas area ekspresi VEGF menggunakan *software Immunoratio* dan dianalisis secara kuantitatif dengan uji *one way ANOVA* dengan $\alpha = 0,05$ sedangkan histopatologi kulit tiap perlakuan diamati menggunakan pewarnaan *Hematoxylin* (HE) dan dianalisis secara deskriptif. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa pemberian salep kombinasi ekstrak etanol kulit buah naga merah dan lidah buaya dengan dosis 15% merupakan dosis terbaik yang dapat meningkatkan ekspresi VEGF dan dapat memperbaiki struktur histopatologi kulit pada jaringan luka insisi.

Kata Kunci :Luka insisi, Kulit Buah Naga Merah, Lidah Buaya, VEGF,
Histopatologi Kulit

**THE ETHANOL EFFECT OF COMBINATION DRAGON FRUIT SKIN
(*Hylicereus polyrhizus*) AND ALOE (*Aloe vera*) EXTRACT
OINTMENT ON HEALING OF RAT (*Rattus novergicus*)
INCISION WOUND BASED ON VEGF
EXPRESSION AND SKIN
HISTOPATHOLOGICAL**

ABSTRACT

The dragon fruit skin contained flavonoids as antioxidants and aloe vera contained salicylic acid as antiinflamm and antibacterial that help on healing wound. The present study determines the ethanol effect of combination dragon fruit skin and aloe extract ointment to *vascular endothelial growth factor* (VEGF) expression and skin histopathological. The research method used CRD (Complete Randomized Design) contains of 20 rats for five treatment group of 3 months male Wistar rats with 250 grams of weight. Negative group was the group without therapy and incision, positive group was the group which is incised without therapy, group 1 was incised group with 5% dose treatment of combination dragon fruit skin and aloe vera ethanol extract ointment, second group and third group were incised group with 10% and 15% dose treatment of combination dragon fruit skin and aloe vera ethanol extract ointment. The treatment was given once a day for 10 days. VEGF stained with *immunohistochemistry* and the measurement of expression area VEGF with *Immunoratio* and analyzed quantitatively with *one way ANOVA* and Tukey test ($p < 0,05$), histopathological observation stained with *Hematoxylin* (HE) and analyzed descriptively. The results of this research, combination dragon fruit skin and aloe vera ethanol extract ointment at dose 15% is the optimum dose that increased VEGF expression and repaired the histopathological structure of the wound healing.

Keywords : incision wound, dragon fruit skin, aloe vera, VEGF, skin
histopathological

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN PROPOSAL SKRIPSI.....	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG.....	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Batasan Masalah.....	5
1.4. Tujuan Penelitian	6
1.5. Manfaat Penelitian	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1. Struktur Kulit	7
2.2. Pengertian Luka	11
2.3. Mekanisme Luka.....	13
2.4. Fase Penyembuhan Luka.....	14
2.4.1. Fase Hemostasis	15
2.4.2. Fase Inflamasi	15
2.4.3. Fase Proliferasi.....	17
2.4.4. Fase Maturasi	18
2.5. Faktor-faktor Yang Mempengaruhi Kesembuhan Luka	18
2.6. <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> (VEGF)	19

2.7. Lidah Buaya (<i>Aloe vera</i>)	20
2.7.1. Asam Salisilat	22
2.7.2. Saponin.....	23
2.7.3. Tanin	23
2.7.4. Vitamin C dan Vitamin E.....	24
2.8. Buah Naga Merah	24
2.8.1. Flavonoid	26
2.8.2. Vitamin C.....	27
2.8.3. Betasianin.....	28
2.9. Tikus Putih (<i>Rattus novergicus</i>).....	28
2.10. Definisi Salep.....	30
BAB 3 KERANGKA KONSEP.....	32
3.1. Kerangka Konsep.....	32
3.2. Hipotesa Penelitian.....	36
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN.....	37
4.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	37
4.2. Alat dan Bahan.....	37
4.3. Rancangan Penelitian.....	38
4.4. Variabel Penelitian.....	39
4.5. Tahapan Penelitian.....	39
4.6. Prosedur Kerja.....	40
4.6.1. Persiapan Hewan Coba	40
4.6.2. Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga dan Lidah Buaya.....	40
4.6.3. Pembuatan Salep Kombinasi Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah dan Lidah Buaya.....	41
4.6.4. Perlakuan Sayatan pada Hewan Coba.....	42
4.6.5. Pemberian Terapi Salep Buah Naga Kombinasi Lidah Buaya	42
4.6.6. Pengambilan dan Pengamatan Preparat Histopatologi Kulit	43
4.6.7. Ekspresi VEGF dengan Imunohistokimia.....	45
4.6.7. Analisa Data.....	46
BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN.....	47
5.1 Pengaruh salep Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah Kombinasi Lidah	

Buaya Terhadap Peningkatan Ekspresi VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*)47

5.2 Pengaruh Salep Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah Kombinasi Lidah Buaya Terhadap Gambaran Histopatologi Kulit Tikus (*Rattus novergicus*) Hewan Model Luka Insisi62

BAB 6 PENUTUP.....73

DAFTAR PUSTAKA74

LAMPIRAN.....81



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Kandungan Lidah Buaya.....	21
2.2 Kandungan Buah Naga Merah.....	25
5.1 Hasil Uji BNJ Ekspresi <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> (VEGF).....	56

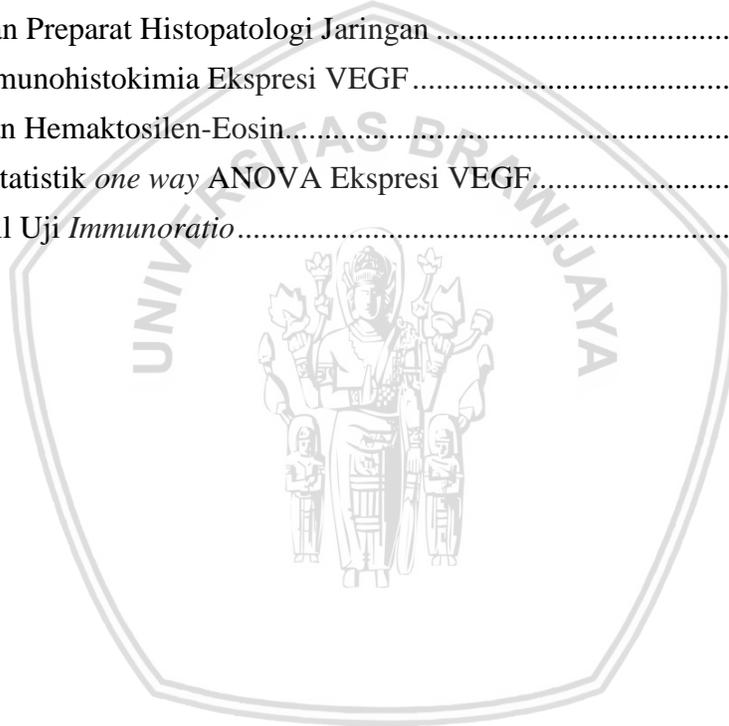


DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Gambar Lapisan Kulit.....	7
2.2. Lapisan Epidermis Kulit	9
2.3. Struktur Histologi Kulit Normal	10
2.4. Lidah Buaya (<i>Aloe vera</i>)	21
2.5. Buah naga merah (<i>Hylicereus polyrhizus</i>).....	26
2.6. Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	30
3.1. Kerangka Konsep.....	32
5.1. Gambaran Makroskopis dari jaringan kulit tikus.....	48
5.2. Ekspresi VEGF kelompok K-	50
5.3. Ekspresi VEGF kelompok K+	51
5.4. Ekspresi VEGF kelompok P1	52
5.5. Ekspresi VEGF kelompok P2	53
5.6. Ekspresi VEGF kelompok P3	54
5.7A. Histopatologi luka kelompok kontrol negatif (K-)	65
5.7B. Histopatologi luka kelompok kontrol positif (K+)	65
5.7C. Histopatologi luka kelompok perlakuan 1 (P1)	66
5.7D. Histopatologi luka kelompok perlakuan 2 (P2)	66
5.7E. Histopatologi luka kelompok perlakuan 3 (P3)	67

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Laik Etik Kerangka Operasional Penelitian.....	81
2. Perhitungan Dosis Salep Kombinasi Kulit Buah Naga Merah dan Lidah Buaya	82
3. Ekstrak Kulit Buah Naga Merah dan Lidah Buaya	85
4. Kerangka Operasional penelitian	88
5. Pembuatan Preparat Histopatologi Jaringan	89
6. Metode Imunohistokimia Ekspresi VEGF.....	90
7. Pewarnaan Hemaktosilen-Eosin.....	91
8. Analisa Statistik <i>one way</i> ANOVA Ekspresi VEGF.....	92
9. Data Hasil Uji <i>Immunoratio</i>	95



DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

±	: kurang lebih
%	: persen
°C	: derajat celcius
µm	: mikrometera
ANOVA	: Analysis Of Variance
Cm	: centimeter
DAB	: diamano benzidine
ECM	: <i>extracellular matrix</i>
EGF	: <i>epidermal growth factor</i>
FBS	: <i>fetal bovine serum</i>
Fe ²⁺	: ferro
FGF	: <i>fibroblas growth factor</i>
GAG	: <i>glycosaminoglycan</i>
H ₂ O ₂	: hidrogen peroksida
HE	: hemaktosien eosin
IGF	: <i>insulin-like growth factor</i>
IHK	: imunohistokimia
IL-1	: interleukin 1
IL-6	: interleukin 6
Kg	: kilogram
KGF	: <i>keratinocyte growth factor</i>
Mg	: magnesium
MMP	: matriks metalloproteinase
NaCl	: natrium klorida
O ²	: oksigen
O ²⁻	: oksigen superoksida
PBS	: phospat buffered saline
PDGF	: <i>platelet derived growth factor</i>
pH	: potensial hidrogen
PMN	: polimorfonuklear
RAL	: rancangan acak lengkap
SA-HRP	: <i>strep avidin horse radish peroxidine</i>
SPSS	: <i>statistical package for the social sciences</i>
TGF β	: <i>transforming growth factor beta</i>

TNF α : *tumor necrosis factor alfa*
VEGF : *vascular endothelial growth factor*
VEGFR-1 : *Vascular endothelial growth factor receptor 1*
VEGFR-2 : *Vascular endothelial growth factor receptor 2*



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka merupakan kerusakan fisik sebagai akibat dari terbukanya atau hancurnya kulit yang menyebabkan ketidakseimbangan fungsi dan anatomi kulit normal. Luka ini mengakibatkan kehilangan kesinambungan dari epitel dengan atau tanpa kehilangan dari jaringan penunjangnya (Potter dan Perry, 2006). Luka insisi adalah suatu tindakan yang dilakukan untuk membuka kulit atau organ tanpa mengambil organ atau kulit tersebut sehingga menghasilkan luka. Ketika terjadi luka akan menimbulkan efek seperti hilangnya seluruh atau sebagian fungsi organ dan lainnya berupa pendarahan dan pembekuan darah, kontaminasi bakteri, dan kematian sel. Luka dibagi menjadi dua yaitu luka terbuka dan luka tertutup (Sjamsuhidayat dan Jong, 2005).

Penyembuhan luka adalah proses tubuh untuk memperbaiki kerusakan jaringan agar dapat berfungsi kembali. Adapun fase penyembuhan luka meliputi fase inflamasi, proliferasi, dan remodeling. Proses reepitalisasi terjadi migrasi, yang dimulai dari sisa folikel rambut yang terletak di lapisan dermis dan tepi luka pada stratum basalis menuju stratum korneum yang terletak di bagian terluar epidermis (Rahayu dkk., 2010). *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) merupakan salah satu *growth factor* yang berperan dalam fase penyembuhan luka. VEGF muncul ditandai dengan adanya kesembuhan luka dari fase inflamasi menuju proliferasi.

VEGF merupakan faktor angiogenesis yang berfungsi untuk membentuk pembuluh darah baru pada jaringan luka. Faktor lain yang mempengaruhi kesembuhan luka adalah kolagen yang berperan dalam kekuatan kulit (*tensile strength*). Keseimbangan sintesis kolagen dan degradasinya memiliki peran penting dalam komponen penyusunan penyembuhan luka. Ketidakseimbangan komponen penyusunan kesembuhan luka akan bersifat patologis seperti, pembentukan sikatrik, keloid dan hipertropi (Sabirin, 2013). Dalam upaya mencegah kematian sel dan mempercepat penyembuhan luka dapat dimanfaatkan tanaman kulit buah naga merah dan lidah buaya. Penggunaan obat tradisional seperti tanaman berkhasiat obat saat ini berlangsung di zaman modern ini, bahkan cenderung meningkat. Beberapa tanaman yang memiliki banyak khasiat dalam mengobati penyakit diantaranya lidah buaya (*Aloe vera L*) dan kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).

Lidah buaya digunakan sebagai pertolongan pertama pada bagian tubuh yang terluka. Lidah buaya mengandung banyak zat-zat aktif yang sangat bermanfaat dalam mempercepat penyembuhan luka karena mengandung vitamin E dan vitamin C berperan sangat penting sebagai *growth factor*. *Growth factor* ini berkontribusi dalam penyembuhan luka dengan menstimulasi fibroblas (*connective tissue cells*) untuk memproduksi kolagen lebih banyak, dan meningkatkan reepitelisasi epidermis yang akan meningkatkan proses remodeling pada luka dan mengisi daerah luka. Bekerja secara sinergis, lidah buaya mempertahankan suasana *moist* pada luka dan pada saat yang sama membawa oksigen untuk penetrasi ke dalam luka, menambah regenerasi sel (Atik, 2010). Suasana *moist* diperlukan untuk mempertahankan

kelembaban luka dengan menggunakan balutan penahan kelembaban, sehingga penyembuhan luka dan pertumbuhan jaringan dapat terjadi secara alami (Sinaga dan Tarigan, 2012). Menurut Chindo (2015), daun lidah buaya memiliki agen anti inflamasi diantaranya adalah asam salisilat, *manosa-6-fosfat*, *B-sitosterol*, juga komponen *lignin*, *saponin* dan *anthaquinone* yang terdiri atas *aloin*, *barbaloin*, *anhtranol*, *anthracene*, *aloetic acid*, *aloe emodin* merupakan bahan dasar obat yang bersifat sebagai antibiotik dan penghilang rasa sakit.

Buah naga merah yang dikonsumsi masyarakat luas umumnya adalah bagian daging buah, sehingga kulit buah sering terbuang (Saati, 2010). Menurut Putri, dkk (2015) kulit buah naga merah mengandung vitamin C, vitamin E, vitamin A, alkaloid, terpenoid, flavonoid, tiamin, niasin, piridoksin, kobalamin, fenolik, karoten, fitoalbumin. Aktivitas antioksidan kulit buah naga merah lebih besar dibandingkan aktivitas antioksidan pada daging buahnya. Menurut Anastasia (2010), kulit buah naga merah memiliki kemampuan sebagai antioksidan untuk memerangi radikal bebas sehingga dapat menurunkan kerusakan jaringan kulit.

Penggunaan lidah buaya dan kulit buah naga merah untuk menyembuhkan luka dapat dipermudah dengan membuat dalam bentuk sediaan seperti salep, krim dan gel. Pada penelitian ini menggunakan salep karena memiliki beberapa kelebihan seperti sebagai pelindung untuk mencegah kontak permukaan kulit dengan dengan rangsang kulit, stabil dalam penggunaan dan penyimpanan, mudah dipakai, mudah terdistribusi merata (Lazuardi, 2008). Salep merupakan bentuk semi padat, biasanya mengandung obat untuk pemakaian pada kulit atau pada membrane mukosa. Sifat dasar salep tidak

mengandung air, tidak larut air, tidak tercuci oleh air. Salep basis tercuci bersifat anhidrus, larut dalam air dan mudah dihilangkan dari kulit dengan dicuci dengan air (Ansel dkk, 2005).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi salep kulit buah naga merah (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera L.*) terhadap kesembuhan luka insisi hewan model tikus putih (*Rattus norvegicus*) di lihat berdasarkan dari ekspresi VEGF dan histopatologi kulit pada jaringan luka insisi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan diatas, maka perumusan masalah yang menjadi fokus dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah terapi kombinasi salep kulit buah naga merah (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera L.*) berpengaruh terhadap ekspresi VEGF luka insisi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*)?
2. Apakah terapi kombinasi salep kulit buah naga merah (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera L.*) berpengaruh terhadap perbaikan struktur histopatologi kulit pada tikus putih (*Rattus norvegicus*)?

1.3 Batasan Masalah

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

1. Hewan model yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan strain Wistar berumur berumur 8-12 minggu dengan berat tubuh 150-250 gram (Baroroh, 2011). Tikus putih (*Rattus novergicus*) diperoleh dari Peternakan Tikus Bapak Purnomo Dau, Malang yang telah mendapatkan persetujuan laik etik penelitian dari Komisi Etik Penelitian (*Animal Care and Use Committe*) Universitas Brawijaya (**Lampiran 1**).
2. Hewan coba dianastesi terlebih dahulu dengan diinjeksi ketamin dosis 10 mg/kg BB secara intramuskuler (Danu, 2012).
3. Pembuatan model luka insisi dengan panjang 2 cm dan kedalaman sampai subkutan di daerah punggung tikus. Insisi dilakukan dengan menyayat kulit menggunakan scalpel (Sudrajat, 2006).
4. Kulit buah naga merah (*Hylicereus polyrhizus*) yang digunakan didapatkan dari Agro Kebun Naga Bululawang, Malang dengan grade B dan berat buah antara 350-500 gram (Direktorat Jenderal Holtikultura, 2009) dan lidah buaya (*Aloe vera L.*) yang digunakan spesies *Aloe barbandesis miller* dengan ukuran 121 cm, berat per batang \pm 4 kg (Hayati, 2009) didapatkan di Kebun Budidaya Lidah Buaya Bapak Ali Aji Ngaglik, Batu.
5. Terapi salep hidrokarbon kombinasi kulit buah naga merah (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera L.*) konsentrasi 5%, 10%, dan 15% diberikan sehari satu kali selama 10 hari sebanyak 50 mg (**Lampiran 2**).
6. Pengamatan ekspresi VEGF dilakukan dengan metode *immunohistokimia* (Samiasih, 2010).

7. Pengamatan struktur histopatologi kulit dengan mengidentifikasi jaringan granulasi yang terdiri atas sel radang, fibroblast, dan pembuluh darah baru dengan pewarnaan *Hematoksilen-Eosin* (HE) (Febram, 2010).

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah yang telah diuraikan diatas, maka tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh terapi kombinasi salep kulit buah naga merah (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera L.*) terhadap peningkatan ekspresi VEGF pada luka insisi tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Mengetahui pengaruh terapi kombinasi salep kulit buah naga merah (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera L.*) terhadap struktur histopatologi kulit pada luka insisi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

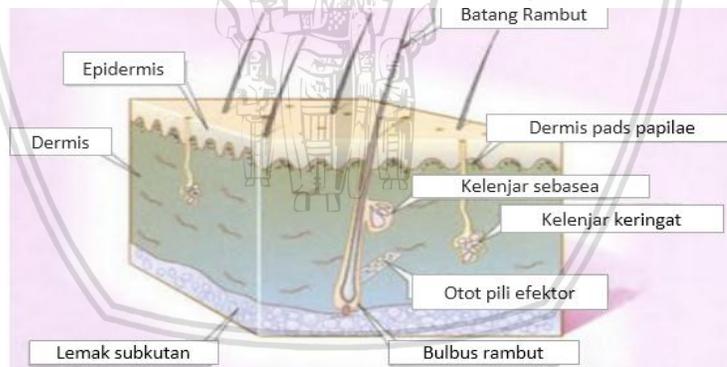
1.5 Manfaat Hasil Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian salep ekstrak kombinasi kulit buah naga merah (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera L.*) pada proses kesembuhan luka insisi pada punggung tikus putih sebagai obat alternatif dan memberikan informasi yang berguna untuk penelitian selanjutnya.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Struktur Kulit

Menurut Baumann *et al.* (2009) struktur kulit secara mikroskopis terdiri atas epidermis, dermis dan subkutis (**Gambar 2.1**). Kulit berfungsi sebagai pelindung dari berbagai macam rangsangan dan gangguan dari luar. Fungsi perlindungan kulit terjadi melalui mekanisme biologis, seperti pembentukan lapisan tanduk secara terus-menerus, respirasi dan pengaturan suhu tubuh, produksi sebum dan keringat dan pembentukan pigmen melanin untuk melindungi kulit dari bahaya sinar ultraviolet matahari, sebagai peraba dan perasa, serta pertahanan terhadap infeksi dari luar (Mutschler, 2010).



Gambar 2.1 Struktur Lapisan Kulit (Brown dan Burns, 2005)

Secara histologis, kulit normal terdiri atas dua lapisan (Eroschenko, 2012), yaitu:

a. Epidermis

Epidermis adalah lapisan nonvaskular yang dilapisi epitel berlapis gepeng dengan lapisan tanduk dengan jenis dan lapisan sel yang berbeda-beda. Terdapat empat jenis

sel di epidermis kulit, dengan keratinosit sebagai sel dominan. Keratinosit membelah, tumbuh bergerak ke atas, dan mengalami keratinisasi atau kornifikasi, dan membentuk lapisan epidermis protektif bagi kulit. Selain itu terdapat juga jenis sel lainnya yang jumlahnya lebih sedikit di epidermis, yaitu melanosit, sel langerhans, dan sel Merkel. Terdapat lima lapisan sel pada epidermis, yaitu:

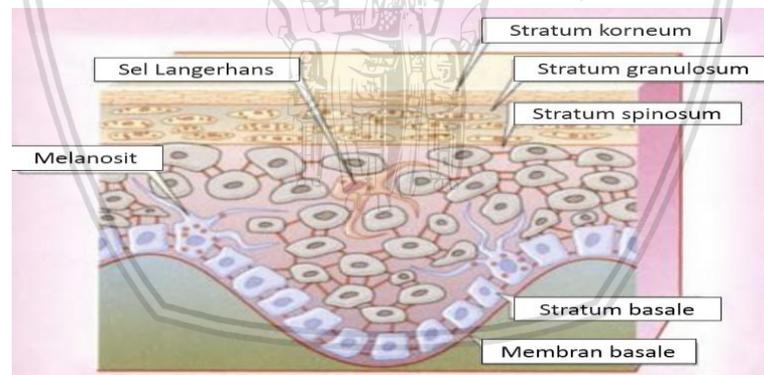
1) Stratum basal (*germinativum*), adalah lapisan paling dalam atau dasar di epidermis.

Lapisan ini terdiri dari satu lapisan sel kolumnar hingga kuboid yang terletak pada membran basalis yang memisahkan epidermis dan dermis. Sel di stratum basal berfungsi sebagai sel induk bagi epidermis. Karena itu, di lapisan ini banyak ditemukan aktivitas mitosis. Sel membelah dan mengalami pematangan sewaktu bermigrasi ke atas menuju lapisan superfisial.

2) Stratum spinosum, terdiri dari empat sampai enam tumpukan sel. Pada sediaan histologik rutin, sel di lapisan ini menciut. Akibatnya, ruang interseluler memperlihatkan banyak tonjolan sitoplasma, atau spina (duri), yang keluar dari permukaannya. Pembentukan filamen keratin berlanjut di lapisan ini yang kemudian tersusun membentuk berkas tonofilamen. Tonofilamen mempertahankan kohesi diantara sel dan menghasilkan resistensi terhadap abrasi epidermis.

3) Stratum granulosum, terdiri dari 3-5 lapis sel gepeng yang berisi granula keratohialin basofilik. Kombinasi granula keratohialin dan tonofilamen di sel ini menghasilkan keratin lunak kulit.

- 4) Stratum lucidum, yang translusen dan kurang jelas. Lapisan ini hanya ditemukan pada kulit tebal. Sel-selnya tersusun rapat dan tidak memiliki nukleus atau organel dan telah mati. Sel-sel gepeng ini mengandung filamen keratin yang padat.
- 5) Stratum korneum, adalah lapisan kulit kelima dan paling luar. Semua nukleus dan organel telah lenyap dari sel. Stratum korneum terutama terdiri dari sel mati yang gepeng berisi filamen keratin lunak. Sel superfisial berkeratin di lapisan ini secara terus-menerus dilepaskan atau mengalami deskuamasi serta diganti oleh sel baru yang muncul dari stratum basal di sebelah dalam. Selama proses keratinisasi, enzim-enzim hidrolitik merusak nukleus dan organel sitoplasma yang kemudian lenyap ketika sel terisi oleh keratin.



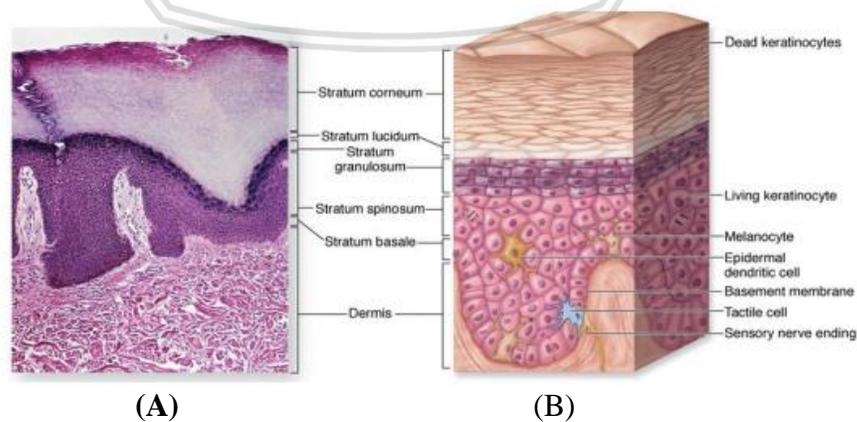
Gambar 2.2 Lapisan Epidermis Kulit (Brown *and* Burns, 2005)

b. Dermis

Dermis adalah lapisan jaringan ikat yang mengikat epidermis. Dermis juga mengandung derivatif epidermal misalnya kelenjar keringat, kelenjar sebacea, dan folikel rambut. lapisan dermis dibentuk oleh dua lapisan, yaitu stratum papillare dan stratum reticulare. Stratum papillare dibentuk oleh banyak tonjolan ke atas pada

lapisan superfisial dermis. Tonjolan ini disebut papillae, yang saling menjalin dengan evaginasi epidermis, disebut *cristae cutis (epidermal ridges)*. Lapisan ini terdiri atas jaringan ikat longgar tidak teratur, kapiler, pembuluh darah, fibroblas, makrofag, dan sel jaringan ikat longgar lainnya.

Stratum reticulare adalah lapisan dermis yang lebih dalam. Lapisan ini lebih dalam dan ditandai oleh serat jaringan ikat padat tidak teratur (terutama kolagen tipe I), dan kurang seluler dibandingkan dengan stratum papillare. Tidak terdapat batas yang jelas antara kedua lapisan dermis karena stratum papillare menyatu dengan stratum reticulare. Dibawah lapisan dermis terdapat hipodermis, atau jaringan subkutan, yaitu jaringan ikat longgar yang mengikat kulit secara longgar pada organ-organ dibawahnya, memungkinkan kulit bergeser diatasnya. Hipodermis sering mengandung sel-sel lemak dengan jumlah yang bervariasi (Mescher, 2012). Selain itu, pada lapisan hipodermis juga terdapat pembuluh darah, saraf, dan limfe (Wasitaatmadja, 2011).



Gambar 2.3 Struktur Histologi Kulit Normal (Mescher, 2012).
Keterangan : (A) Histologi pewarnaan Hemaktosilen Eosin 100x.
(B) Skema struktur kulit.

Menurut Pradanakusuma (2007) secara embriologis kulit terdiri atas dua lapisan, yaitu lapisan luar dan lapisan dalam. Lapisan luar adalah epidermis yang merupakan epitel berasal dari ektoderm, sedangkan lapisan dalam berasal dari mesoderm yaitu dermis atau korium yang merupakan jaringan ikat (Pradanakusuma, 2007).

Lapisan dermis merupakan lapisan jaringan ikat yang terletak di bawah epidermis. dermis merupakan anyaman serat-serat yang saling mengikat dan sebagian besar termasuk serat kolagen dan sebagian lainnya merupakan serat elastin. Serat kolagen dan elastin terbenam pada substansi dasar yang terdiri atas glikosaminoglikan. Dermis terdiri atas fibroblas berfungsi membentuk jaringan ikat pada dermis, sel mast menghasilkan sekret di seluruh dermis, dan makrofag merupakan sel fagositik dari sumsum tulang (Brown and Burns, 2005).

2.2 Luka

Luka adalah kerusakan fisik sebagai akibat dari terbukanya atau hancurnya kulit yang menyebabkan ketidakseimbangan fungsi dan anatomi kulit normal (Nagori and Solanki, 2011). Luka juga didefinisikan sebagai gangguan dari seluler, anatomi, dan fungsi yang berkelanjutan dari jaringan hidup yang disebabkan oleh trauma fisik, kimia, suhu mikroba, atau imunologi yang mengenai jaringan (Thakur *et al.*, 2011). Disebutkan juga luka adalah kerusakan dari integritas epitel kulit diikuti dengan terganggunya struktur dan fungsi dari jaringan normal sebagai akibat dari luka memar, luka lebam, luka robek, luka koyak atau luka lecet (Soni and Singhai, 2012).

Luka ini mengakibatkan kehilangan kesinambungan dari epitel dengan atau tanpa kehilangan dari jaringan penunjang (Nagori *and* Solanki, 2011).

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

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

Menurut Nagori *and* Solanki (2011), klasifikasi luka berdasarkan penyebab dasar dari luka meliputi:

- 1) Luka terbuka terjadi perdarahan yang terlihat secara kasat mata dimana darah keluar dari tubuh. Luka terbuka meliputi luka insisi, luka laserasi, abrasi atau luka dangkal, luka tusukan kecil, luka penetrasi, dan luka tembak.

- 2) Luka tertutup adanya darah keluar dari sistem sirkulasi darah tetapi tersisa di dalam tubuh dan terlihat dalam bentuk luka memar. Luka tertutup meliputi benturan atau luka memar, hematoma, dan cidera yang keras.

2.3 Mekanisme Luka

Menurut Baroroh (2011) mekanisme terjadinya luka adalah sebagai berikut :

- 1) Luka insisi, merupakan luka insisi terjadi karena teriris oleh instrumen yang tajam. Misal yang terjadi akibat pembedahan.
- 2) Luka bersih (aseptik) biasanya tertutup oleh sutura setelah seluruh pembuluh yang luka diikat (diligasi).
- 3) Luka memar, merupakan luka yang terjadi akibat benturan oleh suatu tekanan dan dikarakterasikan oleh cedera pada jaringan lunak, perdarahan dan bengkak.
- 4) Luka lecet, merupakan luka yang terjadi akibat kulit bergesekan dengan benda lain yang biasanya dengan benda yang tidak tajam.
- 5) Luka tusuk, merupakan luka yang terjadi akibat benda, seperti peluru atau pisau yang masuk kedalam kulit dengan 11 diameter yang kecil.
- 6) Luka gores, merupakan luka yang terjadi akibat benda yang tajam seperti kaca atau kawat.
- 7) Luka tembus, merupakan luka yang menembus organ biasanya pada bagian awal luka masuk diameternya kecil tetapi pada bagian ujung lukanya akan melebar.

- 8) Luka bakar, decubitus atau luka tekan karena proses tertekan yang lama di area tertentu bagian tubuh. Tekanan tersebut menyebabkan gangguan sirkulasi, memperberat nekrosis, timbulnya lecet kemerahan.
- 9) Luka stasis vena biasanya di ekstremitas bawah. Merupakan respon local hipoksia yang dialami oleh bagian tubuh tertentu.

2.4 Fase Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka adalah suatu usaha untuk memperbaiki kerusakan jaringan akibat adanya cedera. Hasil penyembuhan luka yang terganggu seperti luka akut yang penanganannya terlambat dan luka kronis pada umumnya luka tersebut gagal untuk maju ke tahapan penyembuhan luka yang normal. Ketika luka terjadi akan mengakibatkan efek seperti hilangnya seluruh atau sebagian fungsi organ dan lainnya berupa respon stres simpatis, perdarahan dan pembekuan darah, kontaminasi bakteri, kematian sel (Chrysmen *et al.*, 2010).

Proses setelah luka yang terjadi adalah proses penyembuhan luka yang dapat dibagi dalam tiga fase yaitu fase inflamasi, proliferasi, dan remodelling jaringan. Apabila terjadi luka perlu penanganan yang tepat dan benar agar tidak terjadi komplikasi misalnya infeksi, hematoma, serosa, perdarahan, *dihiscence* (terjadinya lubang akibat lepasnya lapisan luka operasi yang dapat terjadi sebagian, dipermukaan, atau di seluruh lapisan dengan robekan total), *eviceration* (ekstrusi alat viscerata keluar dari tubuh, khususnya melalui suatu insisi bedah), dan keloid (Chrysmen *et al.*, 2010).

2.4.1 Fase Hemostasis

Merupakan peristiwa pada awal terjadinya jejas. Pada fase ini terjadi respon dari komponen vaskuler berupa vasokonstriksi pembuluh darah dan hemostatis. Proses ini sangat cepat hanya berlangsung 5 - 10 menit (Mackay and Miller, 2003).

2.4.2 Fase inflamasi

Menurut Triyono (2005), proses inflamasi sangat erat berhubungan dengan penyembuhan luka. Tanpa adanya inflamasi tidak akan terjadi proses penyembuhan luka, luka akan tetap menjadi sumber nyeri sehingga proses inflamasi dan penyembuhan luka akan cenderung menimbulkan nyeri. Fase inflamasi terjadi pada hari 0 – 5. Proses penyembuhan terjadi akibat luka. Luka karena trauma atau luka karena pembedahan menimbulkan kerusakan jaringan dan mengakibatkan perdarahan. 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. Pada penyembuhan luka normal tampaknya kehadiran sel-sel ini tidak begitu penting sebab penyembuhan luka dapat terjadi tanpa keberadaan sel-sel ini. Adanya sel ini menunjukkan bahwa luka terkontaminasi bakteri.

Bila tidak terjadi infeksi sel-sel PMN berumur pendek dan jumlahnya menurun dengan cepat setelah hari ketiga. Elemen imun seluler yang berikutnya adalah makrofag. Sel ini turunan dari monosit yang bersirkulasi,

terbentuk karena proses kemotaksis dan migrasi. Muncul pertama 48 – 96 jam setelah terjadi luka dan mencapai puncak pada hari ke 3 . Makrofag berumur lebih panjang dibanding dengan sel PMN dan tetap ada di dalam luka sampai proses penyembuhan berjalan sempurna. Sesudah makrofag akan muncul limfosit T dengan jumlah bermakna pada hari ke 5 dan mencapai puncak pada hari ke 7. Sebaliknya dari PMN, makrofag dan limfosit T penting keberadaanya 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. Inflamasi bertujuan untuk menghancurkan mikroorganisme yang menginvasi tubuh serta menghilangkan aktivitas toksinnya dan mempersiapkan jaringan bagi kesembuhan. Neutrofil sebagai responden pertama adalah sel yang sangat motil yang masuk ke luka dalam waktu satu jam dan akan terus meningkat dalam waktu 48 jam pertama setelah terjadi luka.

Neutrofil memiliki tiga mekanisme utama untuk menghancurkan debris dan bakteri. Pertama, neutrofil dapat langsung menelan dan menghancurkan partikel asing atau yang disebut dengan fagositosis. Kedua, neutrofil dapat mendegradulasi dan melepaskan berbagai zat beracun (laktoferin, protease, neutrofil elastase, dan cathepsin) yang akan menghancurkan bakteri. Ketiga,

neutrofil juga dapat menghasilkan kromatin dan protease perangkap yang menangkap dan membunuh bakteri dalam ruang ekstraseluler. Kemudian neutrofil akan mengalami apoptosis atau difagositosis oleh makrofag. Makrofag adalah sel fagosit yang jumlahnya akan mencapai puncak dalam luka pada 48-72 jam setelah terjadi luka.

2.4.3 Fase proliferasi

Fase proliferasi menurut Gurtner (2007) yaitu berlangsung umumnya mulai hari ke-4. Luka insisi partial thickness, migrasi keratinosit yang berada pada tepi luka telah mulai bekerja beberapa jam pasca trauma, menginduksi terjadinya reepitalisasi yang biasanya menutup luka dalam 5-7 hari. Setelah reepitalisasi, membran basalis terbentuk antara lapisan epidermis dan dermis. Pembentukan kembali dermis dibantu oleh proses angiogenesis. Fase ini matriks fibrin yang di dominasi oleh platelet dan makrofag digantikan oleh jaringan granulasi yang terusun dari kumpulan fibroblas, makrofag, dan sel endotel yang membentuk matriks ekstraseluler dan neovaskuler. Fibroblas memiliki peran yang sangat penting dalam fase proliferasi. Fibroblas memproduksi matriks ekstraseluler yang akan mengisi kavitas luka dan untuk migrasi keratinosit. Makrofag memproduksi *growth factor* seperti PDGF dan TGF- β yang menginduksi fibroblas untuk berproliferasi, migrasi dan membentuk matriks ekstraseluler. Fibroblas mencerna matriks fibrin dan menggantikannya dengan GAG dengan bantuan MMP. Matriks ekstraseluler akan digantikan oleh kolagen tipe III yang juga diproduksi oleh fibroblas.

Kolagen tipe III akan digantikan oleh kolagen tipe I pada fase maturasi (Schulz, 2007). Fibroblas akan segera menghilang setelah matriks kolagen mengisi kavitas luka dan pembentukan neovaskular akan menurun melalui proses apoptosis. Selanjutnya fase proliferasi mulai berhenti dan fase remodeling mulai berjalan.

2.4.4 Fase maturasi

Proses penyembuhan luka dikarakterisasi oleh aktivitas metabolik yang tinggi. Aktivitas metabolik yang tinggi ini menyebabkan proliferasi yang ekstensif pada sel inflamatori, sel epitelial, sel endotel untuk *angiogenesis*, dan fibroblast yang aktif meletakkan matriks kolagen untuk penyembuhan luka. Selama fase remodeling, kebutuhan nutrisi untuk penyembuhan luka akan berkurang. Mulanya, luka bersifat lunak, struktur seluler kurang kuat, kemudian melalui proses remodeling, scar berubah menjadi bentuk akhir yang matang pada penyembuhan luka dengan mendekati jaringan yang terluka. Fase ini berlangsung mulai pada hari ke 21 dan dapat berlangsung sampai berbulan-bulan dan berakhir bila tanda radang sudah hilang (Molnar, 2007).

2.5 Faktor-faktor yang mempengaruhi kesembuhan luka

Seluruh proses peradangan bergantung pada sirkulasi darah ke daerah yang terluka. Jika suplai darah ke suatu daerah kurang, maka proses peradangan akan berjalan sangat lambat, infeksi menetap, dan terjadi persembuhan yang buruk. Selain itu, proses kesembuhan luka dipengaruhi oleh umur, nutrisi yang tidak seimbang,

keberadaan benda asing, radiasi, pengobatan inflamasi dan faktor kesehatan individu misalnya immunosupresan, stress dan diabetes mellitus (Price dan Wilson, 1992).

2.6 *Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)*

Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) merupakan faktor angiogenesis yang berfungsi untuk membentuk pembuluh darah baru pada jaringan luka. Pada proses kesembuhan luka, VEGF akan muncul pada fase proliferasi. Munculnya VEGF menandakan adanya kesembuhan luka dari fase inflamasi menuju proliferasi (Sabirin dkk., 2013). Produksi VEGF dipengaruhi oleh faktor pertumbuhan lain seperti TGF- β dan PDGF. Produksi dan aktivitas VEGF dalam proses angiogenesis akan meningkat pada fase awal terjadinya luka yaitu saat pembuluh darah mengalami hipoksia, setelah itu VEGF akan menurun saat neovaskularisasi telah sempurna serta perfusi di area luka telah kembali normal (Nofikasari dkk, 2016)

Peranan VEGF adalah sebagai mitogen yang terbatas pada sel endotel vaskular. *Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)* terlibat dalam banyak tahapan respon angiogenik yang meliputi stimulasi degradasi matriks ekstraseluler disekitar sel endotel, meningkatkan proliferasi dan migrasi sel endotel serta membantu pembentukan struktur pembuluh darah (Briant, 2007). *Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)* akan mengikat reseptor transmembran tirosin kinase yang berbeda. *Vascular Endothelial Growth Factor Reseptor 1 (VEGFR-1)* dan *Vascular Endothelial Growth Factor Reseptor 2 (VEGFR-2)* dapat ditemui pada permukaan endotel pembuluh darah. *Vascular Endothelial Growth Factor Reseptor 2 (VEGFR-*

2) berperan dalam kemotaksis dan proliferasi sel endotel dan juga induksi diferensiasi endotel. Sedangkan VEGFR-1 dibutuhkan dalam mediasi permeabilitas pembuluh darah serta ekspresi MMP (*Matrix Metalloproteinases*) dalam sel-sel otot polos vaskuler (Djawa dan Susilo, 2013).

2.7 Lidah Buaya (*Aloe Vera*)

Lidah buaya merupakan tanaman asli Afrika, tepatnya Ethiopia **Gambar 2.4**. Lidah buaya (*Aloe vera*), mempunyai beberapa kandungan seperti Lignin, saponin, dan anthraquinonealoin. 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). Lidah buaya memiliki rasa pahit dan bersifat dingin. Bagian yang bisa digunakan adalah daging daun lidah buaya (gel) (Wijayakusuma, 2008). Sedangkan menurut Chindo (2015), daun lidah buaya berkhasiat sebagai anti inflamasi, anti jamur, anti bakteri dan membantu proses regenerasi sel. Agen anti inflamasi yang dimiliki lidah buaya di antaranya adalah asam salisilat, indometasin (yang dapat mengurangi edema, menghambat enzim siklooksigenase dan menghambat motilitas dari leukosit *poly morpho nuclear* (PMN)).



Gambar 2.4 Lidah buaya (*Aloe Vera*) (Wijayakusuma, 2008).

Kandungan lidah buaya per 100 gram dapat dilihat pada **Tabel 2.1** :

Tabel 2.1 Kandungan Lidah Buaya

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

(Departemen Kesehatan RI, 1992)

Klasifikasi ilmiah atau taksonomi dari lidah buaya adalah sebagai berikut (Dalimartha, 2008) :

Kingdom : Plantae
Divisio : Spermathophyta
Sub Division : Angiospermae
Class : Monocotyledonae
Ordo : Liliales
Family : Liliaceae
Genus : *Aloe*
Species : *Aloe vera L*

2.7.1 Asam Salisilat

Asam salisilat dalam lidah buaya mencegah biosintesis prostaglandin dari asam arakidonat. Hal ini menjelaskan bagaimana Aloe Vera mengurangi vasodilatasi dan mengurangi efek vascular dari histamin, serotonin dan mediator inflamasi lainnya. Prostaglandin memainkan peran integral dalam mengatur baik peradangan dan reaksi kekebalan tubuh. Lidah buaya dapat mempengaruhi kedua system ini dengan memblokir sintesis prostaglandin. Efek analgesic lidah buaya sinergis dengan aspirin. Lidah buaya memiliki komponen stimulasi dan penghambatan. Lidah buaya dapat memodulasi baik reaksi kekebalan maupun reaksi inflamasi. Lidah buaya dapat bertindak sebagai stimulator penyembuhan luka dan produksi antibodi. Lidah buaya dapat memblokir sintesis prostaglandin

dan memodulasi produksi limfosit dan makrofag derivat mediator (limphokinins) termasuk interleukins dan interferon (Chindo, 2015).

2.7.2 Saponin

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Beberapa saponin bekerja sebagai anti mikroba, saponin memiliki kemampuan sebagai pembersih sehingga efektif untuk luka terbuka. Kelarutan saponin dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter (Rohmawati, 2008).

2.7.3 Tanin

Tanin tersebar dalam setiap tanaman yang berbatang. Tanin berada dalam jumlah tertentu, biasanya berada pada bagian yang spesifik tanaman seperti daun, buah, akar dan batang. Tanin merupakan senyawa kompleks, biasanya merupakan campuran polifenol yang sukar untuk dipisahkan karena tidak dalam bentuk kristal (f, dkk., 1996). Tanin biasanya berupa senyawa amorf, higroskopis, berwarna coklat kuning yang larut dalam organik yang polar. Tanin mempunyai aktivitas antioksidan menghambat pertumbuhan tumor dan enzim (Harborne, 1987). Teori lain menyebutkan bahwa tanin mempunyai daya antiseptik yaitu mencegah kerusakan yang disebabkan bakteri atau jamur (Rohmawati, 2008).

2.7.4 Vitamin C dan Vitamin E

Vitamin C dan vitamin E dalam lidah buaya penting untuk regenerasi sel. Vitamin C berperan penting sebagai *growth factor* berkontribusi dalam penyembuhan luka dengan menstimulasi fibroblas (*connecting tissue cells*) untuk memproduksi kolagen lebih banyak, dimana akan meningkatkan proses *remodelling* pada luka dan mengisi daerah luka. Lidah buaya mempertahankan suasana *moist* pada luka dan membawa oksigen untuk penetrasi ke dalam luka, menambah regenerasi sel. Suasana *moist* diperlukan untuk mempertahankan kelembaban luka dengan menggunakan balutan penahan kelembaban, sehingga penyembuhan luka dan pertumbuhan jaringan dapat terjadi secara alami (Sinaga dan Tarigan, 2012).

Vitamin E berfungsi sebagai imunostimulator yang meningkatkan respon imun Th1 sebagai pertahanan terhadap patogen intraseluler seperti virus, bakteri, dan parasit yang berfungsi sebagai antibiotik dan dapat memicu pengeluaran faktor pertumbuhan *Keratinocyte Growth Factor* (KGF) sehingga sangat berperan dalam memicu proses reepitalisasi yang lebih cepat disertai dengan menghambat terjadinya proses infeksi (Rahayu dkk., 2013).

2.8 Buah Naga

Buah naga (*dragon fruit*) termasuk dalam keluarga tanaman kaktus dengan karakteristik memiliki duri pada setiap ruas batangnya (**Gambar 2.5**). Di Indonesia, buah naga masuk sekitar tahun 2000 dan dibudidayakan pertama kali di Klaten, Jawa Tengah. Terdapat 4 jenis tanaman buah naga yang dibudidayakan di Indonesia yaitu

hylocereus undatus (putih), *hylocereus polyrhizus* (merah), *hylocereus costaricensis* (super merah), dan *selenicereus megalanthus* (kuning) (Solihati, 2008). Taksonomi buah naga merah yaitu termasuk kingdom plantae, subkingdom tracheobionta, divisi magnoliophyta, kelas magnolipsida, ordo caryophyllales, family cactaceae, genus *hylocereus*, spesies *hylocereus polyrhizus* (Panjuantiningrum, 2009).

Kandungan buah naga terdapat zat bioaktif yang bermanfaat bagi tubuh yaitu antioksidan (asam askorbat, betakaroten, dan antosianin) dan serat pangan pektin. Sedangkan menurut Furhman dan Aviram (2002) senyawa flavonoid telah terbukti mempunyai efek biologis yang sangat kuat. Sebagai antioksidan, flavonoid dapat menghambat penggumpalan keping-keping sel darah, merangsang produksi nitrit oksida yang dapat melebarkan (relaksasi) pembuluh darah. Disamping berpotensi sebagai antioksidan dan penangkap radikal bebas (*free radical scavenger*), flavonoid juga memiliki beberapa sifat seperti antiinflamasi, dan antivirus. Sifat antiradikal bebas flavonoid terutama terhadap radikal hidroksil, anion superoksida, radikal peroksil, dan alkoksil. Senyawa flavonoid ini memiliki afinitas yang sangat kuat terhadap ion Fe. 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).

Kandungan nilai gizi buah naga merah disajikan pada **Tabel 2.2** :

Tabel 2.2 Kandungan Buah Naga

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

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



Gambar 2.5 Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) (Syukur, 2015).

2.8.1 Flavonoid

Senyawa flavonoid telah terbukti mempunyai efek biologis yang sangat kuat. Sebagai antioksidan, flavonoid dapat menghambat penggumpalan keping-keping sel darah, merangsang produksi nitrit oksida yang dapat melebarkan (relaksasi) pembuluh darah. Disamping berpotensi sebagai antioksidan dan penangkap radikal bebas (*free radical scavenger*), flavonoid juga memiliki beberapa sifat seperti antirombotik, antiinflamasi, dan antivirus. Sifat antiradikal flavonoid terutama terhadap radikal hidroksil, anion superoksida, radikal peroksil, dan alkoksil. Senyawa flavonoid ini memiliki afinitas yang sangat kuat terhadap ion Fe²⁺ (Furhman dan Aviram, 2002). Mekanisme kerja flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Mekanisme kerjanya dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Sabirin dkk., 2007).

2.8.2 Vitamin C

Aktifitas antioksidan pada kulit buah naga lebih besar dibandingkan daging buahnya, sehingga berpotensi untuk dikembangkan menjadi sumber antioksidan alami. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Nurliyana, *et al* (2010) yang menyatakan bahwa di dalam 1 mg/ml kulit buah naga merah mampu menghambat 83,48±1,02% radikal bebas. Pada penelitian yang pernah dilakukan, vitamin C dapat mempercepat proses penyembuhan luka.

Vitamin C pada kulit buah naga mempunyai peran penting dalam sintesis kolagen, tanpa adanya vitamin C maka kolagen muda yang diekskresikan ke daerah luka oleh fibroblas vitamin C maka kolagen muda yang diekskresikan ke daerah luka oleh fibroblas berjumlah sedikit.

Penelitian menunjukkan bahwa kulit buah naga membantu dalam penyerapan vitamin C dan menambah aktifitas biologisnya. Kulit buah naga dapat melarutkan senyawa larut air serta zat larut lipid, dapat melalui membran sel stratum korneum untuk membantu berbagai bahan dalam menembus kulit. Aktivitas biologis buah naga dapat bertambah bahkan bersinergi dengan banyak agen dalam meningkatkan efek terapi (Sabirin dkk., 2007).

2.8.3 Betasianin

Betasianin dapat melindungi sel-sel tubuh dan jaringan dari kerusakan yang disebabkan oleh adanya radikal bebas dan spesies oksigen reaktif, sehingga betasianin juga dapat digunakan sebagai analgetik karena dapat melindungi dari kerusakan sel-sel tubuh dan jaringan (Stintzing *et al.*, 2002).

2.9 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus termasuk familia Muridae dari kelompok mamalia (hewan menyusui) (**Gambar 2.6**). Para ahli zoologi (ilmu hewan) sepakat untuk menggolongkan tikus kedalam ordo Rodentia (hewan yang mengerat), subordo Myomorpha, family Muridae, dan sub famili Murinae. Menurut Susanti (2015) tikus memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordate
Sub Filum	: Vertebrata
Kelas	: Mammalia
Sub Kelas	: Theria
Ordo	: Rodentia
Sub Ordo	: Myomorpha
Famili	: Muridae
Sub Famili	: Murinae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Tikus yang bisa di gunakan sebagai hewan uji dalah tikus albino. Tikus albino memiliki beberapa varietas yaitu galur Sprague – Dawley, Wistar dan Long – Evans. Masing – masing galur memiliki ciri yang berbeda – beda. Galur Sprague – Dawley adalah tikus albino yang memiliki kepala yang kecil dan ekor panjang melebihi panjang tubuh. Galur Wistar memiliki ciri kepala yang besar dan ekor lebih pendek dari ukuran tubuh, sedangkan Galur Long – Evans memiliki ukuran lebih kecil dari galur lainnya dan memiliki ciri warna hitam pada kepala dan tubuh bagian anterior (Larasaty, 2013).

Penelitian ini menggunakan tikus putih jantan karena tikus putih jantan memiliki hipodermis dan dermal yang lebih tebal 50%, serta jumlah kolagen yang lebih banyak pada bagian dermis, dibanding tikus putih betina (Calabro *et al.*, 2011).



Gambar 2.6 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Jondriatno, 2012)

2.10 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.

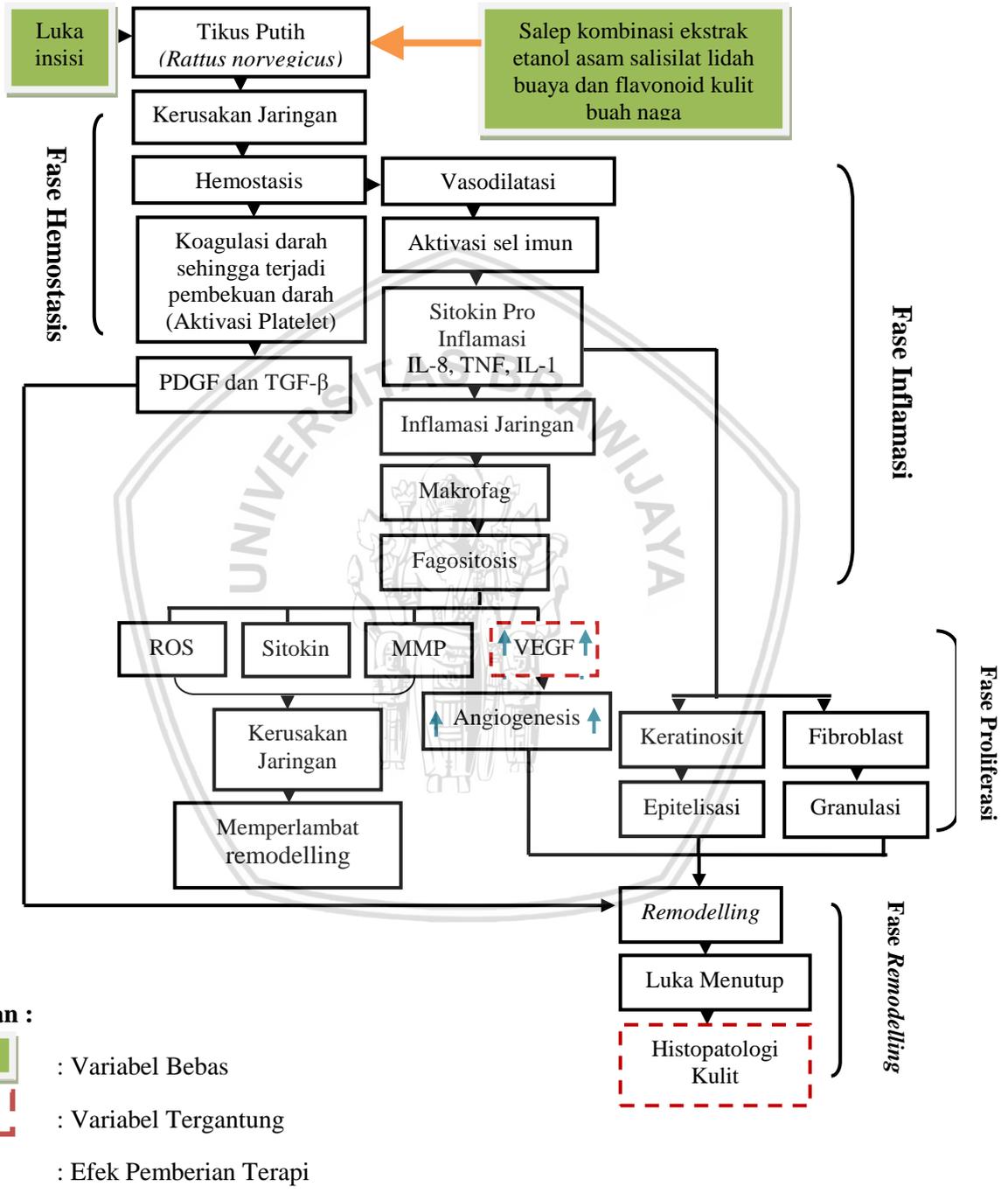
Salep dipilih sebagai bentuk sediaan karena stabilitasnya baik, berupa sediaan halus, mudah digunakan, mampu menjaga kelembapan kulit, tidak mengiritasi kulit dan mempunyai tampilan yang lebih menarik. Salep terdiri dari bahan obat yang terlarut ataupun terdispersi di dalam basis atau basis salep sebagai pembawa zat aktif. Basis salep yang digunakan dalam sebuah formulasi obat harus bersifat inert dengan kata lain tidak merusak ataupun mengurangi efek terapi dari obat yang dikandungnya

(Naibaho dkk., 2013). Penelitian ini menggunakan jenis salep hidrokarbon karena salep ini dimaksudkan untuk memperpanjang kontak bahan obat dengan kulit.



BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Kesembuhan luka dimulai dari beberapa tahap. Tahap pertama kesembuhan luka adalah fase hemostasis yang berlangsung secara singkat yaitu selama 5-10 menit. Pada fase ini terjadi respon dari komponen vaskuler berupa vasokonstriksi pembuluh darah dan hemostasis. Pada fase ini juga terjadi koagulasi darah yang akan mempercepat persembuhan luka.

Tahap kedua dari persembuhan luka adalah fase inflamasi atau peradangan. Pada fase inflamasi akan terjadi vasodilatasi yang mengakibatkan peningkatan aliran darah sehingga menyebabkan melambatnya sirkulasi darah. Ketika aliran darah melambat, leukosit keluar dari zona aksial, leukosit akan mengalami marginasi dan berdiam diri pada dinding endotel. Terjadinya luka juga akan menginduksi pelepasan beberapa substansi kimia seperti histamin, enzim-enzim lisosom, dan sitokin. Sitokin dapat diproduksi oleh banyak sel, terutama oleh sel limfosit dan monosit yang telah teraktivasi. Tiga jenis sitokin yang memiliki peranan penting dalam proses peradangan adalah interleukin-1 (IL-1), *tumor necrosis factor* (TNF), dan interleukin-8 (IL-8) yang mana disekresikan oleh makrofag yang teraktivasi dan distimulasi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah perlukaan fisik. Setelah leukosit keluar dari dinding endotel, sel-sel tersebut bergerak menuju jaringan yang terluka. Inflamasi pada luka mengakibatkan adanya proses fagositosis. Proses peradangan mencakup perekrutan sel-sel radang dari pembuluh darah ke jaringan luka. Sel-sel yang menginfiltrasi daerah luka diantaranya adalah neutrofil, makrofag dan limfosit. Neutrofil merupakan pertahan seluler pertama. Makrofag selain memfagositosis juga akan melepaskan bahan aktif seperti sitokin interleukin-1 (IL-1), interleukin

8 (IL-8) dan tumor necrosis factor (TNF) dan juga melepaskan faktor pertumbuhan seperti *vascular endothelial growth factor* (VEGF), yang mempengaruhi proliferasi fibroblast dan pembuluh darah. Proses fagositosis juga akan menginduksi matriks metalloproteinase (MMP) dan radikal bebas. Dimana MMP, sitokin dan radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan jaringan jika proses inflamasi tidak cepat teralui.

Tahap ketiga adalah fase proliferasi meliputi mitosis dari sel-sel epidermis, sel-sel endotel dan sel-sel fibroblast. Fibroblast, sel-sel radang, dan pembuluh darah baru memenuhi jaringan luka dan membentuk jaringan granulasi. Fibroblas memproduksi kolagen yang berperan dalam mempertahankan kekuatan dan integritas jaringan ikat. Pada neoangiogenesis terjadi pembentukan pembuluh darah baru yang berperan penting untuk terjadinya transpor nutrisi dan oksigen pada lokasi luka yang sedang mengalami penyembuhan. Proses produksi kolagen dan angiogenesis terjadi secara sinergis. Kapiler baru menyediakan nutrisi bagi kolagen yang sedang berkembang, sedangkan serabut kolagen mendukung anyaman kapiler baru secara struktural. Peristiwa tersebut diikuti oleh proses epitelisasi. Pada proses epitelisasi, epitel mengalami migrasi dan proliferasi dari membrana basalis menuju permukaan luka yang terbuka. Tahap terakhir dari penyembuhan luka adalah fase remodeling yaitu terjadi penyempurnaan terbentuknya jaringan baru menjadi jaringan yang kuat. Fase ini ditandai dengan berkurangnya jumlah fibroblast secara berkala dan pada fase ini matriks ekstraseluler sementara telah terbentuk.

Salep ekstrak etanol kulit buah naga dan lidah buaya diberikan untuk tujuan terapi penyembuhan luka insisi. Kulit buah naga mengandung senyawa vitamin C sebagai antioksidan, antiinflamasi dan flavonoid sebagai antibakteri. Kandungan vitamin C mempunyai peranan penting dalam sintesis kolagen. Oksigen vitamin C dengan kofaktor Fe^{2+} menyebabkan dikeluarkannya sejumlah anion radikal oksigen superoksida (O_2^-). Ketika produksi O_2^- melebihi jumlah oksigen yang tersedia, sintesis kolagen akan meningkat, sehingga adanya vitamin C mempengaruhi kesembuhan. Kandungan flavonoid dalam kulit buah naga akan membantu proses angiogenesis dalam penyembuhan luka serta sebagai antibiotik, mempengaruhi proliferasi fibroblas dan dapat memicu pengeluaran faktor pertumbuhan *Keratinocyt Growth Factor* (KGF) sehingga sangat berperan dalam memicu proses reepitalisasi yang lebih cepat disertai dengan menghambat terjadinya infeksi lain dan juga disertai dengan meningkatnya ekspresi VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) yang mencukupi diharapkan dapat menurunkan reaksi inflamasi dan penyembuhan luka.

Didalam lidah buaya mengandung asam salisilat untuk mencegah biosintesis prostaglandin dari asam arakhidonat yang memainkan peran integral dalam mengatur peradangan dan reaksi kekebalan tubuh. Lidah buaya bertindak sebagai stimulator penyembuhan luka dan produksi antibodi. Lidah buaya dapat memblokir sintesa prostaglandin dan memodulasi produksi limfosit dan makrofag. Vitamin C pada lidah buaya berperan penting sebagai *growth factor*. *Growth factor* ini berkontribusi dalam penyembuhan luka dengan menstimulasi fibroblas (*connecting tissue cells*) untuk memproduksi kolagen lebih banyak, dimana akan

meningkatkan proses remodelling pada luka dan mengisi daerah luka. Vitamin E berfungsi sebagai imunostimulator yang meningkatkan respon imun Th1 sebagai pertahanan terhadap patogen intraseluler seperti virus, bakteri, dan parasit yang berfungsi sebagai antibiotik dan dapat memicu pengeluaran faktor pertumbuhan *Keratinocyte Growth Factor* (KGF) sehingga sangat berperan dalam memicu proses reepitalisasi yang lebih cepat disertai dengan menghambat terjadinya proses infeksi.

3.2. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konsep penelitian yang disebutkan, maka hipotesis dalam penelitian ini yaitu :

1. Terapi salep kombinasi ekstrak etanol kulit buah naga merah (*Hylocereus costaricensis*) dan lidah buaya (*Aloe vera L.*) dapat meningkatkan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) pada proses penyembuhan luka insisi tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Terapi salep kombinasi ekstrak etanol kulit buah naga merah (*Hylocereus costaricensis*) dan lidah buaya (*Aloe vera L.*) dapat memperbaiki struktur histopatologi kulit pada jaringan luka insisi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli 2017 yang bertempat di Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah kandang tikus, botol minum tikus, timbangan, scalpel, gunting tajam-tajam, gunting tajam-tumpul, pinset, microsoft olympus seri BX51, autoclave, penyaring karet, gelas ukur, blender, wadah kaca tertutup, oven, lemari pendingin, inkubator, plastik klip, mikrotom, cawan petri, *sprit* injeksi.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan strain Wistar dengan 150-250 gram, NaCL fisiologis, alkohol 70%, ketamin, herbal kulit buah naga merah, makanan pellet, minuman, vaselin, album, aquades, formalin 10%, larutan xylol, larutan fenol 4%, parafin cair, antibodi VEGF, pakan tikus.

Hewan model menggunakan tikus (*Rattus novergicus*) jantan strain Wistar berumur 8-12 minggu. Bobot badan tikus antara 150-250 gram. Hewan coba diadaptasikan selama 7 hari untuk menyesuaikan dengan kondisi di laboratorium. Estimasi besar sampel dihitung berdasarkan rumus (Kusriningrum, 2008).

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

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

t : Jumlah perlakuan

n : Jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan di atas, maka untuk 5 macam kelompok perlakuan diperlukan jumlah ulangan paling sedikit 4 kali dalam setiap kelompok sehingga dibutuhkan 20 ekor hewan coba.

4.3 Rancangan Penelitian

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

- 1) Kelompok Negatif adalah tikus tidak diinsisi dan tidak diberi terapi kombinasi salep kulit buah naga merah (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) (kontrol negatif).
- 2) Kelompok Positif adalah tikus yang telah dilakukan insisi dan tidak diberi terapi kombinasi salep kulit buah naga merah (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) (kontrol positif).
- 3) Perlakuan 1 adalah tikus yang telah dilakukan insisi dan dilakukan terapi kombinasi salep kulit buah naga merah (*Hylicereus polyrhizus*) dan

lidah buaya (*Aloe vera*) yang diberikan secara topikal dengan konsentrasi 5%.

- 4) Perlakuan 2 adalah tikus yang dilakukan insisi dan dilakukan terapi kombinasi salep kulit buah naga merah (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) yang diberikan secara topikal dengan konsentrasi 10%.
- 5) Perlakuan 3 adalah tikus yang telah dilakukan insisi dan dilakukan terapi kombinasi salep kulit buah naga merah (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) yang diberikan secara topikal dengan konsentrasi 15%.

4.4 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

Variabel bebas : Luka insisi dan dosis terapi salep kombinasi ekstrak kulit buah naga merah dan lidah buaya.

Variabel terikat : Ekspresi VEGF dan struktur histopatologi kulit.

Variabel kontrol : homogenitas tikus meliputi jenis kelamin, berat badan, umur, suhu, pakan, dan kandang.

4.5 Tahapan Penelitian

1. Persiapan hewan coba.
2. Pembuatan ekstrak kulit buah naga merah dan lidah buaya.
3. Pembuatan salep ekstrak kulit buah naga merah kombinasi lidah buaya.
4. Perlakuan sayatan pada hewan coba.
5. Terapi salep ekstrak kulit buah naga merah kombinasi lidah buaya.

6. Pengambilan dan pembuatan preparat kulit.
7. Ekspresi VEGF dengan metode Imunohistokimia (IHK).
8. Tahap pengamatan struktur histopatologi kulit dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE).
9. Analisis data.

4.6 Prosedur Kerja

4.6.1 Persiapan Hewan Coba

Pada percobaan ini terdapat 20 ekor tikus (*Rattus novergicus*) strain wistar jantan dengan berat badan 150-250 gram (Baroroh, 2011). Tikus diadaptasi selama tujuh hari dengan pakan basal pada semua tikus. Tikus dibagi 5 kelompok perlakuan. Setiap kelompok perlakuan terdiri dari 4 ekor tikus.

Tikus kemudian dibagi menjadi lima kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok terdapat empat ekor tikus di dalam kandang secara individu. Kandang tikus berbahan plastik dibagi empat bagian dengan menggunakan sekat berupa kawat dan dilengkapi tutup kawat serta diberi alas berupa sekam agar kandang tidak lembab. Tikus dipelihara dalam Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.6.2 Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah dan Lidah Buaya

Sampel buah naga merah dikupas dan dibersihkan untuk memisahkan daging buah dengan kulitnya, selanjutnya kulit buah naga merah dipotong kecil-kecil kemudian dicuci setelah itu dikeringkan selama 3 hari selanjutnya

diblender sampai halus. Hasil yang didapat sebanyak 250 gram sampel kulit buah yang telah halus diekstrak dengan teknik maserasi basah menggunakan pelarut etanol 96%, dilakukan perendaman lalu dikocok sampai benar-benar tercampur (± 30 menit), diamkan 1 malam sampai mengendap, kemudian disaring dan filtratnya ditampung, proses perendaman ini dilakukan sampai 3 kali. Filtrat tersebut diuapkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* biarkan larutan etanol berhenti menetes pada labu penampung ($\pm 1,5$ sampai 2 jam untuk 1 labu) ± 900 mL sehingga didapat ekstrak kental etanol kemudian ditimbang beratnya (Cahyono, 2009).

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 76% 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 45°C . Hasil pemekatan ini disebut ekstrak, kemudian hasil ekstrak diencerkan dalam berbagai konsentrasi penelitian yang diperlukan (Aswarita, 2013).

4.6.3 Pembuatan Salep Kombinasi Ekstrak Kulit Buah Naga Merah dan Lidah Buaya

Salep buah naga merah 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. Selain itu, basis hidrokarbon

menunjukkan daya antibakteri yang lebih besar dibandingkan basis lainnya, ditandai dengan penyembuhan infeksi pada luka kulit yang lebih cepat.

Pembuatan salep kombinasi kulit buah naga merah dan lidah buaya menggunakan formulasi salep faselin 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 merah 1 gram dan lidah buaya sebanyak 1 gram, aduk hingga menjadi salep (Laila, 2016)

4.6.4 Perlakuan Sayatan Pada Hewan Coba

Rambut tikus sekitar sayatan dicukur sampai licin seluas 4 cm x 4 cm, kemudian dibersihkan dengan kapas beralkohol 70% dan dilakukan anestesi dengan menggunakan ketamin (10 mg/kg BB) secara intramuskular (Danu, 2012). Luka insisi dibuat sepanjang 2 cm arah cranio caudal dan kedalaman sampai subkutan dengan scalpel di daerah punggung tikus. Insisi dilakukan dengan menyayat kulit menggunakan scalpel (Sudrajat, 2006).

4.6.5 Pemberian Terapi Salep Ekstrak Lidah Buaya Kombinasi Kulit Buah Naga Merah

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

penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Laila (2016), yaitu 5%, 10%, dan 15%.

4.6.6 Pengambilan dan Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit

Pengambilan jaringan kulit pada hewan coba tikus putih (*Rattus novergicus*) dilakukan pada hari ke 10 yang selanjutnya diikuti pengambilan atau pemotongan jaringan. Langkah awal yang dilakukan yaitu euthanasi dengan cara dislokasi leher. Pemotongan dilakukan pada bagian subkutan, tikus diletakkan dengan posisi dorso ventral pada papan penyayatan. Bagian kulit tempat insisi diisolasi dan dibilas dengan NaCl 0,9%. Kulit dipotong menjadi dua bagian lalu masing-masing bagian dimasukkan dalam pot yang berisi larutan formalin 10% selama 24 jam, untuk selanjutnya dibuat preparat histologi dengan pewarnaan *Hematoksilen-Eosin* (HE). Kulit direndam dalam larutan formalin 10% selama 24 jam. Dilakukan perendaman, kulit dikeluarkan dari larutan fiksatif lalu dicuci sebentar dengan air mengalir dan direndam dalam larutan fenol 4% dalam akuades selama 1-3 hari.

Tahap selanjutnya yaitu dehidrasi, yakni merendam jaringan kulit ke dalam larutan alkohol secara bertahap, yaitu alkohol 70%, alkohol 80%, dan alkohol 90% masing-masing selama 1 hari. Kulit kemudian direndam lagi dengan alkohol 95% selama 2 hari yang diganti setiap harinya. Kulit yang sudah melalui tahap dehidrasi direndam ke dalam cairan xylol I selama 15 menit dan xylol II selama 15 menit. Agar jaringan kulit mudah dipotong, maka jaringan harus dipadatkan menggunakan parafin. Kulit dibenamkan ke dalam parafin/paraplast I selama 2 jam, kemudian dipindahkan ke dalam

parafin/paraplast II selama 1 jam, dan dimasukkan ke dalam parafin/paraplast III selama 2 jam.

Tahap selanjutnya adalah *blocking* yaitu histoplate diletakan di atas piringan logam. Cairan parafin dituangkan sedikit ke dalam cetakan tersebut dan secepatnya jaringan dimasukkan ke dalam cetakan. Parafin cair kemudian dituangkan kembali hingga menutupi seluruh cetakan tersebut. Tahap pemotongan jaringan dilakukan dengan menggunakan mikrotom. Pisau pada mikrotom diletakkan pada sudut tertentu. Blok parafin yang akan dipotong direkatkan pada *holder* dengan menggunakan spatula. Blok preparat kemudian diletakkan pada tempatnya di mikrotom dan diatur jarak preparat ke arah pisau sedekat mungkin. Ketebalan irisan $\pm 5 \mu\text{m}$. Rotor mikrotom kemudian diputar secara ritmis. Pita-pita awal yang tanpa jaringan dibuang dan setelah potongan mengenai jaringan. Jaringan dipindahkan secara hati-hati dengan sengkelit ke atas air di dalam *waterbath* yang diatur pada suhu 55°C , tujuannya agar lembaran/pita parafin berkembang dengan baik. Setelah pita parafin berkembang dengan baik, parafin ditempelkan di kaca objek yang telah diolesi albumin. Kaca objek kemudian disimpan selama 12 jam agar benar-benar kering sehingga dapat dilakukan pewarnaan *Hemaktosilen-Eosin* (HE) untuk melihat gambaran histopatologis kulit dengan mengidentifikasi jaringan granulasi yang terdiri atas sel radang, fibroblast, dan pembuluh darah baru (Setiabudi, 2005).

4.6.7 Ekspresi VEGF dengan metode Imunohistokimia

Tahapan pewarnaan imunohistokimia diawali dengan perendaman slide preparat pada xylol I, xylol II, dan alkohol bertingkat (70%,80%,90%). Slide preparat kemudian dicuci dengan PBS pH 7,4 selama 1x15 menit selanjutnya ditetesi dengan H₂O₂ selama 20 menit. Setelah itu dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali dan diblok dengan 5% FBS (*Fetal Bovine Serum*) selama 1 jam. Kemudian, slide preparat dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali dan selanjutnya diinkubasi dengan antibodi primer *anti mouse* VEGF (JH121); sc-57496 berlabel *Santa Cruz Biotechnology Inc* selama 1 jam dengan suhu ruang dan dilakukan pencucian kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali selama 1 jam dengan suhu ruang.

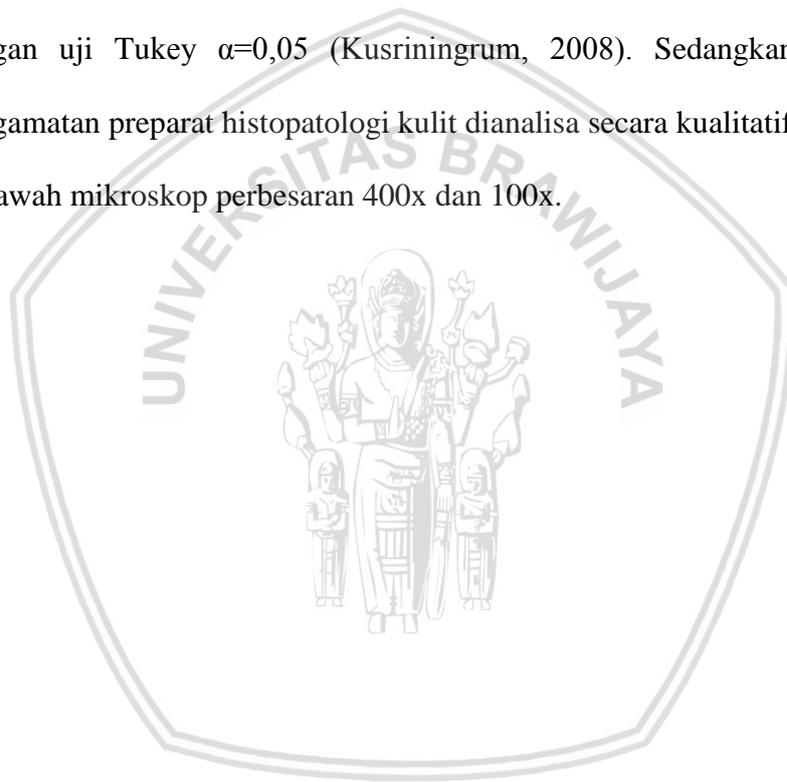
Slide preparat ditetesi dengan *Strep Avidin Horse Radish Peroxidase* (SA-HRP) selama 40 menit. Kemudian dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali. Ditetesi dengan *Diamano Benzidine* (DAB) selama 10 menit. Dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit 3 kali. Selanjutnya counterstaining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

Pengamatan ekspresi VEGF dilakukan dengan mikroskop perbesaran 400x dengan lima bidang pandang pengamatan. Pengamatan dilakukan di kulit lapisan dermis pada sel endotel, setelah itu hasil pengamatan difoto. Hasil foto dari mikroskop diproses menggunakan *software imunoratio*

untuk mengamati luas area ekspresi VEGF yang ditandai dengan peningkatan presentasi luas daerah yang terwarnai (Janquiera and Carneiro, 2007).

4.6.8 Analisis Data

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah luas area ekspresi VEGF dianalisis secara kuantitatif menggunakan *Microsoft excel* dan *SPSS for windows* dengan analisis statistik *one way ANOVA* dan uji lanjutan dengan uji Tukey $\alpha=0,05$ (Kusriningrum, 2008). Sedangkan data hasil pengamatan preparat histopatologi kulit dianalisa secara kualitatif dan diamati di bawah mikroskop perbesaran 400x dan 100x.





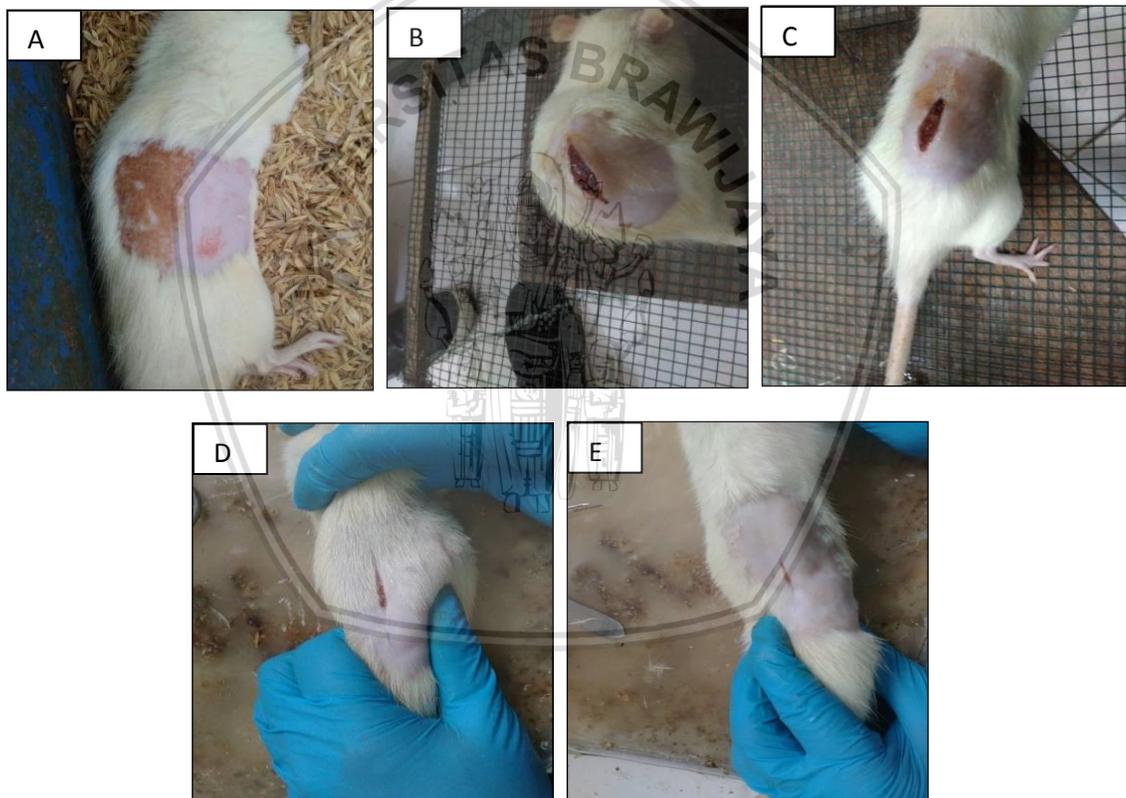
BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

Hewan coba tikus (*Rattus novergicus*) yang telah dilakukan insisi pada daerah punggung diberikan terapi salep ekstrak etanol kulit buah naga merah dan lidah buaya pada daerah luka insisi tersebut. Gambaran secara makroskopis jaringan kulit pada kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan 1, 2, dan kelompok perlakuan 3 yang dilakukan insisi pada daerah punggung dapat dilihat pada

Gambar 5.1

Kelompok tikus kontrol negatif (**Gambar 5.1 A**) yang tidak diberikan perlakuan apapun atau tanpa dilakukan insisi menunjukkan kulit dalam keadaan utuh atau sehat, sedangkan pada kelompok tikus kontrol positif (**Gambar 5.1 B**) yang dilakukan insisi dan tidak diberikan perlakuan apapun masih terdapat banyak debris dan area luka masih terbuka, serta adanya jaringan parut yang lembab. Pada kelompok perlakuan 1 yang dilakukan insisi dan diberikan salep ekstrak etanol kulit buah naga merah kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 5% (**Gambar 5.1 C**) menunjukkan luka yang sudah mengering, rubor (kemerahan) memudar, serta debris telah hilang, namun area luka masih terbuka, kelompok perlakuan 2 yang dilakukan insisi dan diberikan salep ekstrak etanol kulit buah naga merah kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 10% (**Gambar 5.1 D**) menunjukkan adanya penutupan luka yang belum sempurna yaitu pada area luka terdapat sedikit debris, rubor (kemerahan) memudar, dan luka sudah mulai menipis. Pada kelompok perlakuan terakhir, kelompok perlakuan 3 yang dilakukan insisi dan diberikan salep ekstrak etanol kulit

buah naga merah kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 15% (**Gambar 5.1 E**) menunjukkan luka yang belum mengering sempurna, area luka masih sedikit terbuka. Pengaruh pemberian salep ekstrak etanol kulit buah naga merah kombinasi lidah buaya terhadap peningkatan ekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dan histopatologi kulit pada jaringan kulit yang dilakukan insisi dan pewarnaan dengan menggunakan metode imunohistokimia (IHK) dan *Hematosilen Eosin* (HE).

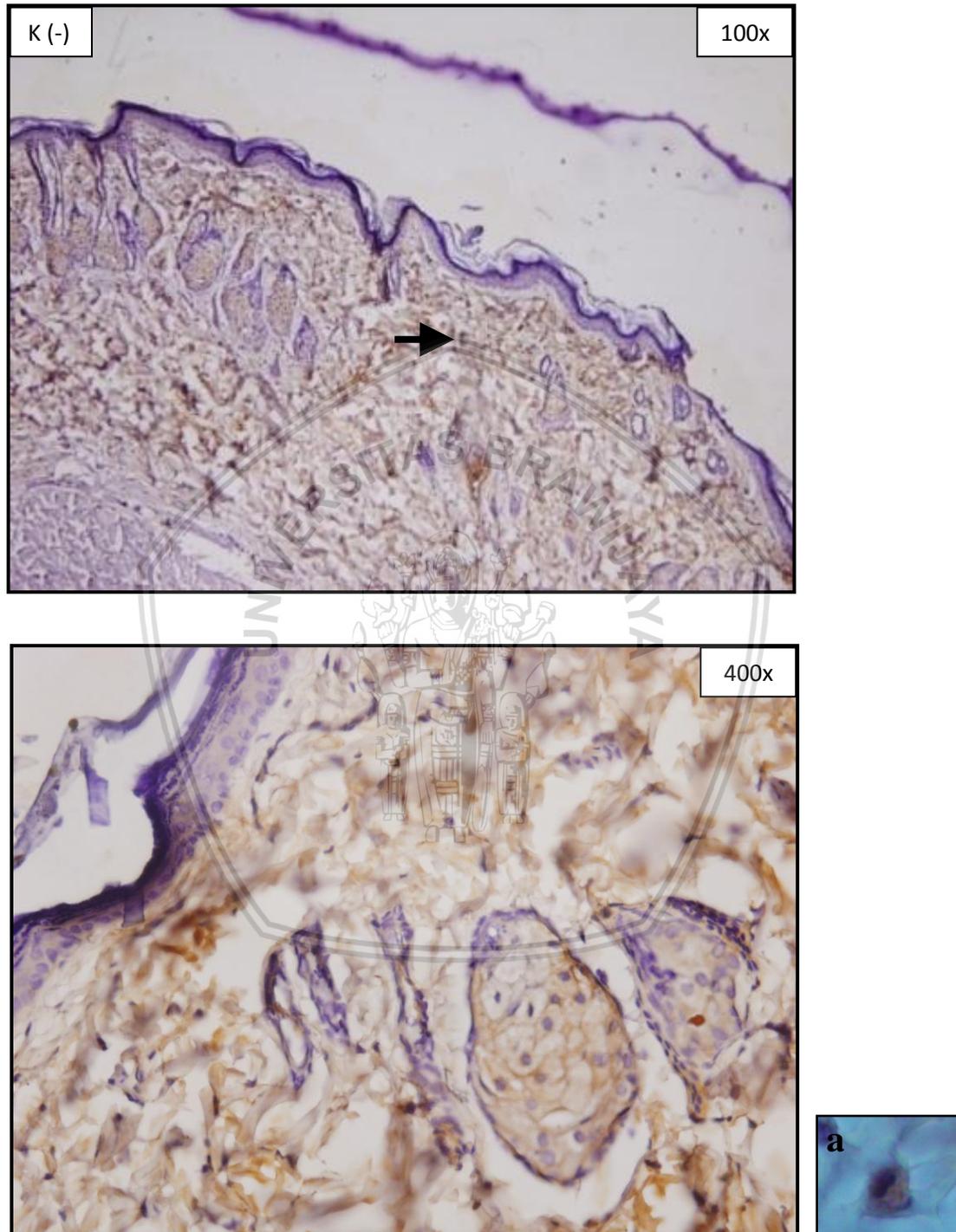


Gambar 5.1 Gambaran makroskopis dari jaringan kulit tikus

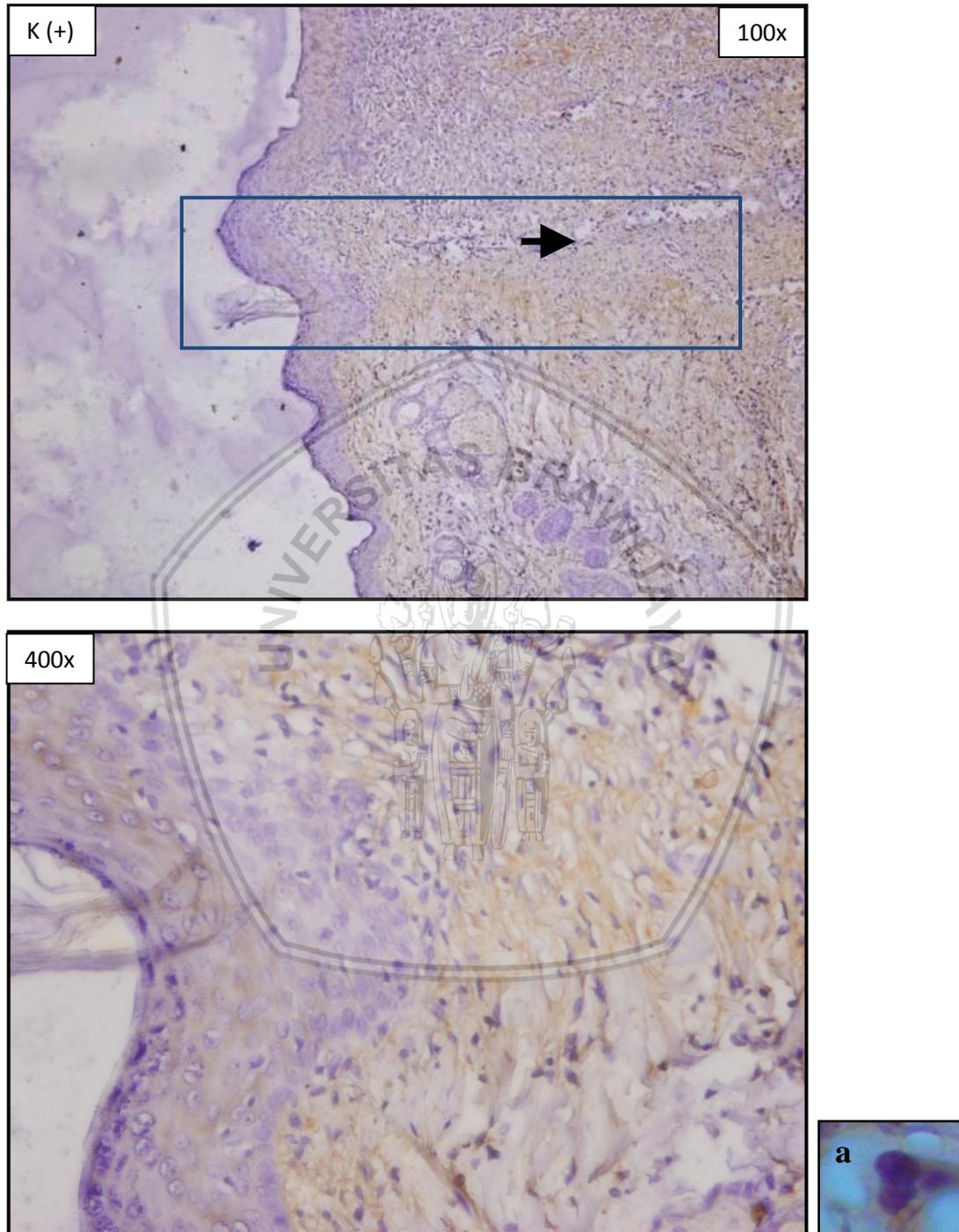
Keterangan : (A) kontrol negatif. (B) kontrol positif, berada pada fase inflamasi. (C) terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya 5%, berada pada fase proliferasi. (D) terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya 10%, berada pada fase proliferasi. (E) terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya 15%, berada pada fase proliferasi tahap akhir.

5.1 Pengaruh salep Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah Kombinasi Lidah Buaya Terhadap Peningkatan Ekspresi VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*)

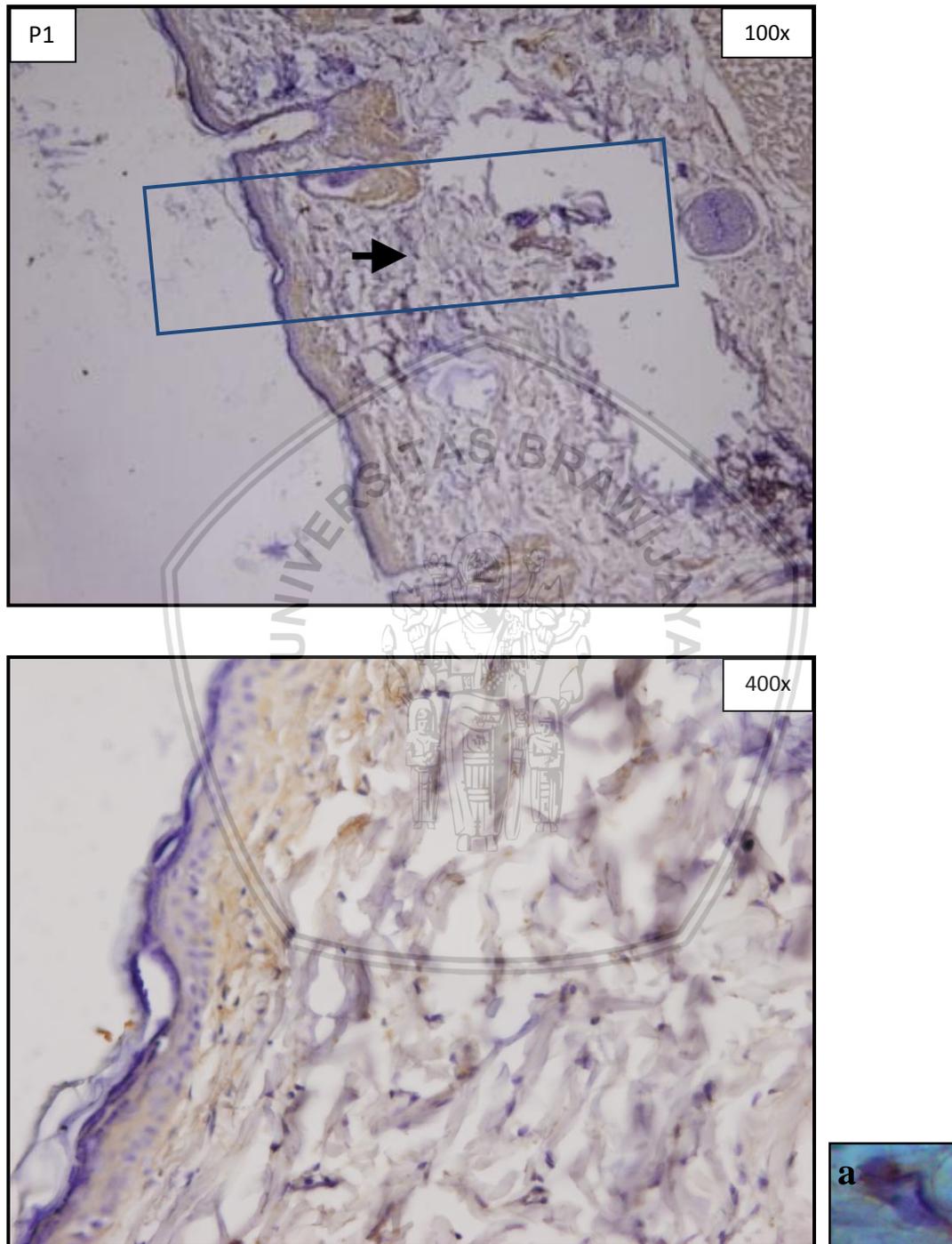
Ekspresi VEGF dengan menggunakan teknik imunohistokimia yang ditunjukkan dengan adanya ekspresi warna cokelat pada bagian sitoplasma sel endotel. Adanya warna cokelat tersebut menunjukkan adanya interaksi antara VEGF pada jaringan kulit dengan antibodi yang ditambahkan (antibodi primer *anti mouse* VEGF dan antibodi sekunder *rabbit anti rat labeled biotin*). Menurut Duerr (2006) 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 *Diamanobenzidine* (DAB). Hasil penelitian mengenai pengaruh terapi ekstrak etanol kulit buah naga merah kombinasi buah naga terhadap ekspresi VEGF pada luka insisi tikus (*Rattus novergicus*) dengan metode imunohistokimia yang ditunjukkan dengan adanya ekspresi warna kecokelatan pada sitoplasma sel endotel dan dapat dilihat pada **Gambar 5.2**.



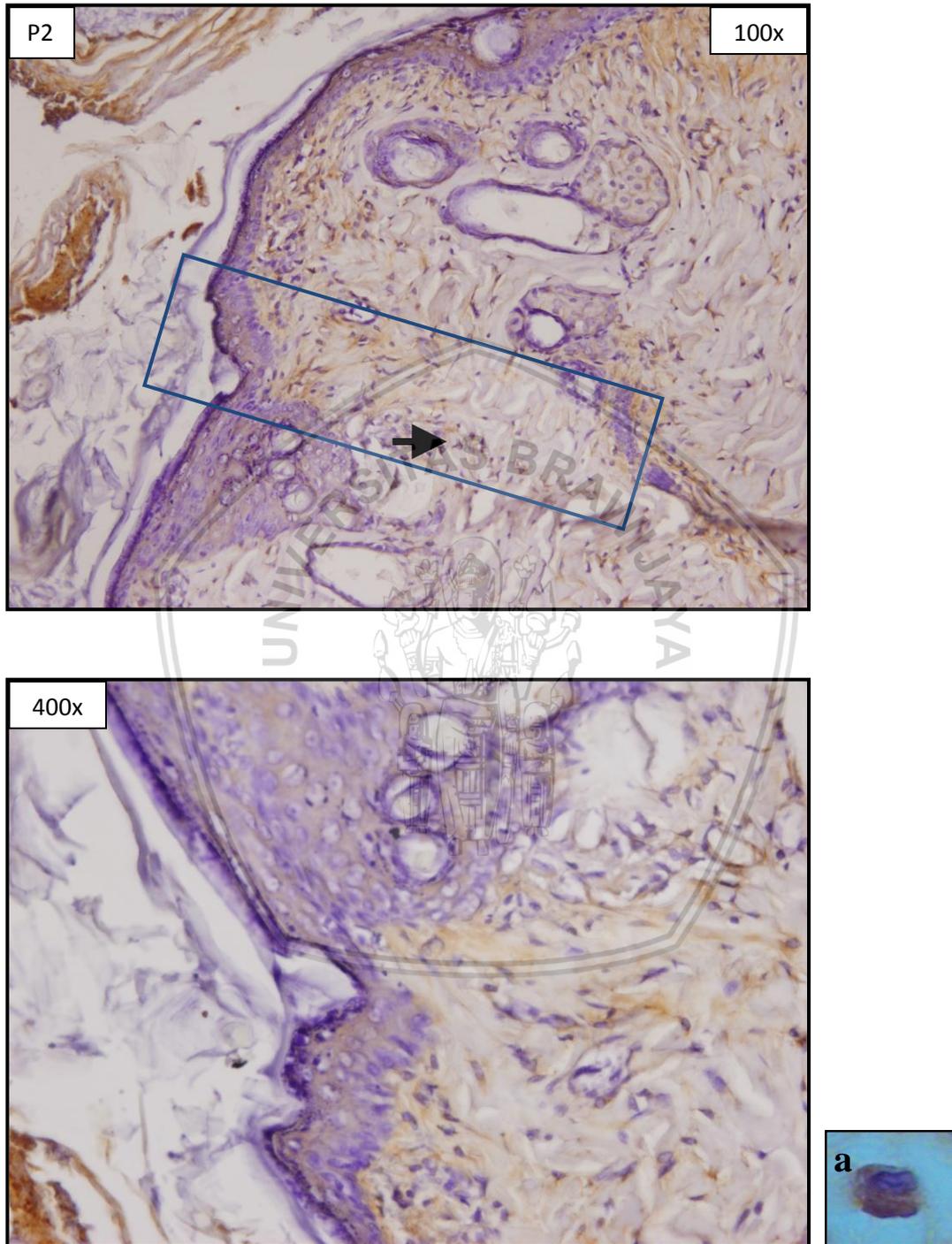
Gambar 5.2 Ekspresi VEGF kelompok K- Gambaran histopatologi tikus sehat bagian epidermis menggunakan pewarnaan IHK pada perbesaran 100x dan 400x; (a) gambaran makrofag sebagai penghasil VEGF ditunjukkan dengan panah (→)



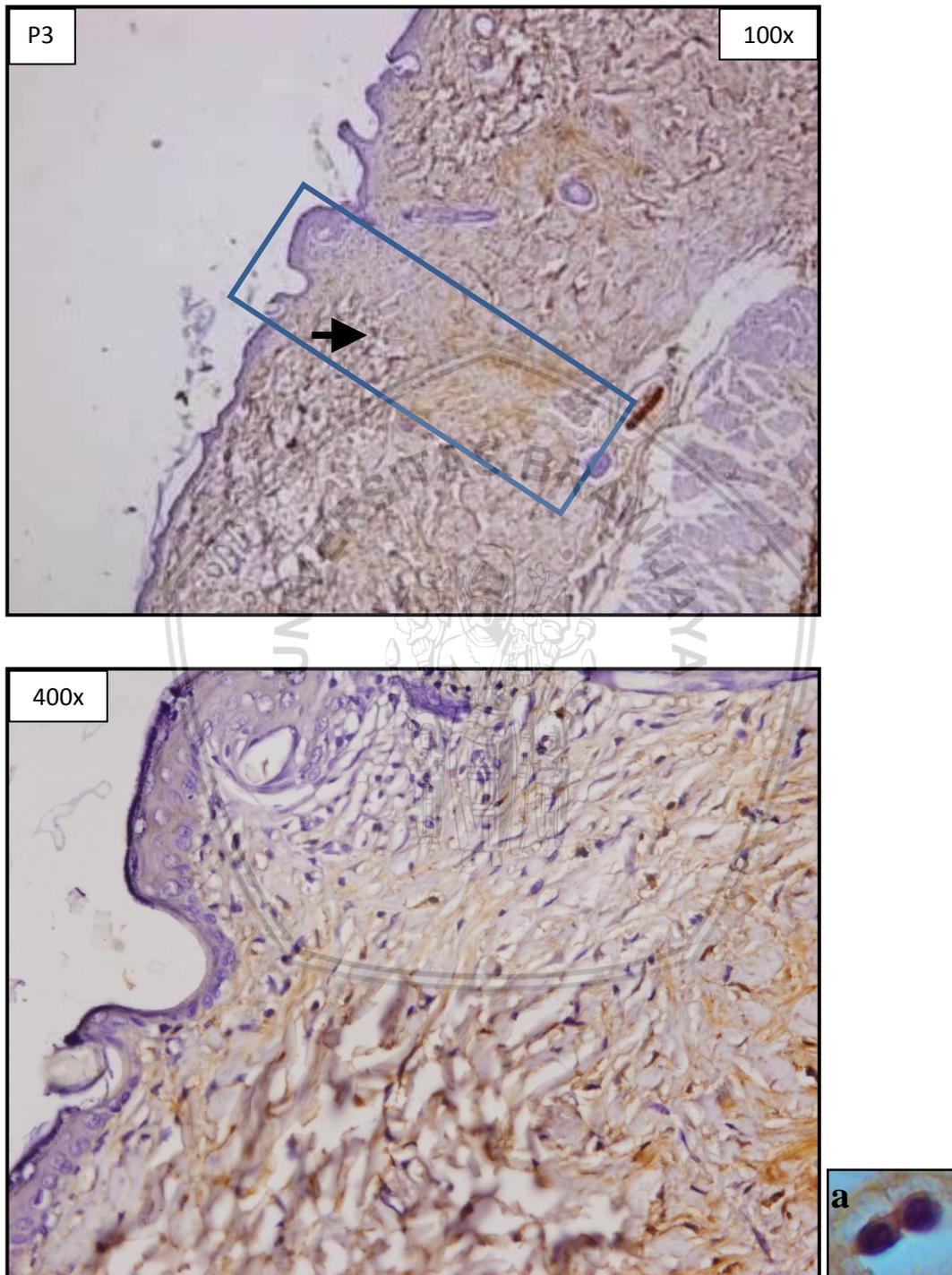
Gambar 5.3 Ekspresi VEGF kelompok K+ Gambaran histopatologi tikus dengan insisi tanpa diterapi bagian epidermis menggunakan pewarnaan IHK pada perbesaran 100x dan 400x, (a) gambaran makrofag sebagai penghasil VEGF ditunjukkan dengan panah (→).



Gambar 5.4 Ekspresi VEGF kelompok P1 (A) Gambaran histopatologi tikus bagian epidermis menggunakan pewarnaan IHK pada perbesaran 100x dan 400x; (a) gambaran makrofag sebagai penghasil VEGF ditunjukkan dengan panah (→)



Gambar 5.5 Ekspresi VEGF kelompok P2 (A) Gambaran histopatologi tikus bagian epidermis menggunakan pewarnaan IHC pada perbesaran 100x dan 400x.; (a) gambaran makrofag sebagai penghasil VEGF ditunjukkan dengan panah (→



Gambar 5.6 Ekspresi VEGF kelompok P3 (A) Gambaran histopatologi tikus bagian epidermis menggunakan pewarnaan IHK pada perbesaran 100x dan 400x, (a) gambaran makrofag sebagai penghasil VEGF ditunjukkan dengan panah (→)

Berdasarkan hasil ekspresi VEGF yang terlihat pada **Gambar 5.2 K(-)** menunjukkan adanya warna cokelat yang berarti terdapatnya VEGF pada jaringan tersebut. Pada kelompok K(-) yang merupakan kelompok tikus sehat tanpa diinsisi dan diterapi, VEGF masih tetap terekspresi karena secara normal jaringan akan meregenerasi sel-sel yang mengalami kematian secara terprogram atau apoptosis sehingga dibutuhkan *growth factor* sebagai mitogen dalam proses regenerasi sel. Pada **Gambar 5.3 (K+)** merupakan kelompok tikus dengan insisi tanpa diberikan terapi yang menunjukkan ekspresi VEGF dengan warna cokelat yang lebih rendah dibandingkan kelompok K(-). Hal tersebut dikarenakan proses kesembuhan luka belum memasuki fase proliferasi yang optimal sehingga VEGF belum terekspresi sepenuhnya. Hal ini juga dapat disebabkan oleh banyak faktor, seperti kondisi tikus selama perawatan, dan tingkat infeksi yang terjadi akibat terbukanya luka yang menyebabkan proses penyembuhan luka yang lama. Pada kelompok perlakuan **Gambar 5.6 (P3)** memiliki ekspresi VEGF dengan warna cokelat yang lebih tinggi dibandingkan **Gambar 5.4 (P1)** dan **Gambar 5.5 (P2)**.

Pengukuran presentase area ekspresi VEGF dilakukan dengan menggunakan *software Immunoratio* dan didapatkan jumlah rata-rata ekspresi VEGF pada **Tabel 5.1**. Data yang diperoleh kemudian diuji statistik dengan menggunakan *one way ANOVA* ($p < 0,05$) dan dilanjutkan dengan uji lanjutan Beda Nyata Jujur dengan $\alpha = 0,05$ dengan hasil uji statistik terdapat pada **Lampiran 5**.

Tabel 5.1 Hasil Uji BNJ Ekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF)

Kelompok	Rata-rata ekspresi VEGF (Luas Area) (Rata-rata \pm SD)	Ekspresi VEGF	
		Peningkatan (%) terhadap kontrol positif (+)	Penurunan (%) terhadap kontrol negatif (-)
Kontrol Negatif K(-)	42,50 \pm 0,85 ^b	-	-
Kontrol Positif K(+)	34,05 \pm 0,55 ^a	-	19
Perlakuan 1	48,75 \pm 0,62 ^c	14	-
Perlakuan 2	58,90 \pm 0,58 ^d	38	-
Perlakuan 3	65,95 \pm 0,64 ^e	55	-

Keterangan : Pada rata-rata \pm SD jika memuat notasi yang berbeda berarti ada perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$).

Hasil analisis statistika menunjukkan ekspresi VEGF pada tikus kelompok kontrol negatif memiliki rata-rata 42,50 \pm 0,85 yang digunakan sebagai standar untuk menentukan penurunan pada kelompok kontrol positif, dan sebagai standar untuk menentukan peningkatan terhadap kelompok terapi. Pada kelompok kontrol positif memiliki rata-rata 34,05 \pm 0,55 dengan nilai presentase penurunan terhadap kelompok kontrol negatif sebanyak 19%. Kelompok tikus dengan terapi salep ekstrak kombinasi buah naga dan lidah buaya konsentrasi 5% menunjukkan peningkatan 14% dengan rata-rata 48,75 \pm 0,62. Kelompok tikus dengan terapi salep ekstrak kombinasi buah naga dan lidah buaya konsentrasi 10% menunjukkan peningkatan 38% dengan rata-rata 58,90 \pm 0,58. Kelompok tikus dengan terapi salep ekstrak kombinasi buah naga dan lidah buaya konsentrasi 15% menunjukkan peningkatan 55% dengan rata-rata 65,95 \pm 0,64.

Ekspresi VEGF pada semua kelompok tikus dengan terapi menunjukkan adanya peningkatan ekspresi VEGF pada proses penyembuhan luka. Sedangkan penurunan ekspresi VEGF kontrol positif terhadap kontrol negatif terjadi dikarenakan pada kondisi sehat K(-) VEGF masih tetap berekspresi yang berfungsi dalam proses angiogenesis untuk pembentukan pembuluh darah baru. Kelompok kontrol positif masih dalam fase inflamasi, hal ini mungkin dikarenakan terdapat beberapa faktor terhadap lamanya proses penyembuhan luka yaitu benda asing, jaringan mati, kurangnya pasokan oksigen, dan *wound tension* (Hupp, 2003).

Berdasarkan **Tabel 5.1** menunjukkan bahwa terdapat beda nyata antara kelompok kontrol negatif ($42,50 \pm 0,85$) dengan kelompok kontrol positif ($34,05 \pm 0,55$). Hal ini ditunjukkan dengan adanya penurunan pada kontrol positif sebesar 19%. Sedangkan beda nyata rerata aktivitas VEGF ditunjukkan antara kelompok kontrol negatif ($42,50 \pm 0,85$) dengan kelompok perlakuan 1 konsentrasi 5% ($48,75 \pm 0,62$) yang ditunjukkan dengan adanya peningkatan sebesar 14%.

Beda nyata signifikan juga ditunjukkan antara kelompok kontrol negatif ($42,50 \pm 0,85$) dengan kelompok perlakuan 2 konsentrasi 10% ($58,90 \pm 0,58$) dengan peningkatan sebesar 38%. Hal tersebut ditunjukkan dengan adanya peningkatan rerata aktivitas VEGF seiring dengan meningkatnya dosis pemberian ekstrak etanol kulit buah naga kombinasi lidah buaya.

Perbedaan bermakna juga ditunjukkan adanya peningkatan sebesar 55% antara kelompok kontrol negatif ($42,50 \pm 0,85$) dibandingkan dengan kelompok perlakuan 3 konsentrasi 15% ($65,95 \pm 0,64$). Kelompok perlakuan 3 konsentrasi 15% juga

merupakan kelompok perlakuan dengan beda nyata paling signifikan dibanding kelompok perlakuan 1 konsentrasi 5%, dan kelompok perlakuan 2 konsentrasi 10%. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan 3 dengan salep ekstrak etanol kulit buah naga dan lidah buaya konsentrasi 15% merupakan kelompok yang paling berpengaruh terhadap aktivitas VEGF. Menurut Frisca dkk. (2009) dalam keadaan normal, VEGF diekspresikan dalam kadar yang bervariasi oleh berbagai jaringan, termasuk di antaranya otak, ginjal, hati, dan limpa. Tekanan oksigen dapat berfungsi sebagai regulator VEGF. Paparan kondisi hipoksia menginduksi ekspresi VEGF dengan cepat. Sebaliknya, dalam kondisi kadar oksigen normal (normoksia), ekspresi VEGF menurun dan mengalami stabilisasi.

Peningkatan ekspresi VEGF menunjukkan bahwa proses penyembuhan luka dalam fase proliferasi, hal ini dikarenakan salep ekstrak etanol kulit buah naga merah kombinasi lidah buaya memiliki kandungan flavonoid sebagai antiinflamasi pada luka, sehingga dapat menurunkan mediator inflamasi, dan proses penyembuhan luka dapat segera memasuki fase proliferasi. Selain itu adanya sifat antioksidan yang terdapat pada kulit buah naga merah juga dapat mencegah kerusakan endotel yang menyebabkan hipoksia. Flavonoid juga mampu mengatur fungsi sel dengan cara merangsang produksi *vascular endothelial growth factor* (VEGF) yang berperan dalam pembentukan pembuluh darah baru (Fatimatuzzahroh dkk., 2015). Selain itu, saponin dalam kulit buah naga juga dapat menstimulasi pembentukan pembuluh darah dan memunyai kemampuan untuk meningkatkan proses angiogenesis dengan memicu pelepasan *vascular endothelial growth factor* (VEGF) yang berperan penting

dalam pembentukan pembuluh darah. Adanya *growth factor* seperti VEGF pada fase proliferasi akan merekrut fibroblast, keratinosit, dan sel endotel untuk mengisi jaringan yang luka (Nogami *et al.*, 2007). Sedangkan asam salisilat pada lidah buaya dapat mencegah biosintesis prostaglandin dari asam arakhidonat untuk mengatur peradangan dan reaksi kekebalan tubuh (Chindo, 2015). Selain itu, vitamin C pada lidah buaya berperan penting sebagai *growth factor*. *Growth factor* ini berkontribusi dalam penyembuhan luka dengan menstimulasi fibroblast (*connecting tissue cells*) untuk memproduksi kolagen lebih banyak, dimana akan meningkat proses remodeling pada luka dan mengisi daerah luka (Rahayu dkk., 2013).

Proses penyembuhan luka berkaitan erat dengan meningkatnya atau menurunnya kadar VEGF. Peningkatan kadar VEGF pada luka insisi menunjukkan bahwa luka akan mengalami kesembuhan. Kadar *vascular endothelial growth factor* (VEGF) juga akan meningkat pada saat fase proliferasi pada proses penyembuhan luka. Tekanan oksigen dapat berfungsi sebagai regulator VEGF. Paparan kondisi hipoksia dapat menginduksi ekspresi VEGF dengan cepat. Sebaliknya, dalam kondisi kadar oksigen normal (normoksia), ekspresi VEGF menurun dan mengalami stabilisasi. Tingkat kadar VEGF juga bergantung pada jumlah sitokin pro inflamasi dan *growth factor* (Burn, 2000). Hipoksia berperan penting dalam regulasi ekspresi VEGF. *Hypoxia inducible factor-1* (HIF-1) merupakan mediator kunci untuk respon hipoksik ini dan produk gen supresor tumor von Hippel Lindau (vHL) memiliki peran penting. Di bawah kondisi normoksik., HIF- α akan bersatu dengan HIF- β , sehingga kompleks ini

akan bertranslokasi pada nucleus dan terikat pada promotor VEGF yang mengarah pada peningkatan transkripsi VEGF (Jamaludin, 2015).

Fase inflamasi dimulai sejak terjadinya luka sampai hari kelima. Segera setelah terjadinya luka, pembuluh darah yang putus mengalami konstriksi dan retraksi disertai reaksi hemostatis karena agregasi trombosit yang bersama jala fibrin membekukan darah. Pada fase ini kemudian terjadi vasodilatasi dan akumulasi leukosit *Polymorphoneklar* (PMN). Agregat trombosit akan mengeluarkan mediator inflamasi *Transforming Growth Factor beta 1* (TGF β 1) yang dikeluarkan oleh makrofag. Adanya TGF β 1 akan mengaktifasi fibroblast untuk mensintesis kolagen (Lorentz, 2006). Fase proliferasi berlangsung mulai hari ke 0-4 hingga hari ke-21 pasca terjadinya luka. Pada fase ini matriks fibrin yang didominasi oleh platelet dan makrofag secara gradual digantikan oleh jaringan granulasi yang tersusun dari kumpulan fibroblast, makrofag dan sel endotel yang membentuk matriks ekstraseluler dan neovaskular. Pembentukan pembuluh darah baru dan jaringan granulasi merupakan tanda penting fase proliferasi karena ketiadaannya pembuluh darah baru atau jaringan granulasi merupakan tanda dari gangguan penyembuhan luka (Gurtner, 2007). Fase remodeling dimulai hari ke-21 sampai dengan 1 tahun. Pada fase remodeling dan maturasi melibatkan peran fibroblas dan miofibroblas untuk membentuk struktur jaringan yang lebih kuat, secara klinis luka akan tampak lebih berkontraksi sampai dengan mencapai maturasi (Gurtner, 2007).

Salep ekstrak etanol kulit buah naga kombinasi lidah buaya masing-masing mengandung senyawa flavonoid dan asam salisilat. Flavonoid adalah antioksidan

eksogen yang telah dibuktikan bermanfaat dalam mencegah kerusakan sel akibat stress oksidatif. Flavonoid bersifat sebagai antioksidan dengan cara menangkap radikal bebas sehingga sangat penting dalam mempertahankan keseimbangan antar oksidan dengan antioksidan didalam tubuh. Flavonoid sebagai antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau reduktor. Mekanisme kerja dari flavonoid sebagai antioksidan adalah bisa secara langsung maupun secara tidak langsung. Flavonoid sebagai antioksidan secara langsung adalah dengan mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menetralsir efek toksik dari radikal bebas. Sedangkan, flavonoid sebagai antioksidan secara tidak langsung yaitu dengan meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui beberapa mekanisme (Sumardika dan Jawi, 2012). Antioksidan mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga menghentikan pembentukan senyawa oksigen reaktif (ROS). Flavonoid mempunyai berat molekul kecil tapi mampu mengaktivasi reaksi oksidasi dengan mencegah terbentuknya radikal bebas (Winarsi, 2007). Tamat (2007) menyatakan bahwa antioksidan merupakan zat yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah terjadinya oksidasi sehingga dapat menstimulasi HIF-1 α untuk pembentukan kembali *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dalam proses angiogenesis terhadap kesembuhan luka. Peran flavonoid ini juga dikombinasikan dengan kandungan vitamin C yang dapat membantu fibroblast dalam mensintesis kolagen untuk perbaikan pada jaringan kulit (Nurliyana *et al.*, 2010). Selain itu, flavonoid juga berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap

protein ekstraseluler yang mengganggu keutuhan dari membran sel bakteri (Sabirin dkk., 2013). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Nuria dkk., 2009).

Berdasarkan hasil uraian dan analisa statistik uji *one way* ANOVA tersebut dapat disimpulkan bahwa terapi menggunakan salep ekstrak etanol kulit buah naga kombinasi lidah buaya konsentrasi 15% merupakan terapi dengan konsentrasi optimal, karena menunjukkan hasil ekspresi VEGF yang tidak berbeda nyata dengan kelompok tikus sehat.

5.2 Pengaruh Salep Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Kombinasi Lidah Buaya Terhadap Gambaran Histopatologi Kulit Tikus (*Rattus novergicus*) Hewan Model Luka Insisi.

Pengaruh pemberian salep ekstrak etanol kulit buah naga kombinasi lidah buaya terhadap histopatologi kulit tikus (*Rattus novergicus*) hewan model luka insisi dapat diamati secara deskriptif melalui pengamatan histopatologi kulit tikus. Gambaran histopatologi kulit diamati melalui mikroskop Olympus BX-5 dengan perbesaran 400x.

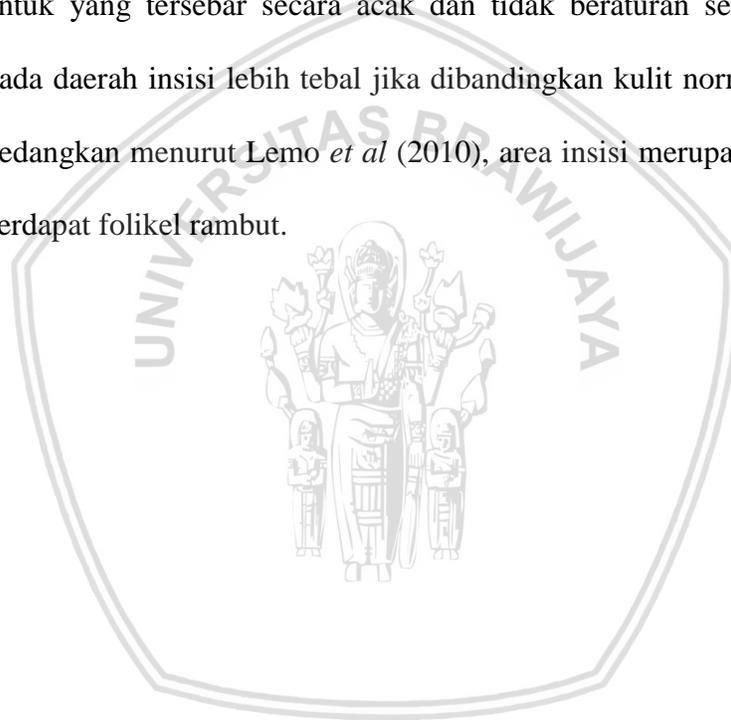
Hasil pengamatan preparat histopatologi dengan perbesaran total 400x tampak pada kelompok kontrol negatif (**Gambar 5.7 A**) menunjukkan gambaran histopatologi normal kulit bagian dermis terlihat adanya sedikit sel radang dan fibroblast. Menurut Kalangi (2013) struktur histofisiologi kulit normal pada bagian

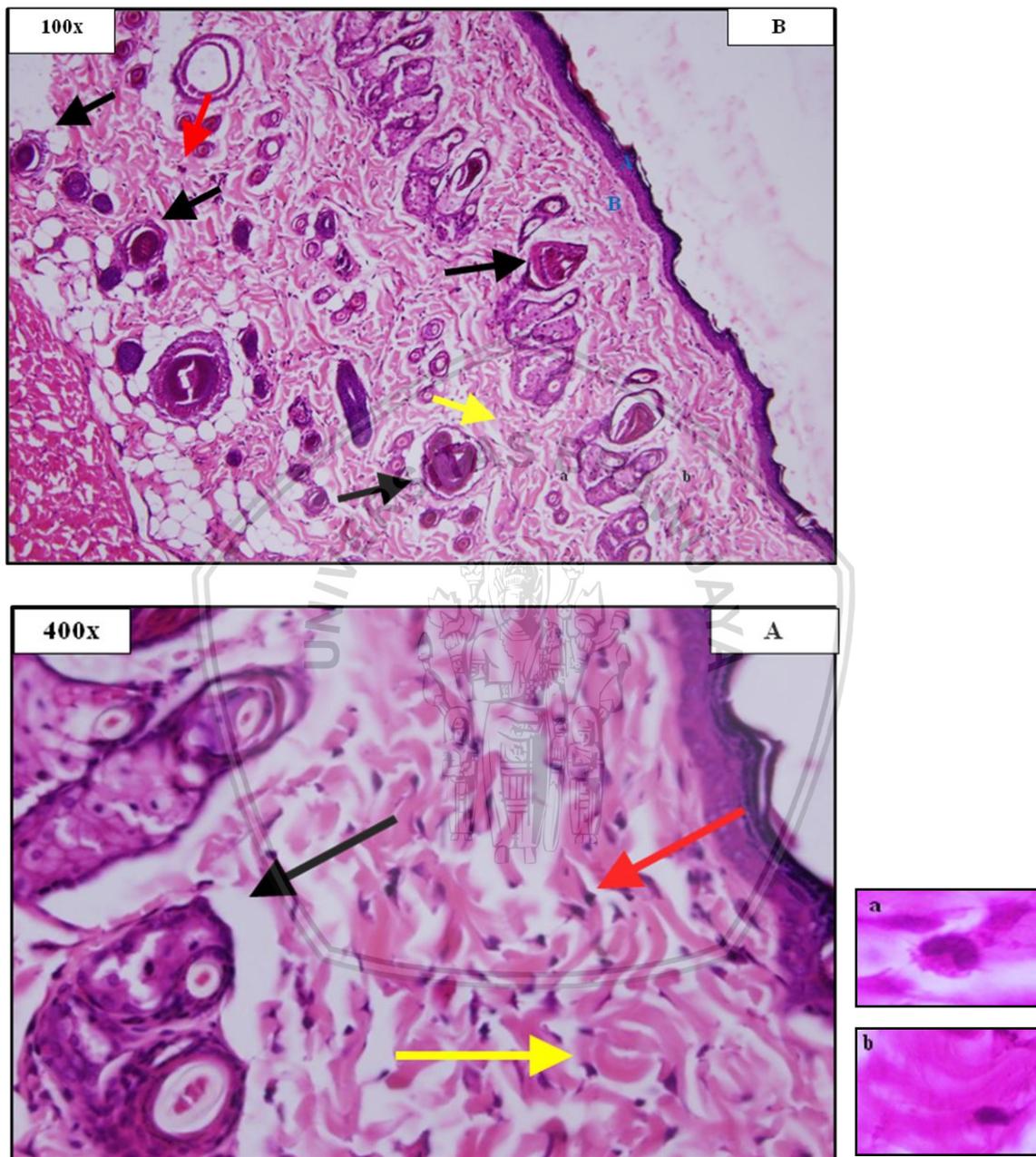
dermis terdiri atas stratum papilaris, stratum retikularis, dan sel-sel dermis. Sel-sel dermis merupakan sel-sel jaringan ikat seperti fibroblas, sel lemak, sedikit makrofag, dan sel mast. Pada histopatologi kulit kontrol positif (**Gambar 5.7 B**) ditunjukkan banyak terdapat sel radang dan terlihat adanya fibroblast yang mulai terbentuk secara acak. Banyaknya sel radang yang terlihat karena adanya respon inflamasi pada jaringan yang mengalami luka. Pada kelompok terapi salep ekstrak etanol kulit buah naga kombinasi lidah buaya konsentrasi 5% (**Gambar 5.7 C**) gambaran histopatologi kulit hari ke-10 terdapat sel radang serta tampak fibroblast yang masih tersusun acak renggang. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok P1 masih mengalami inflamasi. Pada gambaran histopatologi kulit kelompok terapi salep ekstrak etanol kulit buah naga kombinasi lidah buaya konsentrasi 10% (**Gambar 5.7 D**) masih terlihat sedikit sel radang dan sel fibroblast belum terlihat kompak. Hal ini menunjukkan bahwa fase inflamasi pada kelompok ini masih terus berlangsung. Kelompok P3 adalah kelompok yang diterapi salep ekstrak etanol kulit buah naga kombinasi lidah buaya konsentrasi 15% (**Gambar 5.7 E**). Gambaran histopatologi kelompok P3 terlihat sedikit sel radang dan sel fibroblast sudah terlihat beraturan.

Kelompok terapi salep ekstrak etanol kulit buah naga kombinasi lidah buaya menunjukkan gambaran histopatologi kulit dimana sudah terbentuk jaringan granulasi. Jaringan granulasi ialah jaringan ikat muda yang mengisi perlukaan terdiri atas fibroblast, pembuluh darah baru, dan sel inflamasi yang didominasi oleh makrofag. Pada penyembuhan luka, jaringan granulasi mulai terbentuk sekitar hari ke-3. Fibroblas berasal dari sel-sel punca yang terdapat pada lamina propria kulit,

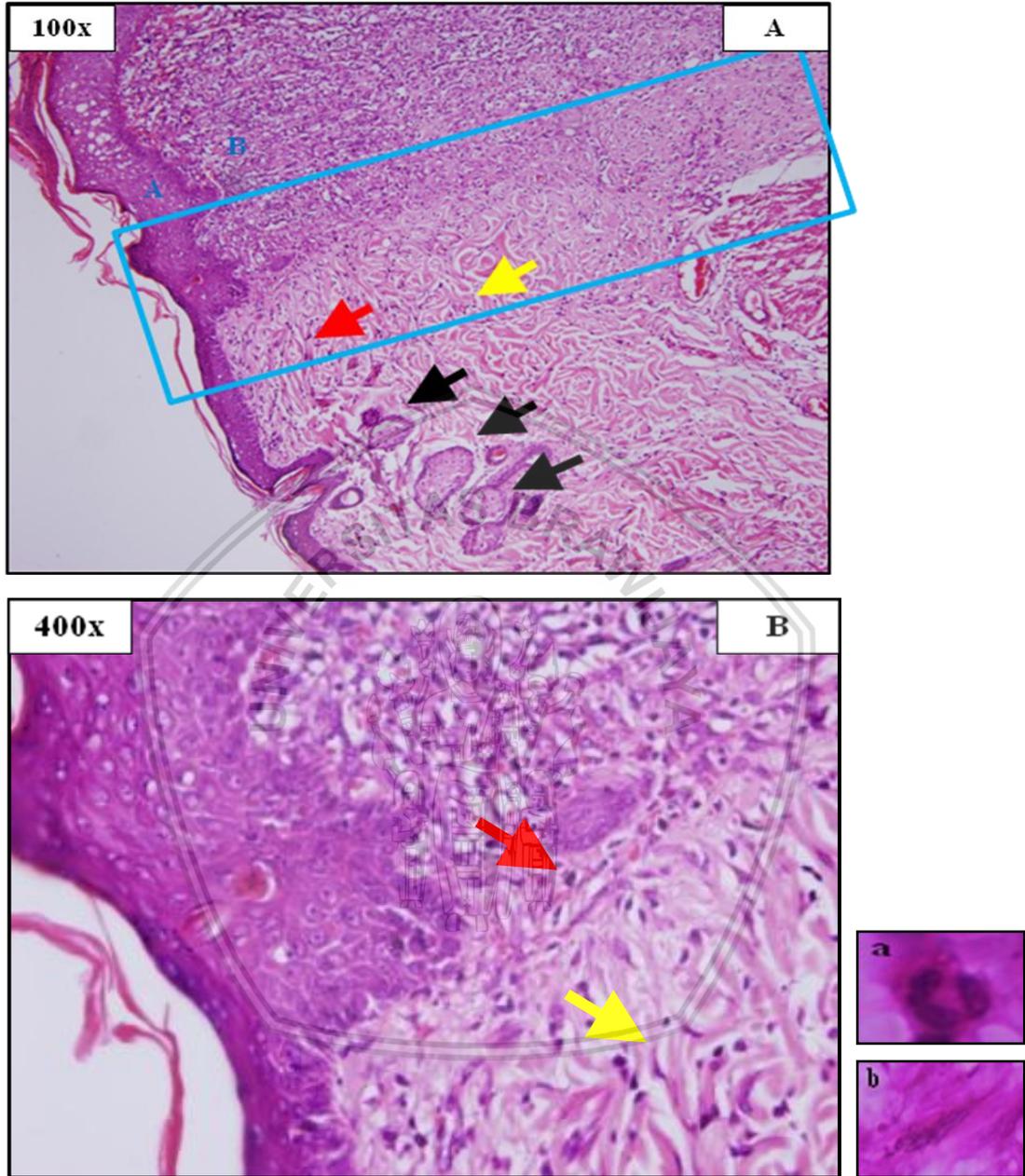
kemudian bermigrasi dan berproliferasi dengan terdapatnya sitokin dan faktor pertumbuhan yang disekresi oleh trombosit dan makrofag saat terjadi luka (Sabirin *et al.*, 2013).

Pada pengamatan histopatologi pada daerah insisi akan terlihat seperti garis yang banyak terdapat sel radang disekitar area insisi. Bagian dermis tampak fibroblast yang mulai terbentuk yang tersebar secara acak dan tidak beraturan sedangkan lapisan epidermis pada daerah insisi lebih tebal jika dibandingkan kulit normal (Vidinsky *et al.*, 2006). Sedangkan menurut Lemo *et al* (2010), area insisi merupakan area kosong yang tidak terdapat folikel rambut.

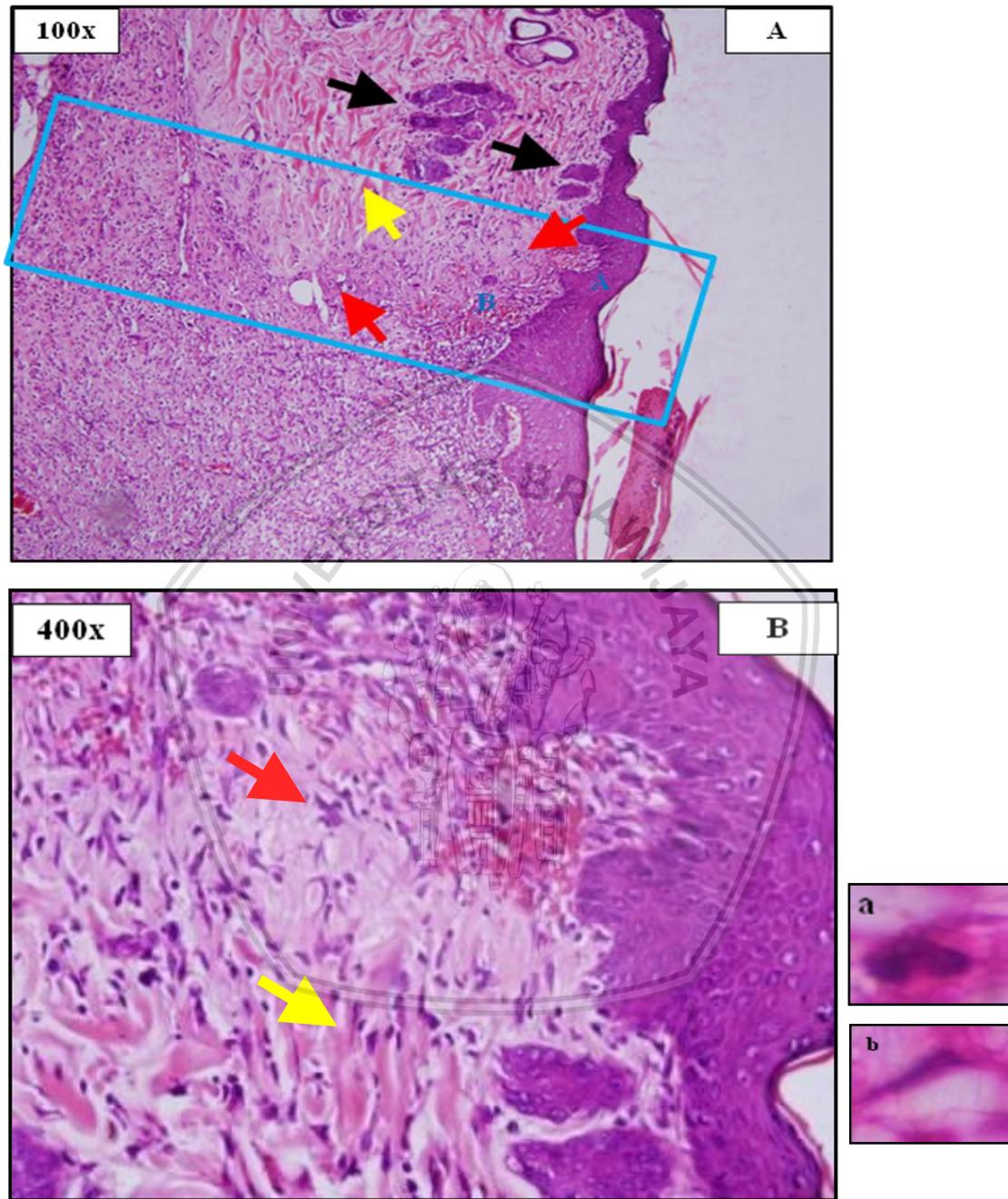




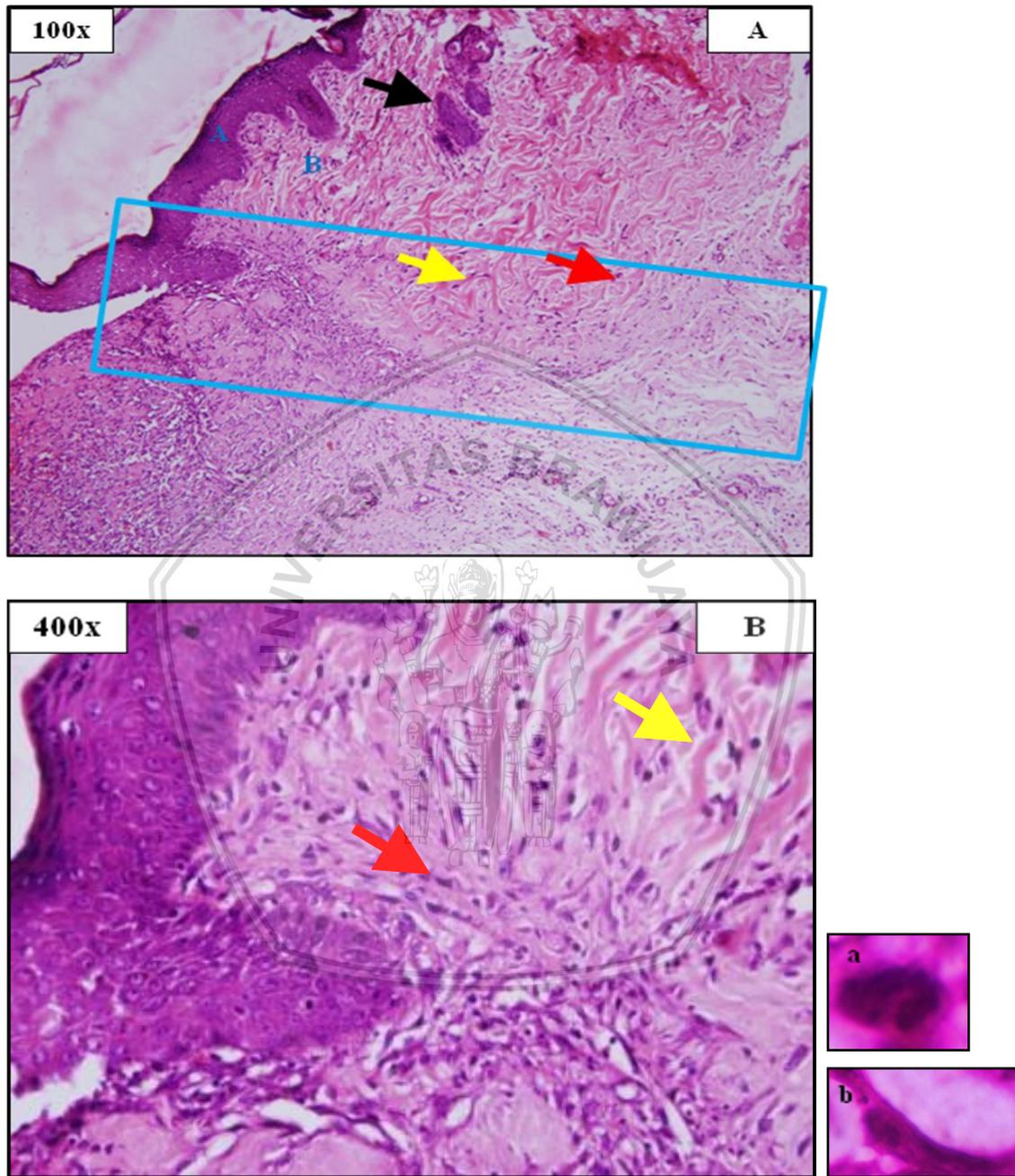
Gambar 5.7A Histopatologi luka kelompok kontrol negatif (tikus tidak disisi dan tanpa diterapi) perbesaran 100x dan 400x terlihat sedikit sel radang dan adanya fibroblast; sel fibroblas (↑), sel radang (↑), folikel rambut (↑), epidermis (A), dermis (B), (a) sel radang dan (b) fibroblas (pewarnaan HE).



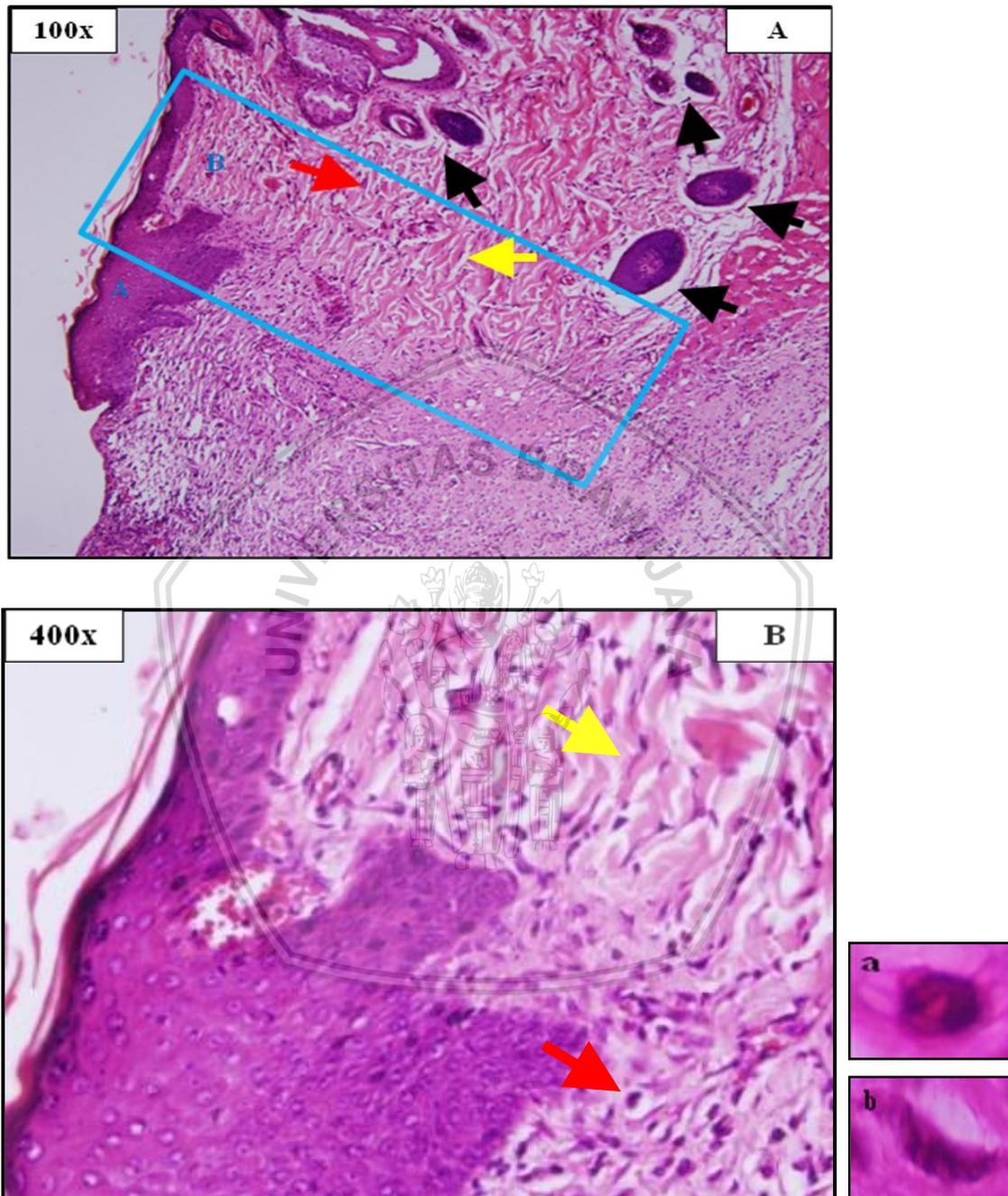
Gambar 5.7B Histopatologi luka kelompok kontrol positif (tikus diinsisi tanpa diterapi) perbesaran 100x dan 400x terlihat banyak terdapat sel radang dan adanya fibroblast yang mulai terbentuk secara acak; daerah insisi menunjukkan adanya jaringan ikat yang masih banyak terdapat rongga di beberapa bagian insisi (↔), sel fibroblast (↗), sel radang (↗), folikel rambut (↑), epidermis (A), dermis (B), (a) sel radang, (b) fibroblast (pewarnaan HE).



Gambar 5.7C Histopatologi luka kelompok perlakuan 1 (tikus diinsisi diberi terapi salep 5%) perbesaran 100x dan 400x terdapat sel radang serta tampak fibroblas yang masih tersusun acak dan renggang; daerah insisi menunjukkan adanya jaringan ikat padat diatas daerah insisi dan bagian bawah insisi masih terdapat sedikit celah (•—), sel fibroblast (♦), sel radang (▲), folikel rambut (♣) epidermis (A), dermis (B), (a) sel radang, (b) fibroblas (pewarnaan HE).



Gambar 5.7D Histopatologi luka kelompok perlakuan 2 (tikus diinsisi diberi terapi salep 10%) perbesaran 100x dan 400x terlihat sedikit sel radang dan terlihat sel fibroblast belum terlihat kompak; daerah insisi menunjukkan area luka terisi jaringan ikat sepanjang area insisi dan tampak adanya celah kecil pada jaringan ikat (●—●), sel fibroblast (↑), sel radang (↑), folikel rambut (↑), epidermis (A), dermis (B), (a) sel radang, (b) fibroblast (pewarnaan HE).



Gambar 5.7E Histopatologi luka kelompok perlakuan 3 (tikus diinsisi diberi terapi salep 15%) perbesaran 100x dan 400x tampak masih terlihat sedikit sel radang dan sel fibroblast sudah terlihat beraturan; daerah insisi menunjukkan area luka terisi penuh jaringan ikat pada sepanjang area insisi mendekati gambaran kontrol negatif (←), sel fibroblas (↑), sel radang (↑), folikel rambut (↑), epidermis (A), dermis (B), (a) sel radang, (b) fibroblast (pewarnaan HE).

Pada faktor pertumbuhan baru pada proses pemulihan jaringan yaitu *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) memiliki peranan untuk meningkatkan proliferasi dan migrasi sel endotel dan membantu pembentukan struktur pembuluh darah dan *Fibroblas Growth Factor* (FGF) berfungsi untuk mengaktivasi keratinosit, fibroblast, dan sel endothelial (Frisca dkk., 2009 dan Velnar *et al*, 2009). Pada penelitian ini jaringan granulasi terlihat telah terbentuk pada semua kelompok perlakuan. Namun adanya sel inflamasi yang membedakan gambaran histopatologi dari tiap kelompok perlakuan.

Kelompok kontrol negatif (K-) (**Gambar 5.7A**) tampak memiliki sedikit sel fibroblast dan sel radang jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (K+) (**Gambar 5.7B**). Hal ini menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif (K+) masih mengalami inflamasi dan belum memasuki fase proliferasi. Banyaknya sel radang yang terlihat karena adanya respon inflamasi pada jaringan yang mengalami luka. Menurut Prasetyo dkk. (2010) pada jaringan yang normal (tanpa perlukaan) pemaparan sel fibroblas sangat jarang dan biasanya bersembunyi di matriks jaringan ikat. Setelah terjadi luka, kemudian akan berproliferasi serta mengeluarkan beberapa substansi (kolagen, elastin, hyaluronic acid, fibronectin dan proteoglycans) yang berperan dalam rekontruksi.

Pada kelompok terapi salep ekstrak etanol kulit buah naga kombinasi lidah buaya konsentrasi 5% (P1) (**Gambar 5.7C**), dibandingkan dengan kelompok terapi salep ekstrak etanol kulit buah naga kombinasi lidah buaya konsentrasi 10% (P2) (**Gambar 5.7D**) dan kelompok terapi salep ekstrak etanol kulit buah naga kombinasi lidah

buaya konsentrasi 15% (P3) (**Gambar 5.7E**) tampak perbaikan jaringan masih belum sempurna yang ditandai dengan terbentuknya sel fibroblast yang masih tersusun acak dan renggang serta terlihat banyak sekali sel-sel radang. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok P1 masih mengalami inflamasi. Sedangkan pada kelompok terapi salep ekstrak etanol kulit buah naga kombinasi lidah buaya konsentrasi 15% (P3) (**Gambar 5.7E**) terlihat adanya perbaikan jaringan yang ditandai dengan banyak ditemuinya sel fibroblast yang sudah tersusun beraturan dan sedikit sel radang. Hal ini menunjukkan bahwa inflamasi sudah bisa teratasi dan telah memasuki fase proliferasi dan proses penyembuhan yang berlangsung lebih cepat karena adanya kandungan flavonoid dan asam salisilat yang digunakan sebagai terapi. Flavonoid pada salep ekstrak etanol kulit buah naga merah berfungsi sebagai antioksidan, anti inflamasi, dan merangsang pembentukan jaringan baru sehingga terjadi percepatan penyembuhan luka. Asam salisilat pada salep ekstrak etanol buah naga dapat berfungsi sebagai anti inflamasi, anti jamur, anti bakteri, dan membantu proses regenerasi sel (Chindo, 2015).

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

Secara umum, proses penyembuhan luka yang berjalan normal dan tidak mengalami penghambatan dimulai dengan terjadinya proses proliferasi yang terjadi 3 hari setelah terjadinya luka. Pada tingkat seluler luka mengalami reepitelisasi selama kurang 48 jam, hal tersebut diduga akibat peranan faktor pertumbuhan diantaranya yaitu EGF, TGF β , FGF, PDGF, dan IGF. Proses proliferasi akan terus menerus berulang ketika permukaan epitel sudah menebal, kemudian dilanjutkan dengan fibroblas yang akan muncul pada bagian dalam luka, yang selanjutnya akan memproduksi kolagen untuk membentuk jaringan ikat (Setiawan, 2017).

Proses dari proliferasi selanjutnya akan melalui proses remodeling yang meliputi mobilisasi, migrasi, mitosis, diferensiasi sel epitel menjadi epidermis yang berlapis-lapis, dan kembalinya basement membrane zone menjadi utuh yang akan menghubungkan bagian dermis dan epidermis (Wahab *et al*, 2002).

Tahapan-tahapan ini merupakan proses penyembuhan luka yang akan mengembalikan integritas kulit yang hilang akibat trauma atau perlukaan, ketika kerusakan yang terjadi hanya sedikit dan berlangsung singkat, maka secara normal jaringan yang terjadi hanya sedikit dan berlangsung singkat, maka secara normal jaringan akan mampu memperbaiki kerusakan yang terjadi sehingga hasil akhir yang terjadi ditunjukkan dengan kembalinya fungsi normal jaringan yang dapat dilihat secara histologi dari jaringan tersebut.

Berlangsungnya penyembuhan luka ditandai dengan bertambahnya jumlah fibroblas hingga hari ke-4 dan perlahan turun pada hari ke-8. Bertambahnya fibroblas akan menghasilkan kolagen yang membentuk jaringan ikat sehingga jaringan

granulasi akan mengumpulkan matriks jaringan ikat secara progresif, yang pada akhirnya akan menghasilkan fibroblas (pembentukan jaringan baru). Fase proliferasi akan berakhir jika epitel dermis dan lapisan kolagen telah terbentuk, terlihat proses kontraksi dan akan dipercepat oleh berbagai faktor pertumbuhan yang dibentuk oleh makrofag dan platelet.

Pemberian terapi pada penelitian ini bertujuan untuk mempercepat penyembuhan luka insisi. Proses proliferasi yang terjadi pada kelompok terapi dimungkinkan karena pemberian salep ekstrak etanol kulit buah naga merah kombinasi lidah buaya yang mengandung senyawa flavonoid dan asam salisilat memiliki manfaat dalam perbaikan luka. Kandungan flavonoid dapat merangsang pembentukan sel epitel baru dan mendukung proses reepitelisasi sehingga terjadi percepatan persembuhan luka. Flavonoid merupakan antioksidan eksogen yang dapat mencegah kerusakan sel akibat stres oksidatif. Mekanisme kerja dari flavonoid sebagai antioksidan bisa secara langsung maupun secara tidak langsung. Flavonoid sebagai antioksidan secara langsung adalah dengan mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menetralkan efek toksik dari radikal bebas. Flavonoid sebagai antioksidan secara tidak langsung yaitu dengan meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui beberapa mekanisme. Salah satu mekanisme peningkatan ekspresi gen antioksidan adalah melalui aktivasi *nuclear factor erythroid 2 related factor 2* (Nrf2) sehingga terjadi peningkatan gen yang berperan dalam sintesis enzim antioksidan endogen seperti misalnya gen SOD (*superoxide dismutase*) (Sumardika dan Jawi, 2012).

Asam salisilat yang terkandung dalam lidah buaya berfungsi untuk mencegah biosintesis prostaglandin dari asam arakhidonat. Prostaglandin memainkan peran integral dalam mengatur baik peradangan dan reaksi kekebalan tubuh. Lidah buaya dapat mempengaruhi kedua sistem ini dengan memblokir sistem prostaglandin. Lidah buaya (*Aloe Vera*) dapat merangsang pertumbuhan fibroblast untuk meningkatkan penyembuhan luka dan menghalangi penyebaran infeksi. Efek analgesik lidah buaya sinergis dengan aspirin. Lidah buaya memiliki komponen stimulasi dan penghambatan. Lidah buaya dapat memodulasi baik reaksi kekebalan maupun reaksi inflamasi. Lidah buaya dapat bertindak sebagai stimulator penyembuhan luka dan produksi antibodi. Lidah buaya dapat memblokir sintesis prostaglandin dan memodulasi produksi limfosit dan makrofag derivat mediator (limphokinins) termasuk interleukins dan interferon (Chindo, 2015).

5.3 Korelasi antara VEGF dan Histopatologi Kulit.

Berdasarkan gambaran histopatologi didapatkan kelompok kontrol negatif (K-) memiliki sedikit sel radang dan sel fibroblast, hal ini sesuai dengan gambaran ekspresi VEGF K- yang ditunjukkan dengan adanya warna coklat pekat pada sel endotel. Pada gambaran histopatologi kelompok kontrol positif (K+) didapatkan banyak terdapat sel radang dan terlihat adanya fibroblast yang mulai terbentuk secara acak. Gambaran ini sesuai dengan ekspresi VEGF K+ dengan adanya ekspresi warna coklat pucat pada sel endotel. Sedangkan pada kelompok terapi salep ekstrak etanol kulit buah naga merah kombinasi lidah buaya konsentrasi 5% (P1) didapatkan bahwa

terdapat sel radang serta tampak fibroblast yang masih tersusun acak dan renggang, pada gambaran ekspresi VEGF P1 ditunjukkan adanya warna coklat pada sel endotel yang lebih tinggi dibanding kelompok K+. Kelompok terapi salep ekstrak etanol kulit buah naga merah kombinasi lidah buaya konsentrasi 10% (P2) didapatkan bahwa masih terlihat sedikit sel radang dan sel fibroblast belum terlihat kompak, hal ini sesuai dengan gambaran ekspresi VEGF kelompok P2 yang ditunjukkan adanya warna coklat yang lebih pekat dibandingkan kelompok P1. Sedangkan pada kelompok terapi salep ekstrak etanol kulit buah naga merah kombinasi lidah buaya konsentrasi 15% (P3) terlihat sedikit sel radang dan sel fibroblast sudah terlihat beraturan, hal ini sesuai dengan gambaran ekspresi VEGF kelompok P3 yang ditunjukkan adanya ekspresi warna coklat lebih banyak dibandingkan K(-).

Berdasarkan gambaran histopatologis diatas, gambaran histopatologi pada kelompok terapi salep ekstrak etanol kulit buah naga kombinasi lidah buaya konsentrasi 15% dan kelompok kontrol negatif memiliki gambaran yang hampir sama. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi 15% merupakan dosis terbaik untuk membantu proses penyembuhan luka insisi.

BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah disimpulkan dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Salep ekstrak etanol kulit buah naga merah kombinasi lidah buaya konsentrasi 15% merupakan dosis terbaik dalam meningkatkan ekspresi VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) di jaringan kulit hewan model tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Pemberian salep ekstrak etanol kulit buah naga merah kombinasi lidah buaya konsentrasi 5%, 10%, dan 15% dapat memperbaiki struktur histopatologi kulit pada jaringan luka insisi tikus putih (*Rattus norvegicus*) jika dibandingkan dengan kelompok positif, akan tetapi dosis terapi yang terbaik konsentrasi 15%.

6.2 Saran

Sebaiknya lama terapi ditambah untuk mendapatkan efek terapi salep ekstrak etanol kulit buah naga merah kombinasi lidah buaya yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Anastasia. 2014. Uji Antioksidan Fraksi Kloroform Kulit Buah Naga Merah (*Hyalocereus lemairei* Britton dan Rose) Menggunakan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UNTAN*. Volume 1. Nomor 1.
- Ansel, H.C., L.V. Allen and Popovich., 2005. *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery System, Eight Edition*. Lippincot William & Wilkins a Waters Kluvers Company, Philadelphia.
- Ashari, Y. 2013. *Pemberian Salep Ekstrak Daun Mengkudu (Morindacitriifolia L.) Terhadap Peningkatan Kepadatan Sabut Kolagen pada Mukosa Oral Mulut*. [SKRIPSI]. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
- Aswarita, R. 2013. Interaksi Ekstrak Daun Lidah Buaya (*Aloe Vera L.*) 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.
- Atik, N., A.R.J. Iwan. 2010. *Perbedaan Efek Pemberian Topikal Gel Lidah Buaya (Aloe vera L.) dengan Solusio Povidone Iodine Terhadap Penyembuhan Luka Sayat pada Kulit Mencit (Mus musculus)*. Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran Bandung.
- Baraas, F. 2006. *Kardio Molekuler, Radikal Bebas Disfungsi Endotel, Aterosklerosis, Antioksidan, Latihan Fisik dan Rehabilitasi Jantung*. Jakarta: Yayasan Kardia Ikratama. Hal 266-295.
- Baroroh, D.B., 2011. *Konsep Luka*. Basic Nursing Departement PSIK FIKES UMM. Malang.
- Baumann, L., S. Saghari, and E. Weisberg. 2009. *Cosmetic Dermatology Principle and Practice*. The McGraw-Hill Companies Inc. United States.
- Briant. 2007. *Biology of Vascular Endothelial Growth Factors*. FEBS Letters; 580; 2879-87.
- Brown, R.G., and T. Burns. 2005. *Dermatologi Edisi Kedelapan*. Erlangga. Jakarta.
- Burn, C. B., 2000. The Epidemiology of Systemic Inflammatory Respon. *Intensive Care Med*. 26: S 64-74.

- Cahyono, B. 2009. *Buku Terlengkap Sukses Bertanam Buah Naga*. Pustaka Mina. Jakarta.
- Calabro, K., A. Curtis, J.R. Galarneau, T.Krucker, I. J. Bigio. 2011. Gender Variation in the Optical Properties of Skin in Murine Animal Models. *Journal of Biomedical Optics*. 16(1) January.
- Chandra, I. A. 2014. *Pemberian Gel Nanochitosan-PRP Topikal Menurunkan Ekspresi MMP-1 dan Meningkatkan Jumlah Kolagen pada Jaringan Luka Tikus Wistar* [thesis]. Universitas Udayana. Bali.
- Chrysmar, S. Prahastuti., E. Evacuasiyany. 2010. *Perbandingan Efek Ekstrak Kunyit (Curcuma domestica Val) dan Madu (Mel deporatum) Terhadap Penyembuhan Luka Insisi pada mencit (Mus musculus) Swiss Webster Jantan*. Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha.
- Chindo, N. A. 2015. *Benefits Of Aloe Vera Substances Anti-Inflammatory of Stomatitis*. Lampung: Faculty of Medicine, Lampung University.
- Dalimartha, S. 2008. *Atlas Tumbuhan Indonesia Jilid 5*. Jakarta: Pustaka Bunda.
- Danu, M. dan D. Ishandono. 2012. The Effect of Aloe Vera on Healing Process of Incision Wound. *Jurnal Plastik Rekontruksi*.
- Direktorat Jendral Holtikultura. 2009. *Pedoman Baku Budidaya Standar Operating Procedure (SOP) Buah Naga (Hylocereus undatus) Kabupaten Sleman*. Departemen Pertanian. Daerah Istimewa Yogyakarta.
- Djawa, F. M. dan I. Susilo. 2013. Pengaruh Pemberian Topikal Low Molecular Weight Hyaluronate pada Ekspresi VEGF Luka Superfisial yang Dirawat dengan Membran Amnion Freeze-Dried. *Majalah Patologi*. Vol.22 No.1, Januari 2013.
- Duerr, J.S. 2006. Immunohistochemistry. Department of Biological sciences Ohio University. USA.
- Eroschenko, V. P. 2012. *Atlas Histologi Di Fiore dengan Korelasi Fngsional*. Edisi 11. EGC. Jakarta.
- Farikha, I. N., C. Anam, E. Widowati. 2013. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Bahan Penstabil Alami Terhadap Karakteristik Fisikokimia, Sari Buah Naga Merah (Hylocereus polyrhizus) Selama Penyimpanan. *Jurnal Teknosains Pangan* Vol. 2 No. 1.

- FatimatuZZahroh, N. K. Firani, 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*.
- Febram, B., Wientarsih, I. dan Pontjo, B. 2010. Activity Of Ambon Banana (*Musa Paradisiaca* Var. *Sapientum*) Stem Extract In Ointment Formulation On The Wound Healing Process Of Mice Skin (*Mus Musculus Albinus*). *Majalah Obat Tradisional* 15(3):121-137
- Fuhrman, B. dan Aviram M. 2002. *Polyphenols and Flavonoids Protect LDL Against Atherogenic Modifications*. Handbook of Antioxidant. 2nd edition. Marcel Dekker. Inc. P. 303-327.
- Frisca, C.T. Sardjono, dan F. Sandra. 2009. Angiogenesis : Patofisiologi dan Aplikasi Klinis. *Jurnal Kesehatan Masyarakat* 8 (2) 174-187.
- Gurtner, G.C. 2007. *Wound Healing: Normal and Abnormal*. In Thorne Ch, Beasley, R. W., Aston, S.J., Bartlett, S.P., Gurtner, G.C., Spear, S.L. (Eds). *Grabb and Smith's Plastic Surgery*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; p: 15-22.
- Guyton, A. 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta : EGC.
- Harborne, J. 1987. Metode *Fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Penerjemah K. Padmawinata dan I. Soediro. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Hayati, K. 2009. *Efek Anti Bakteri Ekstrak Lidah Buaya (Aloe vera) Terhadap Stahylococcus aureus yang Diisolasi dari Denture Stomatitis (Penelitian In Vitro)* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Hupp, J.R. 2003. *Wound Repair, Comtemporary Oral and maxillofacial Surgery*. 4th ed. Mosby. p.49-62.
- Ide, P. 2009. *The Healthy Secret of Dragon Fruit*. Media Elex Komputindo. Jakarta.
- Jamaludin. 2015. *Perbandingan Kadar Serum Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) dan Matriks Metalloproteinase-9 (MMP-9) pada Pasien Gastritis H.Pylory*. TESIS. Program Magister Kedokteran Klinik. Universitas Sumatera Utara, Medan.

- Janquiera, L.C., and J. Carneiro. 2007. *Basic Histology*. The Mc Graw- Hill Companies pp 373-381.
- Joenoës, N.Z., 2010b. *Ars Prescribendi Resep yang Rasional 3*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Kalangi, S. J. R. 2013. Histofisiologi Kulit. *Jurnal Biomedik Vol. 5 No. 3*.
- Kusriningrum. 2008. *Dasar Perancangan Percobaan Rancangan Acak Lengkap*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Laila, D. L. 2016. *Studi Ekspresi TGF- β dan Ketebalan Epidermis Tikus Jantan Strain Wistar (*Rattus novergicus*) pada Luka Insisi yang Diterapi Salep Ekstrak Kulit Buah Naga (*Hylicererus costaricensis*)* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Larasaty, W., 2013. *Uji Anti Fertilitas Ekstrak Etil Asetat Biji Jarak Pagar (*Jatropha Curcas L.*) pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur sprague-Dwaley Secara InVivo*. [Skripsi]. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta. 11.
- Lazuardi, M., 2008. *Diktat Pemilihan Bentuk Sediaan Obat Hewan untuk Kebutuhan Terapi*. FKH. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Lazuardi, M., 2011. *Diktat Serial Ilmu Farmasi : Perihal Dosis*. FKH. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Lemo, N., G. Marugnac, Reyes, G. Edouard, T. Lilin, and O. Crosaz. 2010. Cutaneous Reepithelization and Wound Contraction After Skin Biopsies in Rabbits: a Mathematical Model for Healing and Remodelling Index. *VETERINARSKlarhiv* 80(5), 637-652.
- Mackay, D. and A. L. Miller. 2003. Nutritional Support for Wound Healing. *Alternatif Medicine Review*, 8, 369-370.
- Mescher A. L. 2012. *Histologi Dasar Junqueira Teks dan Atlas*. Edisi ke-11. ECG. Jakarta.
- Molnar, J. A. 2007. *Nutrition and Wound Healing*. CRC Press Taylor and Francis Group. Boca Raton. hal. 2-6.

- Mutschler, E. 2010. *Dinamika Obat Edisi ke-5*. Penerbit ITB. Bandung
- Natsir, N. A. 2013. Pengaruh Ekstrak Daun Lidah Buaya (*Aloe vera*) sebagai Penghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Prosiding Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*. Universitas Pattimura. Ambon.
- Nagori, B.P., and R. Solanki. 2011. Role of medicinal plants in wound healing. *Research Journal of Medicinal Plant*. 5(4): 392-405.
- 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*. Vol. 2 No. 02.
- Nofikasari, I., A. Rufaida, C.D. Aqmarina, Failaso, A.R. Fauzia, J. Handajani. 2016. Efek Aplikasi Topikal Gel Ekstrak Pandan Wangi Terhadap Penyembuhan Luka Gingiva. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. Vol 2 No 2 – Agustus 2016.
- Nogami S., S. Satoh, M. Nakano, H. Shimizu, H. Fukushima, A. Maruyama, A. Terano, dan H. Shirataki. 2007. Taxilin; a novel syntaxin-binding protein that is *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Medigro jurnal*. Vol. 5 No. 2, 26-27.
- Nurliyana. R., Z.I. Syed, S.K. Mustapha, M.R. Aisyah, and R.K. Kamarul. 2010. Antioxidant Study of Pulps and Peels of Dragon Fruits: A Comparative Study. *International Food Research Journal*, 17: 367-375.
- Nuria, M. C., A. Faizatun, Sumantri. 2009. Uji Aktivitas antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*) Terhadap Bakteri *staphylococcus aureus* ATCC 1408. *Medigro Jurnal*. Vol.5 No. 2, 26-27.
- Taiwan Food Industry Develop and Research Authoritis dalam Panjuantiningrum, F. 2009. *Pengaruh Pemberian Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih yang Diinduksi Aloksan [skripsi]*. Fakultas Kedokteran. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Perdanakusuma D.S. 2007. *Anatomi Fisiologi Kulit dan Penyembuhan Luka*. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
- Putri, N.K.M., I.W.G. Gunawan dan I.W. Suarsa. 2015. *Aktifitas Antioksidan Antosianin dalam Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Super Merah (*Hyalocereus**

- costaricensis*) dan Analisis Kadar Totalnya. Jurusan Kimia FMIPA. Universitas Udayan. Bukit Jimbaran. Bali
- Potter, P.A. dan A.G. Perry. 2006. *Buku Ajar Fundamental Keperawatan: Konsep, Proses, dan Praktik*. Edisi 4. Volume 2. Alih Bahasa oleh Renata Komalasari, dkk. Jakarta: EGC.
- Prasetyo, B.F.I. Wientarsih, dan B.P. Priosoeryanto. 2010. Aktivitas sediaan gel ekstrak batang pohon pisang ambon dalam proses penyembuhan luka pada mencit. *J. Veteriner* 11(2):70-73.
- Price dan Wilson. 2005. *Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Edisi 6. Vol.2. EGC. Jakarta.
- Rahayu, F., A. FW. Wiwit., W. Rahayu. 2010. *Pengaruh Pemberian Topikal Gel Lidah Buaya (Aloe chinensis Baker) Terhadap Reepitalisasi Epidermis pada Luka Sayat Kulit Mencit (Mus musculus)*. Fakultas Kedokteran Riau. Pekanbaru.
- Rahayu, F., W.F.W. Ade, dan W. Rahayu. 2013. Pengaruh Pemberian Topikal Gel Lidah Buaya (Aloe chinensis Baker) Terhadap Reepitalisasi Epidermis pada Luka Sayat Kulit Mencit (Mus musculus). *Jurnal Kedokteran Riau*.
- Rohmawati, Nina. 2008. *Efek Penyembuhan Luka Bakar Dalam Sediaan Gel Ekstak Etanol 70% Daun Lidah Buaya (Aloe vera L.) Pada Kulit Punggung Kelinci New Zealand*. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Saati, E.A. 2010. Identifikasi dan Uji Kualitas Pigmen Kulit Buah Naga Merah (Hyalocereus Costaricensis) pada Beberapa Umur Simpan dengan Perbedaan Jenis Pelarut. *GAMMA*. Volume 6. Nomor 1. September: 25-34.
- Sabarin, IPR., AM. Maskoen, BS. Hernowo. 2013. Peran Ekstrak Ethanol Topikal Daun Mengkudu (Morinda citrofolia L.) Pada Penyembuhan Luka Ditinjau dari Imunoekspresi CD34 dan Kolagen pada Tikus Galur Wistar. *MKB volume 45 No. 4*.
- Sabirin, I.P.R., A.M. Maskuen, dan B.S. Hernomo. 2013. Peran Ekstrak Etanol Topikal Daun Mengkudu (Morinda citripohal) pada Penyembuhan Luka Ditinjau dari Imuno Ekspresi CD34 dan Kolagen pada Tikus Wistar. *Jurnal Kedokteran Padjajaran*, 45(4) :226-33.

- Schultz, G.S. 2007. *The Physiology of Wound Bed Preparation*. In Granick MS, Ganeli RL., (Eds). *Surgical Wound Healing and Management*. Informa Healthcare USA Inc. New York, pp 1-5.
- Setiawan, V.A. 2017. *Studi Ekspresi IL-1 dan Histopatologi Kulit Tikus (Rattus norvegicus) Model Diabetes Mellitus Pasca Laparotomi yang Diterapi Salep Ekstrak Etanol Krokot (Portulacaoleraceae L.)* Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Sinaga, M. dan R. Tarigan. 2012. Penggunaan Bahan pada Perawatan Luka. *Jurnal Keperawatan Klinis*. Vol. 3 No. 1.
- Sjamsuhidayat, R., dan W. Jong. 2005. *Buku Ajar Ilmu Bedah*. (Ed 2). Jakarta: EGC.
- Sudrajat, I. 2006. *Perbandingan dan Hubungan Skor Histologi CD8+ dan Rasio Skor Histologi CD4+/CD8+ di Sekitar Luka dengan dan Tanpa Infiltrasi Levobupivakain Pada Penyembuhan Luka Pasca Insisi*. Universitas Diponegoro Semarang. Semarang.
- Sumardika, I W., dan I.M. Jawi. 2012. Ekstrak Air Daun Ubijalar Ungu Memperbaiki Profil Lipid Dan Meningkatkan Kadar SOD Darah Tikus Yang Diberi Makanan Tinggi Kolestrol. *Jurnal Ilmiah Kedokteran: Medicin*. Vol. 43 No. 2, 67-71.
- Solihati, A. A. 2008. *Pengemasan Atmosfer Termodifikasi Buah Naga Terolah Minimal* [skripsi]. Bogor : Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Soni, H. and A.K. Singhai. 2012. A Recent Update of Botanicals for Wound Healing Activity. *International Research Journal of Pharmacy*, 3. P.1-6.
- Stintzing, F.C., A. Scheibe, and R. Carle. 2002. Bettacyanin in Fruit from Redpurple Pitaya (hylocereus Polyrhizus). *Britton and Rose Food Chemistry*, 77: 101-106.
- Susanti, E., 2015. *Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih (Rattus Norvegicus) yang Diberi Insektisida Golongan Piretroid (Sipetmetrin)*. [skripsi]. Program Studi Kedokteran Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanudin. Makassar. 28.
- Syamsuni, H.A. 2006. *Ilmu Resep*. Jakarta: EGC. Halaman 63-66.

- Tamat., 2007. Pemanfaatan kulit buah naga super merah (*Hylocereus costaricensis*), sebagai sumber antioksidan dan pewarna alami pada pembuatan Jelly. *Jurnal Teknologi Pangan*. Vol 2 : 68-85.
- Thakur, R., N. Jain, R. Pathak, and S.S. Shandhu. 2011. Practices in Wound Healing Studies of Plants. *Review Article Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.p.1-15.
- 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.
- Velnar,T., V. Bailey, 2009. *The Wound Healing Process: An Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms*. I. Int. Medical Res.
- Vidinsky, B., P. Gal, T. Toporcer, F. Longauer, L. Lenhardt, N. Bobrov, and J. Sabo. 2006. Histological Study of the First Seven Days of Skin Wound Healing in Rat. *Acta Veterinaria Brno*. 75: 197-202.
- Yanhendri., S.W. Y. 2012. *Berbagai Bentuk Sediaan Topikal dalam Dermatologi*. Padang: Bagian Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.
- Wahab, A.S, M. Julia. 2002. Sistem Imun, Imunisasi, dan Penyakit Imun. Jakarta: Widya Medika.
- Wasitaatmadja, S.M. 2011. *Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin*. Balai Penerbit FKUI. Jakarta.
- Wijayakusuma, H. M. H. 2008. *Atasi Kanker dengan Tanaman Obat*. Jakarta: Puspa Swara.
- Winarsi, H., 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta