PENGARUH PENGGUNAAN GETAH NANGKA (Artocarpus heterophyllus) TERHADAP NOCICEPTIVE WITHDRAWAL TIME TEST DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI TENDON PADA MODEL ROBEK TENDON TIKUS (Rattus norvegicus)

SKRIPSI

Oleh: ADITYA FERNANDO 155130101111080



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019

PENGARUH PENGGUNAAN GETAH NANGKA (Artocarpus heterophyllus) TERHADAP NOCICEPTIVE WITHDRAWAL TIME TEST DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI TENDON PADA MODEL ROBEK TENDON TIKUS (Rattus norvegicus)

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan

> Oleh: ADITYA FERNANDO 155130101111080



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

PENGARUH PENGGUNAAN GETAH NANGKA (Artocarpus heterophyllus) TERHADAP NOCICEPTIVE WITHDRAWAL TIME TEST DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI TENDON PADA MODEL ROBEK TENDON TIKUS (Rattus norvegicus)

Oleh:

ADITYA FERNANDO 155130101111080

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji Pada tanggal 30 April 2019 Dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

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

drh. Fajar Shodiq Permata, M.Biotech

NIP. 19600903 198802 2 001

NIP. 19870501 201504 1 001

Mengetahui, Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya

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

NIP. 19631216 198803 1 002

BRAWIJAY/

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Aditya Fernando

NIM : 155130101111080

Program Studi : Kedokteran Hewan

Penulis Skripsi berjudul:

Pengaruh Penggunaan Getah Nangka (*Artocarpus Heterophyllus*) Terhadap *Nociceptive Withdrawal Time Test* Dan Gambaran Histopatologi Tendon Pada Model Robek Tendon Tikus (*Rattus norvegicus*)

Dengan ini menyatakan bahwa:

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

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 14 Mei 2019 Yang menyatakan,

<u>Aditya Fernando</u> NIM. 155130101111076

PENGARUH PENGGUNAAN GETAH NANGKA (Artocarpus heterophyllus) TERHADAP NOCICEPTIVE WITHDRAWAL TIME TEST DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI TENDON PADA MODEL ROBEK TENDON TIKUS (Rattus norvegicus)

ABSTRAK

Salah satu masalah kesehatan yang paling sering terjadi pada kuda pacu adalah robek tendon achilles. Apabila tendon achilles robek, maka kuda akan kesulitan atau bahkan tidak bisa menggerakkan kakinya. Getah nangka (Artocarpus heterophyllus) merupakan salah satu bahan alternatif alami yang mengandung pektin yang berperan sebagai antiinflamasi dan antibakteri serta selulosa yang berperan sebagai perekat. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh penggunaan getah nangka (Artocarpus heterophyllus) terhadap Nociceptive Withdrawal Time Dan Gambaran Histopatologi Tendon pada model robek tendon tikus (Rattus novergicus). Dalam penelitian ini digunakan hewan coba tikus (Rattus novergicus) strain wistar jantan yang dibagi menjadi 4 kelompok dan masing - masing kelompok berisi 5 ekor. Kelompok Kmerupakan kelompok tikus kontrol negatif, Kelompok K+ tikus robek tendon tanpa terapi, kelompok P1 tikus robek tendon dengan terapi Asam Mefenamat dosis 50 mg/kg BB selama 5 hari dan kelompok P2 kelompok tikus robek tendon dengan terapi Asam Mefenamat dosis 50 mg/kg BB dan aplikasi getah nangka pada robek tendon sebanyak 10 mg/ekor. Pada hari ke-14 setelah perlakuan dilakukan uji Nociceptive Withdrawal Time dengan menggunakan hot plate bersuhu 55 °C yang merupakan data kuantitatif yang dianalisis dengan metode One Way ANOVA dengan uji lanjutan Tukey α=0,05. Sedangkan untuk gambaran histopatologi tendon dianalisa secara deskriptif kualitatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian getah nangka sebagai lem biosealant secara signifikan (p<0,05) dapat menurunkan durasi Nociceptive Withdrawal Time. Kombinasi terapi asam mefenamat dan biosealant getah nangka memiliki hasil gambaran histopatologi terbaik yang ditandai dengan tidak adanya inflamasi dan telah terbentuknya serat kolagen satu arah yang tebal dan rapi. Oleh karena itu disimpulkan pemberian biosealant getah nangka mampu membantu proses penyembuhan robek tendon.

Kata kunci: Robek Tendon, Getah Nangka, *Nociceptive Withdrawal Time*, Histopatologi Tendon

THE POTENCY OF JACKFRUIT SAP (Artocarpus heterophyllus) TOWARD NOCICEPTIVE WITHDRAWAL TIME TEST AND TENDON HISTOPATHOLOGY ON RATS (Rattus norvegicus) TENDON RUPTURE MODEL

ABSTRACT

One of the most common health problems in racehorses is achilles tendon rupture. Tendon works together with muscles to move the body skeleton. If achilles tendon ruptured, it would be difficult or even impossible for horse to move their feet. Jackfruit sap (Artocarpus heterophyllus) is one of the natural alternative ingredients containing pectin that can act as an antiinflamatory and antibacterial substance and cellulose that can act as an adhesive compound. The purpose of this study was to discover the effect of using the sap of jackfruit (Artocarpus heterophyllus) in rats (Rattus novergicus) tendon rupture models to the Nociceptive Withdrawal Time and Tendon Histopathological Picture. Experimental animals used in this study were male wistar strains rats (Rattus novergicus) that divided into 4 groups and each group contained 5 rats. The Krats group was a group of negative control, K+ was a rats group with tendon rupture without therapy, P1 was a rats group with tendon rupture and Mefenamic Acid therapy dose 50 mg / kg BW for 5 days and P2 was a rats group with tendon rupture and Mefenamic Acid therapy dose 50 mg / kg BW for 5 days and application of jackfruit sap to tendon rupture at a dose of 10 mg/rat. On the 14th day post treatment, Nociceptive Withdrawal Time test were done using 55 °C temperatured hot plate which is quantitative data that analyzed by the OneWay ANOVA method with a Tukey $\alpha = 0.05$ advanced test. The histopathological picture of tendons was analyzed descriptively. The results of this study showed that the jackfruit sap as biosealant glue could significantly (p<0.05) reduce the duration of Nociceptive Withdrawal Time. The combination therapy of mefenamic acid and biosealant sap has the best histopathological results which are characterized by the absence of inflammation, also thick and neat one-way collagen fibers have been formed. Therefore it was concluded that the administration of jackfruits sap biosealant glue can support the tendon rupture healing process.

Keywords: Tendon Rupture, Jackfruit Sap, *Nociceptive Withdrawal Time*, Tendon Histopathological picture

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan anugerah-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir atau skripsi yang berjudul "Pengaruh Penggunaan Getah Nangka (Artocarpus Heterophyllus) Terhadap Nociceptive Withdrawal Time Test Dan Gambaran Histopatologi Tendon Pada Model Robek Tendon Tikus (Rattus norvegicus)".

Penulis menyampaikan terima kasih sebesar-besarnya kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam melakukan penelitian skripsi ini, secara khusus penulis menyampaikan terima kasih kepada:

- 1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku dosen pembimbing 1 yang telah menyisihkan waktunya untuk membimbing penulis saat penulisan skripsi dan melakukan penelitian skripsi ini.
- 2. drh. Fajar Sodiq Permata, M.Biotech selaku dosen pembimbing 2 yang telah menyisihkan waktunya untuk membimbing penulis saat penulisan skripsi dan melakukan penelitian skripsi ini.
- 3. drh. Ajeng Aeka Nurmaningdyah, M. Sc selaku dosen penguji 1 yang telah menyisihkan waktunya untuk membimbing penulis saat penulisan skripsi.
- 4. drh. Tiara Widyaputri, M.Si selaku dosen penguji 2 yang telah menyisihkan waktunya untuk membimbing penulis saat penulisan skripsi.
- 5. Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M. App. Sc selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang.
- 6. Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia (KEMENRISTEKDIKTI) atas dana penelitian yang telah diberikan.
- 7. Keluarga tercinta ayah Watris, ibu Desi Lusianti, kakak Irfandi dan Adik Princessca Annisa yang senantiasa memberikan doa, dorongan, semangat serta fasilitas yang telah diberikan.
- 8. Silvira Tri Purnama Sari, Akhmad Rifky Tri Bagus Rifandi dan Aulia Dyasti Maurenda sebagai teman satu kelompok penelitian BIORODON yang selalu membatu dan memberi masukan serta saran untuk penulis.

- 9. Teman tersayang *Till Drop Squad* (Dyah, Yuri dan Kiki), *Cockroach Talks* (Silvira, Yanti, Dian, Eya, Desy), Kontrakan *Locals Only* (Ravi, Fandi, Cheppy, Kama, Faris, Yohanes, Irfan dan Paringga) serta *Valak Squad* (Indah, Ellen, Diah, Intan, Faris, Cheppy, Fandi, Kama, Ravi dan Yohanes) atas doa, semangat dan dukungan yang diberikan.
- 10. Keluarga DECODE 2015 atas persahabatan, semangat, inspirasi, keceriaan, dan mimpi-mimpi yang luar biasa.
- 11. Teman-teman seperjuangan DNA mahasiswa FKH UB 2015 yang telah memberikan semangat dan saran yang membangun.
- 12. Seluruh dosen dan civitas akademika yang telah membimbing, memberikan ilmu, dan mewadahi penulis selama menjalankan studi di Program Studi Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
- 13. Seluruh kolega Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.

Penulis menyadari bahwa laporan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan. Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis maupun bagi pembaca. Akhir kata, penulis mengucapkan banyak terima kasih dan mohon maaf apabila terdapat kekurangan dalam penulisan skripsi ini.

Malang, 14 Mei 2019

Aditya Fernando

DAFTAR ISI

Н	alaman
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN PROPOSAL	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Batasan Masalah	4
1.4. Tujuan Penelitian	5
1.5. Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Tanaman Nangka (Artocarpus heterophyllus)	6
2.2. Tendon	
2.2.1. Ruptur Tendon	9
2.2.2. Proses Penyembuhan Tendon	
2.3. Nociceptive Withdrawal Time Test	11
2.4. Hewan Coba Tikus (Rattus norvegicus)	
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	15
3.1. Kerangka Konseptual	15
3.2. Hipotesa Penelitian	17
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN	18
4.1. Waktu dan Tempat Penelitian	
4.2. Alat dan Bahan	
4.3. Sampel Penelitian	
4.4. Rancangan Penelitian	
4.5. Variabel Penelitian	

4.6. Prosedur Kerja	21
4.6.1 Persiapan Hewan Coba	21
4.6.2 Persiapan Getah Nangka	21
4.6.3 Pembuatan Robek Tendon Pada Hewan Coba	22
4.6.4 Pemberian Terapi pada Kelompok Perlakuan	23
4.6.5 Uji Nociceptive Withdrawal Time	24
4.6.6 Koleksi Tendon Aciles Tikus (Rattus norvegicus)	25
4.6.7 Pembuatan Preparat Histopatologi Tendon dengan Pewarnaa	ın
НЕ	25
4.6.8 Pengamatan Histopatologi Tendon	28
4.6.9 Analisi Data	28
BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN	29
5.1. Pengaruh Pemberian Getah Nangka Terhadap nociceptiv	e
Withdrawal Time Test	29
5.2. Pengaruh Pemberian Getah Nangka Terhadap Gambara	
Histopatologi Tendon	34
BAB 6 PENUTUP	42
BAB 6 PENUTUP 6.1. Kesimpulan	42
6.2. Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar Halam		Halaman
2.1	Tanaman nangka (Artocarpus heterophyllus)	6
2.2	Diagram skematis tendon dalam penampang melintang	8
2.3	Gambaran Histologi tendon dengan pewarnaan HE	9
2.4	Tikus (Rattus norvegicus)	13
4.1	Pembuatan insisi pada tendon Achilles	23
4.2	Pelaksanaan uji Nociceptive Withdrawal Time	24
4.3	Tendon achilles yang dikoleksi	25
5.1	Histologi tendon kelompok kontrol negatif dengan pewarnaan HE	34
5.2	Histopatologi tendon kelompok kontrol positif dengan pewarnaan	HE 35
5.3	Histopatologi tendon kelompok perlakuan 1 dengan pewarnaan H	E 35
5.4	Histopatologi tendon kelompok perlakuan 2 dengan pewarnaan H	E 36

DAFTAR TABEL

Tabel H		laman
5.1	Rata-rata, Standar deviasi, uji <i>tukey</i> dan peningkatan-penurunan hasil	
	uji nociceptive withdrawal time	29



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halamar
1	Kerangka Operasional Penelitian	48
2	Persiapan Getah	49
3	Pembuatan Insisi Robek Tendon pada Hewan Coba	49
4	Pengambilan Sampel Organ Tendon	50
5	Pembuatan Preparat Histologi	50
6	Sertifikat Laik Etik	51
7	Data Uji Statistika Nociceptive Withdrawal Time Test	52
8	Hasil Pengujian Kandungan Pektin dan Selulosa pada Getah Nangka 54	
9	Hasil Pengujian Kandungan Tannin pada Getah Nangka	55
10	Dokumentasi Kegiatan	56



DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

Simbol/Singkatan	Keterangan
%	: Persen
°C	: Derajat Celcius
BB	: Berat Badan
cm	: centimeter
dkk	: dan kawan-kawan
ECM	: Extracellular Matrix
et al	: et alli
НЕ	: Hematoxyline-eosin
IM	: Intramuskular
kg	: kilogram
ml	: milliliter
mm	: milimeter
PBS	: Phosphate-buffered saline
PDGF	: Platelet-derived growth factor
TGF β	: Transforming growth factor beta
TNF α	: Tumor necrosis factor alpha
UV	: Ultraviolet
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Dewasa ini, minat beberapa kelompok masyarakat terhadap kuda pacu semakin meningkat. Pemeliharan kuda pacu terbilang tidak mudah. Banyak berbagai macam penyakit yang dapat menyerang kuda. Salah satu masalah kesehatan yang paling sering terjadi pada kuda pacu adalah robek tendon. Banyak pemilik dan pelatih kuda pacu telah menganggap luka pada tendon dan ligamen berpotensi lebih mengancam masa depan dan karir kuda pacu daripada fraktur. Menurut Casey (2011) hal ini dikarenakan kasus robek tendon memerlukan waktu yang sangat lama dalam pemulihannya, yaitu sekitar 10 sampai 12 bulan, terlebih lagi kemungkinan yang besar bagi robek tendon untuk terjadi kembali.

Gejala klinis yang timbul pada kuda yang mengalami robek tendon diantaranya adalah terdapat inflamasi, edema serta akumulasi fibrin diantara dan di sekitar tendon yang menyebabkan pembengkakan lokal dan akan terasa sakit jika disentuh (Smith and Michael, 2016). Diagnosa dapat dilakukan melalui pengamatan gejala klinis (Smith, 2008). Menurut Taylor (2006), diagnosa yang paling tepat adalah dengan menggunakan ultrasonografi, karena dengan ultrasonografi dapat dilihat pola serat jaringan sehingga dapat diketahui bagian mana yang mengalami luka. Pada gambaran histopatologi robek tendon terlihat serat tendon yang bergelombang dan terputus, susunan serat terlihat kacau dan banyak terlihat sel-sel inflamasi, terkadang ditemukan adanya edema (Maffuli *et al.*, 2012).

Beberapa teknik pengobatan telah banyak digunakan dan dikembangkan pada kasus robek tendon. Menurut Taylor (2006) salah satu metode pengobatan untuk membentuk kembali tendon adalah terapi stem sel. Stem sel ini akan berdiferensiasi menjadi sel tendon yang baru (Hartono, 2016). Namun proses pengobatan dengan menggunakan terapi stem sel ini tergolong sulit dilaksanakan.

Tanaman nangka (*Artocarpus heterophyllus*) merupakan salah satu jenis tanaman buah tropis yang multifungsi yang berasal dari India Selatan (Wulandari, 2015). Tanaman nangka mengandung banyak getah (latek) yang berwana putih dan bersifat amat lengket. Banyak kandungan bahan alami yang terdapat didalam getah nangka, diantaranya adalah pectin dan selulosa (Rosandy, 2015). Menurut Tuhuloula *et al.* (2013), selain sebagai elemen struktural pada pertumbuhan jaringan, pektin dan selulosa juga berperan sebagai perekat dan menjaga stabilitas jaringan dan sel.

Terdapat beberapa metode untuk menguji keberhasilan terapi terhadap kasus robek tendon, salah satunya adalah uji *Nociception Withdrawal Time*. Nosisepsi atau *nociception* adalah respon terhadap nyeri yang disebabkan oleh kerusakan jaringan, proses penyakit ataupun fungsi abnormal dari otot atau organ dalam (Permata, 2014). Menurut Barrot (2012) *Nociceptive test* adalah tes yang dijalankan kepada pasien untuk mengetahui kemampuan reflek bagian tubuh tertentu pasca terjadinya kerusakan jaringan yang diukur berdasarkan waktu yang dibutuhkan sampai adanya gerakan motorik. Tendon bekerjasama dengan otot dalam menggerakkan rangka tubuh.

Apabila tendon achilles robek, maka hewan akan kesulitan atau bahkan tidak bisa mengangkat kakinya sebagai refleks apabila diberi rangsangan. *Nociceptive test* biasanya menggunakan stimuli berupa listrik, suhu, mekanis maupun kimiawi. Beberapa dari mereka bergantung pada latensi tampilan perilaku menghindar, biasanya refleks penarikan telapak kaki atau ekor (Le Bars *et al.*, 2001). Robek tendon akan mengakibatkan terjadinya kerusakan pada struktur tendon sehingga pengamatan histopatologi tendon pasca terapi dapat dipertimbangkan sebagai parameter untuk keberhasilan terapi yang telah dilaksanakan (Suprianto, 2014).

Berdasarkan uraian di atas dibutuhkan metode pengobatan alternatif untuk kasus robek tendon. Salah satu bahan alami yang dapat digunakan adalah getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) yang mengandung pectin dan selulosa. Getah nangka yang selama ini dibuang memiliki potensi dalam membantu penyembuhan dalam kasus robek tendon. Oleh sebab itu diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efektifitas getah nangka sebagai lem *biosealant* dalam membantu pengobatan pada kasus robek tendon.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Apakah pemberian *biosealant* getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) berpengaruh terhadap *Nociceptive Withdrawal Time* pada model robek tendon tikus (*Rattus norvegicus*)?

2. Apakah pemberian *biosealant* getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) berpengaruh terhadap gambaran histopatologi tendon pada model robek tendon tikus (*Rattus norvegicus*)?

1.3. Batasan Masalah

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

- Hewan coba yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan dengan berat badan sekitar 100-200 gram dengan usia 2-3 bulan.
 Penggunaan hewan coba telah mendapatkan sertifikat Laik Etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya Malang No: 933-KEP-UB (Lampiran 6).
- 2. Getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) yang digunakan pada penelitian ini didapatkan dari tumbuhan nangka yang berada di sekitar rumah warga di daerah malang. Getah nangka digunakan dalam bentuk *crude* yang telah disterilisasi dengan sinar UV selama 1 menit sebanyak dua kali.
- 3. Luka insisi pada tendon Achilles dibuat menggunakan gunting bedah kecil dengan ukuran 0,1-0,2 cm secara melintang.
- 4. Pemberian terapi *biosealant* getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) dilakukan setelah insisi pada tendon dibuat dengan cara dioleskan menyeluruh pada lokasi insisi sebanyak 10mg/ekor
- 5. Variabel yang diamati yaitu refleks dari kaki tikus (*Rattus norvegicus*) terhadap rangsangan. Rangsangan yang diberikan adalah rangsangan

panas dengan menggunakan *hot plate* yang diatur pada suhu 55°C (Barrot, 2012).

 Gambaran histopatologi tendon dengan pewarnaan hematoxylin eosin yang digunakan untuk melihat perkembangan kesembuhan dan dianalisis secara deskriptif (Sibarani dkk., 2013).

1.4. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

- 1. Mengetahui pengaruh pemberian *biosealant* getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) terhadap *Nociceptive Withdrawal Time* pada model robek tendon tikus (*Rattus norvegicus*)
- 2. Mengetahui pengaruh pemberian *biosealant* getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) terhadap gambaran histopatologi tendon pada model robek tendon tikus (*Rattus norvegicus*)

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah dapat memberikan informasi mengenai pengaruh pemberian *biosealant* getah nangka *Artocarpus heterophyllus*) terhadap kesembuhan robek tendon pada tikus (*Rattus norvegicus*) sehingga dapat ditemukan metode pengobatan untuk robek tendon yang efektif namun tidak memakan biaya yang terlalu besar yang nantinya dapat diaplikasikan pada kuda.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Nangka (Artocarpus heterophyllus)

Tanaman nangka (*Artocarpus heterophyllus*) merupakan salah satu jenis tanaman buah tropis yang multifungsi dan dapat ditanam di daerah tropis dengan ketinggian kurang dari 1.000 meter di atas permukaan laut yang berasal dari India Selatan. Daging buah yang sesungguhnya adalah perkembangan dari tenda bunga, berwarna kuning keemasan apabila masak, berbau harum manis yang keras, berdaging terkadang berisi cairan (nectar) yang manis (Rosandy, 2015). Biji berbentuk bulat lonjong sampai jorong agak gepeng, panjang 2-4 cm. Nangka tumbuh dengan baik di iklim tropis sampai dengan lintang 25° utara maupun selatan, walaupun diketahui pula masih dapat berbuah hingga lintang 30° (Wulandari, 2015).



Gambar 2.1 Tanaman nangka (Artocarpus heterophyllus) (Dennis, 2016)

Menurut Tejpal (2016), kedudukan taksonomi tanaman nangka adalah sebagai berikut:

Kingdom: Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub-divisi: Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Ordo : Morales

Famili : Moraceae

Genus : Artocarpus

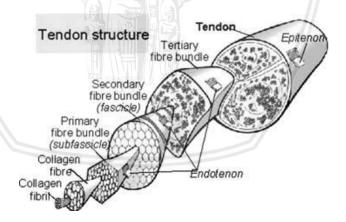
Spesies : Artocarpus heterophyllus

Menurut Nair *et al.*, (2017) tanaman nangka adalah tanaman serbaguna yang dapat dimanfaatkan hampir semua bagiannya, termasuk getahnya. Getah adalah cairan emulsi yang dihasilkan oleh sel sekretori yaitu sel *laticifer* yang mengandung banyak bahan, misalnya lemak, karet, resin, gula, protein termasuk enzim proteolitik. Ekstrak dari getah dan daun nangka telah terbukti dapat menyembuhkan asma, mencegah infestasi ringworm dan mengobati keretakan tulang. Selain itu getah nangka yang dicampur dengan cuka akan mempercepat penyembuhan abses, gigitan ular dan pembengkakan glandula (Siritapetawee *et al.*, 2012).

Banyak kandungan bahan alami yang terdapat didalam getah nangka, diantaranya adalah pektin dan selulosa (Rosandy, 2015). Menurut Tuhuloula *et al.*, (2013), selain sebagai perekat akibat adanya kandungan selulosa, kandungan pektin pada getah nangka dapat berperan sebagai antiinflamasi dan antibakteri. Selain itu, getah nangka juga mengandung tannin yang berperan sebagai antibakteri dan antioksidan (Siritapetawee *et al.*, 2012).

2.2. Tendon

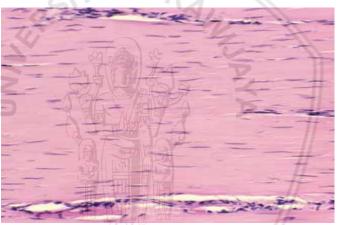
Tendon merupakan bagian dari jaringan ikat padat, sebagai kelanjutan otot, baik mulai maupun bertaut pada tulang (*origo* dan *insertio*). Tendon pada tubuh berfungsi sebagai penghubung antara otot dan tulang (Sjamsuhidajat, 2004). Tendon bervariasi dalam bentuk, bisa berbentuk tali bundar, berbentuk seperti tali pengikat atau berbentuk pita pipih. Ketika sehat tendon tampak putih cemerlang dan memiliki tekstur fibroelastik. Serabut kolagen dibungkus erat dalam bundel paralel yang mengandung saraf, pembuluh darah dan pembuluh limfa yang membentuk fasikula. Fasikula dikelilingi oleh endotenon dan bersama membentuk tendon makroskopik. Tendon diselimuti oleh epitenon, yang dikelilingi oleh paratenon (Doral *et al.*, 2010)



Gambar 2.2 Diagram skematis tendon dalam penampang melintang (Doral *et al.*, 2010)

Ada banyak tendon dalam tubuh makhluk hidup, salah satu diantaranya adalah tendon Achilles. Tendon ini dimulai dekat bagian tengah betis dan bersatu dengan otot gastrocnemius secara proksimal (Doral *et al.*, 2010). Tendon Achilles adalah tendon yang paling kuat dan paling tebal

yang ada dalam tubuh makhluk hidup. Meskipun kuat, tendon Achilles adalah salah satu tendon yang paling sering mengalami ruptur (robek) spontan (Maffuli *et al.*, 2017). Secara struktural, tendon tersusun dari tenoblas dan tenosit yang berada dalam jaringan matriks ekstraseluler dimana tenoblas adalah sel tendon yang belum matang atau masih muda. Tenosit dan tenoblas berjumlah sekitar 90-95% dari elemen seluler tendon, dengan kondrosit, sel vaskular, sel sinovial, dan sel-sel otot polos membentuk sisa 5–10%. (Sharma and Maffuli, 2008).



Gambar 2.3 Gambaran Histologi tendon dengan pewarnaan HE (Barret and Nathaniel, 2008)

2.2.1. Ruptur Tendon

Gangguan Tendon sering terjadi dan menyebabkan ketidakmampuan yang signifikan, rasa sakit, biaya perawatan kesehatan, dan kehilangan produktivitas. Sebagian besar kasus cedera pada tendon mengarah ke tendinopathy atau ruptur tendon. Ruptur adalah robek atau koyaknya jaringan secara paksa. Ruptur tendon adalah robek atau terputusnya tendon yang diakibatkan karena tarikan yang melebihi kekuatan tendon (Thomopoulos *et al.*,

2015). Ruptur tendon Achilles termasuk cedera terbanyak yang terjadi secara spontan pada kuda, baik pada waktu kuda berolahraga, melompat atau jatuh dari ketinggian. Cedera pada bagian ini juga memiliki risiko pada hewan yang lebih tua, riwayat terluka tendon sebelumnya, berolahraga berlebihan, dan juga perubahan aktivitas fisik pada olahraga di luar kebiasaan tanpa pemanasan terlebih dahulu (De Jong *et al.*, 2014). Gejala klinis yang timbul pada kuda yang mengalami robek tendon diantaranya adalah terdapat inflamasi disertai perdarahan, edema serta akumulasi fibrin diantara dan disekitar tendon yang menyebabkan pembengkakan lokal dan akan terasa sakit jika disentuh (Casey, 2011)

2.2.2. Proses Penyembuhan Tendon

Penyembuhan tendon pada umumnya berlangsung melalui fase inflamasi singkat yang berlangsung sekitar satu minggu, diikuti oleh fase proliferasi yang berlangsung selama beberapa minggu, serta diikuti oleh fase remodeling, yang berlangsung selama berbulan-bulan (Thomopoulos *et al.*, 2015).

Menurut Sharma dan Maffuli (2006), pada awal fase inflamasi, eritrosit dan sel inflamasi terutama neutrofil, memasuki lokasi cedera. Kemudian dalam 24 jam pertama, monosit dan makrofag mendominasi sehingga terjadi fagositosis terhadap bahan nekrotik. Faktor-faktor vasoaktif dan kemotaksis dilepaskan dengan permeabilitas vaskular yang meningkat, inisiasi angiogenesis, stimulasi proliferasi tenosit, dan perekrutan sel-sel inflamatori yang

lebih banyak. Tenosit secara bertahap bermigrasi ke luka, dan sintesis kolagen tipe-III dimulai. Setelah beberapa hari, fase proliferasi dimulai. Sintesis dari kolagen tipe-III memuncak selama tahap ini dan berlangsung selama beberapa minggu. Kandungan air dan konsentrasi glikosaminoglikan tetap tinggi selama tahap ini.

Setelah kurang lebih enam minggu, fase remodeling dimulai, dengan penurunan sintesis kolagen dan glikosaminoglikan. Fase remodeling dapat dibagi menjadi tahap konsolidasi dan tahap pematangan atau maturasi. Tahap konsolidasi dimulai sekitar enam minggu dan berlanjut hingga sepuluh minggu. Pada periode ini, jaringan perbaikan berubah dari seluler menjadi fibrous. Metabolisme Tenosit tetap tinggi selama periode ini. Setelah sepuluh minggu, tahap maturasi dimulai, dengan perubahan bertahap jaringan fibrosa ke jaringan tendon seperti tulang selama satu tahun. Selama paruh kedua tahap ini, metabolisme tenosit dan vaskularisasi tendon menurun (Sharma and Maffuli, 2006).

2.3. Nociceptive Withdrawal Time Test

Nosisepsi termasuk mekanisme dimana rangsangan berbahaya terdeteksi oleh sistem saraf perifer, dikodekan, ditransfer, dan secara tidak sadar diproses oleh sistem saraf. Pada waktu yang lampau, ilmu dasar rasa sakit dan penelitian praklinis perawatan nyeri pada dasarnya bergantung pada tes *nociceptive* yang dilakukan pada hewan coba. Meskipun membawa kemajuan besar ke bidang rasa nyeri, manfaat untuk mengembangkan

perawatan baru lebih terbatas. Sehingga untuk penelitian praklinis terapeutik harus mengaitkan model nyeri dengan tes *nociceptive* agar lebih relevan (Barrot, 2012).

Tes nociceptive dapat menggunakan rangsangan listrik, termal, mekanis, atau kimia. Pada umumnya tes ini bergantung pada latensi perilaku penghindaran, biasanya refleks penarikan kaki atau ekor. Tes yang bersangkutan yang menggunakan rangsangan termal termasuk tes ekor, tes plat panas atau dingin, dan tes penarikan terhadap pancaran panas. Pada tes nociceptive terhadap panas, intensitas panas dari tes yang tersedia biasanya dapat dikontrol. Tes hot-plate adalah tes yang umum dilaksanakan di lapangan. Suhu pada tes ini sering diatur pada 55°C. Biasanya diatur untuk mengamati respons nociceptive yang muncul tidak lebih dari 5 detik (Le Bars et al., 2001). Penggunaan suhu yang lebih tinggi tidak disarankan karena meningkatkan risiko terbakar. Namun, pelaksanaan uji ini harus dilakukan dengan hati-hati karena apabila dilaksanakan melebihi ketentuan terkadang dapat menimbulkan masalah etika. Meskipun tes ini mudah dilakukan, namun tes ini dilaksanakan secara manual. Pengatur waktu dimulai dan dihentikan oleh peneliti (Barrot, 2012).

2.4. Hewan Coba Tikus (Rattus norvegicus)

Hewan coba adalah hewan yang sengaja dipelihara untuk digunakan sebagai hewan model yang berkaitan untuk pembelajaran dan pengembangan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratorium. Hewan coba yang sering digunakan yakni

mencit (Mus musculus), tikus (*Rattus norvegicus*), kelinci (Oryctolagus cuniculus), dan hamster (Tolistiawaty dkk, 2014). Tikus (*Rattus norvegicus*) atau disebut juga disebut juga tikus norwegia adalah salah satu hewan yang umum digunakan dalam eksperimental laboratorium. Taksonomi tikus (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut (Sharp & Villano, 2013).

Kingdom: Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia

Subordo : Myomorpha

Famili : Muridae

Genus : Rattus

Spesies : Rattus norvegicus



Gambar 2.4 Tikus (*Rattus norvegicus*) (Janvier Labs, 2013)

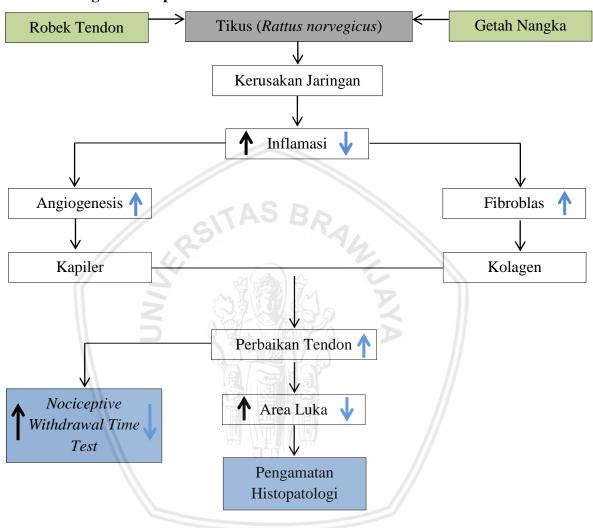
Tikus laboratorium adalah salah satu hewan coba yang tidak terhindarkan dari penelitian biomedis saat ini. Tikus diakui sebagai hewan model yang unggul dalam berbagai bidang, termasuk studi neurobehavioral, kanker, dan toksikologi. Hampir 80% dari hewan percobaan adalah

Rodensia yang mencakup tikus, mencit, marmut, dan lain-lain (Sengupta, 2013). Tikus termasuk hewan mamalia, oleh sebab itu dampaknya terhadap suatu perlakuan mungkin tidak jauh berbeda dibanding dengan mamalia lainnya. Tikus sering digunakan pada berbagai penelitian karena murah dan mudah untuk mendapatkannya (Maula, 2014).



BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Konseptual



Keterangan:

: Variabel Bebas

: Variabel Kontrol

: Efek Pemberian *biosealant* getah nangka

: Efek robek tendon

Variabel Terikat

Hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) diberikan perlakuan yaitu berupa insisi pada tendon secara melintang sehingga menyebakan kerusakan jaringan. Rusaknya jaringan karena adanya robek tendon menyebabkan terbentuknya area luka yang menyebabkan tikus berjalan pincang atau bahkan kehilangan kemampuan untuk mengangkat kaki saat berjalan. Rusaknya jaringan tendon juga menyebabkan terjadinya inflamasi pada daerah tersebut. Pada awal fase inflamasi, eritrosit dan sel inflamasi terutama neutrofil, memasuki lokasi cedera. Kemudian dalam 24 jam pertama, monosit dan makrofag mendominasi sehingga terjadi fagositosis terhadap bahan nekrotik. Lamanya fase inflamasi akan memperlambat fase proliferasi yaitu aktivasi *growth factor* (IGF, EGF, VEGF) dan memperlambat terjadinya proliferasi fibroblast.

Biosealant getah nangka berperan dalam mempercepat berjalannya proses inflamasi karena adanya kandungan pektin yang berperan sebagai antiinflamasi dan antibakteri serta selulosa yang memiliki sifat sebagai perekat yang menyebabkan fase inflamasi akan berlangsung lebih singkat dan masuk kedalam fase proliferasi. Pada fase ini makrofag bekerja dalam merangsang aktifasi growth factor yang akan terlibat pada tahapan angiogenesis yang akan meningkatkan proliferasi dan migrasi sel endotel serta membentuk pembuluh darah baru.

Terbentuknya pembuluh darah baru akan menutrisi kembali jaringan yang rusak. Selain itu, makrofag juga berperan dalam migrasi dan proliferasi fibroblas yang mengarah ke area robek tendon. Terjadinya

3.2. Hipotesa Penelitian

- 1. Pemberian *Biosealant* getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) dapat mempengaruhi *Nociceptive Withdrawal Time* pada model robek tendon tikus (*Rattus novergicus*).
- 2. Pemberian *Biosealant* getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) dapat mempengaruhi gambaran histopatologi tendon pada model robek tendon tikus (*Rattus novergicus*).

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama empat bulan, dimulai dari bulan Mei 2018. Penelitian ini dilakukan di beberapa laboratorium yaitu Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Laboratorium Histologi Veteriner Universitas Brawijaya, Malang, Biokimia Fakultas Laboratorium Kedokteran Universitas Brawijaya, Laboratorium Patologi Anatomi **Fakultas** Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, kandang individu untuk pemeliharaan tikus, spuit 1 ml, pisau, wadah penampung getah nangka, cawan petri kecil, spatula kaca, nipple minum, scalpel, blade, pot sampel, mikrotom, cetakan paraffin, kawat, inkubator, seperangkat alat bedah, timbangan, alat cukur, seperangkat alat jahit, kompor elektrik, dan lampu UV.

Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian ini yaitu, getah nangka, bahan untuk membuat preparat histopatologi yang meliputi formalin, alkohol (70%, 80%, 90%, 95%), ethanol absolut, xylol, parafin, ewit, pewarna hematoksilin-eosin, alkohol asam, balsam kanada, aquades, objek glass dan cover glass, tikus (*Rattus novergicus*), pakan dan minum tikus, sekam, serta underpad sebagai alas kandang pasca perlakuan.

BRAWIJAY

4.3. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu hewan coba berupa tikus (*Rattus novergicus*) berjenis kelamin jantan dengan berat badan 100-200 gram berumur 2-3 bulan yang didapatkan dari Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Islam Negeri Maulana Malik. Jumlah hewan coba yang digunakan sebagai sampel dihitung dengan Federer (Hasanah, 2015).

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

$$4 (n-1) \ge 15$$

Keterangan:

$$4n-4 \ge 15$$

t: jumlah perlakuan

 $4n \ge 19$

n: jumlah ulangan yang diperlukan

 $n \ge 4,75$

Setelah melakukan perhitungan jumlah sampel hewan coba yang diperlukan, maka dalam pelaksanaan penelitian ini menggunakan hewan coba tikus sejumlah 20 ekor yang dibagi dalam 4 kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok perlakuan dilakukan 5 kali ulangan, sehingga setiap perlakuan membutuhkan 5 ekor hewan coba. Hewan coba yang sudah dipesan sebanyak jumlah yang sudah ditentukan selanjutnya diadaptasikan selama tujuh hari di Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Islam Negeri Maulana Malik. Tikus diberikan makan dan minum secara adlibitum dan diberi alas sekam yang diganti setiap harinya.

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sampel hewan coba yang berjumlah 20 ekor, dibagi dalam 4 perlakuan yang berbeda dan masing-masing menggunakan pengulangan sebanyak 5 kali. Kelompok hewan coba pada penelitian ini yaitu:

- Kelompok 1 (Kontrol negatif) adalah kelompok hewan coba yang tidak diberi insisi pada tendon Achilles dan tidak diberi terapi.
- 2. Kelompok 2 (Kontrol positif) adalah kelompok hewan coba yang diberi insisi pada tendon Achilles tanpa diberi perlakuan tambahan.
- 3. Kelompok 3 (Perlakuan 1) adalah kelompok hewan coba yang diberi insisi pada tendon Achilles dan diberi analgesik asam mefenamat dengan dosis 50 mg/kg BB.
- 4. Kelompok 4 (Perlakuan 2) adalah kelompok hewan coba yang diberi insisi pada tendon Achilles diberi analgesik asam mefenamat (dosis 50 mg/kg BB) dan getah nangka kemudian diberi pancaran sinar UV untuk membantu pengerasan *biosealant* dan untuk mensterilkan luka.

4.5. Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

a. Variabel bebas : Terapi getah nangka (Artocarpus heterophyllus), robek tendon

b. Variabel terikat : *Nociceptive withdrawal time test* dan gambaran histopatologi tendon

c. Variabel kontrol:

- 1. Homogenitas tikus (galur, jenis kelamin, berat badan, usia, jenis pakan dan kandang).
- 2. Penggantian under pad
- 3. Intensitas pemberian terapi

4.6. Prosedur Kerja

4.6.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan dengan berat badan berkisar 100-200 gram dengan usia 2-3 bulan. Ada sebanyak 20 ekor hewan coba tikus yang dibagi menjadi 4 kelompok, masing-masing kelompok terdiri 5 ekor. Hewan coba tikus diadaptasikan dan dirawat di Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Malang. Hewan coba dipelihara di dalam kandang balok plastik berukuran 17.5 x 23.75 x 17.5 cm yang diberi penutup dari kawat. Hewan coba tikus diberi makan dan minum secara ad libitum. Kandang tikus ditempatkan pada tempat yang nyaman yaitu pada rak perawatan tikus.

4.6.2 Persiapan Getah Nangka

Persiapan getah nangka dilakukan di Laboratorium Histologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. Getah nangka diperoleh dari bagian pangkal buah nangka yang dikoleksi dengan cara memotong bagian pangkal buah nangka hingga getah keluar. Selanjutnya, getah ditampung didalam wadah plastik dan dibuang cairannya sehingga hanya diambil getahnya saja atau bagian yang kentalnya. Kemudian getah dipindahkan ke cawan petri kecil dan disterilkan menggunakan sinar UV selama dua kali 60 detik. Kemudian, getah nangka dipanaskan diatas kompor elektrik supaya getah tidak mengeras dan tidak menggumpal saat akan diaplikasikan pada robek tendon.

4.6.3 Pembuatan Robek Tendon Pada Hewan Coba

Hewan coba tikus yang sudah diadaptasikan selama 7 hari kemudian dikelompokkan menjadi empat kelompok, masing-masing terdiri dari lima ekor tikus.. Tikus dianestesi dengan menggunakan campuran ketamine dan xylazine dengan volume pemberian masing-masing 0,4 ml/ekor yang diinjeksikan melalui intramuskular. Selanjutnya, lokasi insisi pada ektremitas caudal sebelah kanan dicukur rambutnya sampai bersih, kemudian dioles kapas beralkohol 70% . Setelah itu dilakukan insisi pada kulit bagian belakang tungkai bawah ekstremitas caudal sebelah kanan hingga tendo achilles terlihat. Selanjutnya, dilakukan insisi pada tendo Achilles untuk membuat luka robek sepanjang 0.1-0.2 cm dengan menggunakan gunting kecil.



Gambar 4.1 Pembuatan insisi pada tendon Achilles

4.6.4 Pemberian Terapi pada Kelompok Perlakuan

Kelompok kontrol negatif tidak diinsisi dan tidak diberi terapi apapun. Kelompok kontrol positif dilakukan insisi tanpa diberi terapi apapun. Kelompok perlakuan 1 dilakukan insisi dan diberi minum Asam Mefenamat (dosis 50 mg/kg BB) selama 5 hari. Kelompok perlakuan 2 dilakukan insisi, diberi terapi *biosealant* getah nangka sebanyak 10 mg dan diberi minum Asam Mefenamat (dosis 50 mg/kg BB) selama 5 hari. Semua luka insisi pada masing-masing kelompok perlakuan ditutup dengan dilakukan penjahitan pada bagian kulit.

Luka robek tendon pada tikus kelompok perlakuan 3 diberi terapi getah nangka sekali pemberian dengan cara dibalutkan ke seluruh bagian permukaan tendon yang robek, setelah itu disinari dengan sinar UV dengan tujuan untuk mengeraskan getah nangka dan mensterilkan area luka selama 60 detik. Kemudian dilakukan penjahitan pada kulit yang diinsisi dengan benang *vicryl*. Pemberian pakan dan air minum untuk semua hewan coba tikus diberikan secara *ad libitum*. Kandang individu diberi underpad yang diganti setiap hari

BRAWIJAYA

supaya menghindari kontaminasi dari mikroorganisme lain pada bagian luka insisi.

4.6.5 Uji Nociceptive Withdrawal Time

Uji *Nociceptive Withdrawal Time* dilakukan pada hari ke-14 pasca perlakuan pada hewan coba. Uji *Nociceptive Withdrawal Time* pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rangsangan berupa panas dari *hot plate*. Menurut Barrot (2012), panasnya *hot plate* diatur pada suhu 55°C. Uji ini dilakukan dengan meletakkan telapak kaki tikus yang diberi perlakuan diatas *hot plate*, diamati hingga adanya refleks terhadap rangsangan dimana tikus akan mengangkat kakinya dan dicatat waktu yang dibutuhkan. Pada umumnya, durasi tikus untuk bereaksi terhadap rangsangan panas tidak lebih dari 5 detik (Barrot, 2012). Pada tikus yang mengalami robek tendon *Achilles* akan kesulitan untuk mengangkat kaki sebagai reaksi terhadap rangsangan panas sehingga biasanya membutuhkan durasi yang lebih lama.



Gambar 4.2 Pelaksanaan uji Nociceptive Withdrawal Time

BRAWIJAYA

4.6.6 Koleksi Tendon Aciles Tikus (*Rattus norvegicus*)

Koleksi tendon hewan coba tikus dilakukan 14 hari setelah insisi. Sebelum melakukan koleksi tendon tikus, dilakukan euthanasia dengan cara *dislokasio os cervicalis*, kemudian diinsisi pada kulit yaitu lokasi yang sama dengan insisi sebelumnya untuk mendapatkan tendon. Tendon dipotong secara keseluruhan (tenotomy) kemudian dimasukkan pada campuran larutan NS dan formalin 10% sebelum dilakukan pembuatan preparat (Barbato *et al.*, 2017).



Gambar 4.2 Tendon Achilles yang dikoleksi

4.6.7 Pembuatan Preparat Histopatologi Tendon dengan Pewarnaan HE

Menurut Jusuf (2009), langkah pertama pembuatan preparat histopatologi adalah tahap fiksasi selama minimal 24 jam. Tujuan dari tahap fiksasi adalah menjaga agar jaringan tidak rusak dan membusuk, menghentikan proses metabolisme dangan cepat serta mengawetkan kompnen sitologis dan histologis. Fiksatif yang paling umum digunakan adalah formalin 10%. Kemudian jaringan dimasukkan kedalam *tissue casssette* yang bersih dan bebas lilin. Selanjutnya adalah tahap dehidrasi. Dehidrasi bertujuan untuk menghilangkan air

Setelah dehidrasi, dilanjutkan dengan tahap clearing. Clearing adalah proses penjernihan atau mentransparankan jaringan. Clearing berfungsi untuk menarik alkohol atau dehidran lain dari dalam jaringan agar dapat digantikan oleh molekul parafin. Clearing dilakukan dengan memasukkan jaringan kedalam larutan xylol selama 20 menit dengan pengulangan sebanyak tiga kali. Selanjutnya adalah tahap infiltrasi parafin, yaitu proses pengeluaran xilen dari dalam jaringan yang akan digantikan oleh parafin cair. Jaringan dimasukkan kedalam paraffin cair pada incubator dengan suhu 58°-60° C. Proses infiltrasi dengan paraffin dilakukan selama 45 Menit sebanyak 3 kali.

Tahapan selanjutnya adalah embedding. Embedding adalah proses penanaman jaringan dalam media parafin. Tujuannya adalah untuk mempermudah proses pemotongan sampel. Tahap ini dilakukan dengan mengeluarkan jaringan dari *tissue casssette* dan dimasukkan kedalam lempengan blok yang berisi parafin cair. Organ diposisikan agar dapat dipotong membujur. Setelah itu tutup dengan cassette dan didinginkan hingga mengeras. Selanjutnya proses sectioning atau pemotongan blok paraffin dengan mikrotom. Caranya yaitu dengan

BRAWIJAYA

Langkah berikutnya adalah proses staining atau pewarnaan. Tahapan ini terdiri dari proses deparafinisasi atau penarikan parafin dari dalam jaringan menggunakan xylol I, II, III selama masingmasing 20 menit, dan proses rehidrasi atau pemasukan molekul air kedalam jaringan dengan menggunakan alkohol bertingkat yaitu ethanol I,II,II Selama masing-masing 5 menit dan dilanjutkan dengan diberi alkohol 95%, 90%, 80%, dan 70% masing-masing 5 menit. Selanjutnya proses infiltrasi zat warna menggunakan hematoxilin untuk mewarnai inti sel dengan mencelupkannya selama 20 menit. Hematoxilin akan membuat warna inti sel manjadi biru dikarenakan inti sel bersifat basofilik. Kemudian sitoplasma diwarnai dengan zat eosin dengan durasi 30 detik. Eosin akan membuat warna sitoplasma menjadi merah muda dikarenakan sitoplasma mengandung asam amino yang bersifat asidofilik. Object glass diberi larutan alkohol 70%, 80%, 90%, dan 95% serta etanol absolut I dan II masing-masing selama 5 detik dan etanol absolut III selama 5 menit. Selanjutnya object glass diberi larutan xylol I,II,dan III selama masing-masing 10 menit. Kemudian proses mounting yaitu pertama membersihkan

BRAWIJAYA

bagian belakang object glass dengan tissue lalu bagian yang ada organ ditetesi dengan entelan dan ditutup dengan cover glass perlahan.

4.6.8 Pengamatan Histopatologi Tendon

Pengamatan histopatologi tendon dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya *Olympus* dengan perbesaran 400x. Tendon diamati dengan pemotongan pada posisi membujur. Gambaran histopatologi tendon yang diamati adalah struktur seperti jumlah, ketebalan dan keteraturan kolagen serta adanya keberadaan sel- sel inflamasi dan lain-lain.

4.6.9 Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini menggunakan analisis kuantitatif statistik *OneWay* ANOVA yang dilanjutkan dengan uji Tukey α=0,05 terhadap hasil uji *Nociceptive Withdrawal Time* karena skala pengukuran merupakan numerik, jenis hipotesis komparatif, dan jumlah kelompok perlakuan lebih dari dua kelompok. Analisis statistik dalam penelitian ini menggunakan software *IBM SPSS statistic* 24. Sedangkan untuk gambaran histopatologi tendon dianalisa secara deskriptif kualitatif.

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Pemberian Getah Nangka Terhadap nociceptive Withdrawal Time Test

Pada hari ke-14 setelah diberikan perlakuan pada hewan coba, dilakukan uji *Nociceptive withdrawal time*. Uji ini dilakukan dengan meletakkan kaki hewan coba diatas *hotplate* yang telah diatur pada suhu 55°C, kemudian dihitung waktu menggunakan *stopwatch* yang dimulai saat kaki tikus diletakkan diatas *hotplate* sampai adanya refleks mengangkat kaki. Hasil uji yang didapatkan kemudian dianalisa statistik menggunakan metode *oneway* ANOVA.

Hasil dari uji normalitas dan homogenitas didapatkan data terdistribusi normal dan homogen (p>0,05) (**Lampiran 7**), sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *oneway* ANOVA dan didapatkan nilai p<0,05. Hasil uji *nociceptive withdrawal time* setiap kelompok perlakuan terdapat pada **Tabel 5.1.**

Tabel 5.1 Rata-rata, Standar Deviasi, Uji *Tukey* dan peningkatan-penurunan hasil uji *nociceptive withdrawal time*

Kelompok	Rata-rata hasil uji nociceptive withdrawal time (detik)	Peningkatan terhadap Kontrol Negatif	Penurunan terhadap Kontrol Positif
Kontrol negatif (-)	3.07±1.29 ^a	-	-
Kontrol positif (+)	9.48 ± 0.60^{b}	67.61%	-
P1 (Asam Mefenamat)	8.99 ± 1.00^{b}	-	5.17%
P2 (Asam Mefenamat + getah nangka)	4.69±1.59 ^a	-	51,58%

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

Hasil uji statistika terhadap nociceptive withdrawal time pada penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian terapi biosealant getah nangka pada model rebek tendon tikus secara signifikan (p<0,05) dapat menurunkan lama waktu nociceptive withdrawal time (Tabel 5.1). Hasil uji statistika tersebut menunjukkan bahwa kelompok perlakuan 2 yaitu kelompok tikus dengan terapi asam mefenamat dan diberi biosealant getah nangka secara statistik memiliki kemampuan respon terhadap rangsangan yang sama dengan tikus pada kelompok kontrol negatif yang ditandai dengan notasi yang sama, yaitu notasi "a". Hal ini dikarenakan getah nangka mengandung bahan aktif yaitu pektin yang berperan sebagai antiinflamasi dan antibakteri, selulosa yang berperan sebagai perekat dan tannin yang berperan sebagai antibakteri sehingga mempercepat perbaikan tendon dan menurunkan lama waktu nociceptive withdrawal time.

Hasil uji nociceptive withdrawal time pada kelompok kontrol negatif (-) memiliki rata-rata waktu refleks yang paling singkat dimana secara normal tikus akan mengangkat kaki dengan cepat apabila diberi rangsangan berupa panas pada telapak kaki. Pada keadaan normal, tikus mampu mengangkat kaki dalam waktu tidak lebih dari lima detik apabila diberi rangsangan berupa panas (Le Bars et al., 2001). Karena tidak adanya kerusakan pada tendon maka rangsangan yang diterima akan diproses dan menyebabkan kontraksi otot yang kemudian diteruskan ke tendon sehingga tendon dapat menarik tulang dan terjadi pergerakan menarik kaki (Nourissat et al., 2015).

Hasil uji *nociceptive withdrawal time* pada kelompok kontrol positif (+) memiliki rata-rata waktu refleks yang lebih lama dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (-). Hal ini dikarenakan pada kelompok kontrol positif proses penyembuhan tendon masih berada pada fase inflamasi dan belum memasuki fase proliferasi, sehingga belum terjadinya perbaikan terhadap struktur tendon yang rusak. Menurut Sharma dan Maffuli (2006), fase proliferasi pada proses perbaikan tendon dimulai pada hari kedelapan hingga hari ke-14 sejak terjadinya ruptur. Pada kasus robek tendon, rangsangan yang diterima masih dapat di proses namun kontraksi pada otot tidak dapat diteruskan ke tendon secara sempurna sehingga tendon kesulitan untuk menarik tulang (Nourissat *et al.*, 2015). Akibatnya tikus mengalami kesulitan untuk menarik kakinya apabila diberi rangsangan berupa panas pada telapak kaki.

Rata-rata hasil uji *nociceptive withdrawal time* pada kelompok tikus robek tendon dengan terapi analgesik asam mefenamat (kelompok P1) menunjukkan penurunan dibandingkan dengan kelompok tikus kontrol positif (+), namun belum mendekati rata-rata hasil uji pada kelompok tikus yang sehat (K-). Tikus pada kelompok P1 mampu mengangkat kaki sebagai refleks terhadap rangsangan panas lebih baik dibandingkan kelompok K+ namun belum mendekati kemampuan kelompok K-. Hal ini dikarenakan tikus pada kelompok P1 diberikan analgesik asam mefenamat yang berperan sebagai antiinflamasi dan analgesik. Menurut Lostapa dkk. (2016), asam mefenamat merupakan obat antiinflamasi golongan non steroid yang bekerja

dengan cara menghambat enzim siklooksigenase. Enzim siklooksigenase (COX) adalah enzim yang berperan dalam biosintesis prostaglandin. Prostaglandin adalah salah satu faktor kimia yang dihasilkan dari adanya proses inflamasi yang berperan sebagai mediator peradangan dan nyeri (Sudewa, 2017). Adanya penghambatan terhadap enzim siklooksigenase pada proses penyembuhan luka akan menurunkan respon inflamasi sehingga proses inflamasi akan berlangsung lebih singkat dan segera memasuki fase proliferasi. Pada fase proliferasi akan berlangsung angiogenesis dan proliferasi fibroblast sehingga tendon yang rusak akan diperbaiki (Kusumastuti dkk., 2014). Pada fase proliferasi fibroblast akan mensintesis kolagen tipe III, kemudian pada fase maturasi kolagen tipe I yang lebih kuat daripada kolagen tipe III akan terbentuk (Sharma and Maffuli, 2006)

Rata-rata hasil uji *nociceptive withdrawal time* pada Kelompok tikus robek tendon dengan terapi analgesik asam mefenamat serta lem *biosealant* getah nangka (Kelompok P2) menunjukkan penurunan yang signifikan (p<0,05) terhadap rata-rata hasil kelompok kontrol positif (+) dan sudah mendekati rata-rata hasil kelompok tikus yang sehat (K-).

Tikus pada kelompok P2 mampu mengangkat kaki sebagai refleks terhadap rangsangan panas lebih baik daripada tikus kelompok K+ dan kelompok P1. Hal ini dikarenakan selain adanya efek antiinflamasi dan analgesik dari asam mefenamat, pada getah nangka terkandung bahan aktif yaitu pektin dan selulosa (**Lampiran 8**) yang dapat membantu proses penyembuhan robek tendon. Kandungan pektin pada getah nangka akan

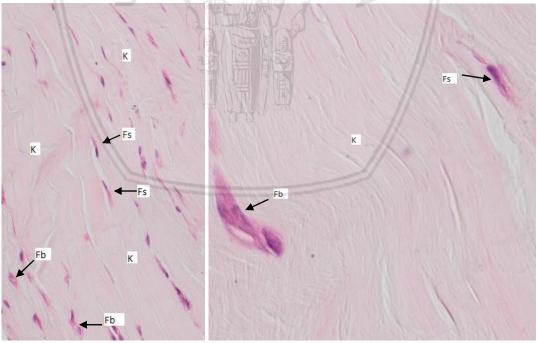
bekerja dengan menstimulasi leukosit seperti monosit dan neutrophil untuk melakukan kemotaksis menuju area luka (Chansiripornchai et al., 2005), sehingga dengan semakin banyaknya paparan leukosit di area luka akan meningkatkan proses fagosit terhadap bahan nekrotik dan kuman atau bakteri pada area robek tendon. Hal ini akan mengakibatkan proses pembersihan area luka menjadi lebih singkat dan tendon tidak mengalami luka yang bertambah parah. Selain itu kandungan pektin pada getah nangka juga dapat bekerja sebagai antibakteri dengan cara merusak dan mengganggu permukaan sel bakteri sehingga pertumbuhan dan perkembangan bakteri penyebab infeksi dapat dicegah. Kandungan selulosa pada getah nangka berperan sebagai perekat untuk menyatukan dan memfiksasi kedua sisi tendon yang robek (Tuhuloula et al., 2013). Selain pektin dan selulosa, getah nangka juga mengandung tannin (**Lampiran 9**) yang bekerja sebagai antibakteri dan antioksidan yang dapat mempercepat penyembuhan luka (Noer dkk., 2016) sehingga fase inflamasi dapat berlangsung lebih singkat dan segera memasuki fase proliferasi. Pada fase proliferasi, makrofag akan mengaktifkan growth factor yang berperan dalam proses angiogenesis yaitu pembentukan pembuluh darah baru. Sehingga menutrisi kembali jaringan yang rusak dan proliferasi fibroblast yang akan mensintesis kolagen sehingga tendon yang rusak akan diperbaiki (Kusumastuti dkk., 2014).

Uraian dan analisa statistik uji *one-way* ANOVA terhadap hasil *nociceptive withdrawal time test* menunjukkan bahwa pemberian *biosealant*

getah nangka pada kasus robek tendon mampu mempercepat penyembuhan tendon yang ditandai dengan kemampuan mengangkat kaki sebagai refleks terhadap rangsangan panas pada tikus kelompok P2 yang sudah mendekati kemampuan refleks tikus kelompok kontrol negatif (K-).

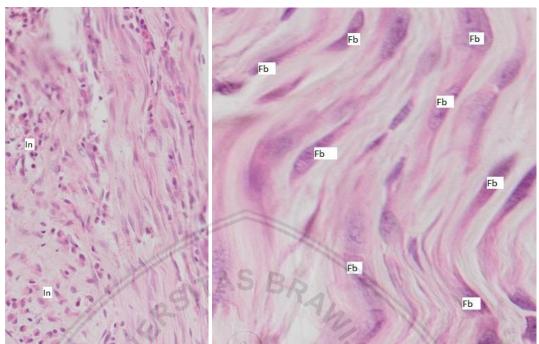
5.2 Pengaruh Pemberian Getah Nangka Terhadap Gambaran Histopatologi Tendon

Pada penelitian ini juga digunakan parameter histopatologi tendon yang diwarnai dengan pewarna hematoksilin-eosin sebagai salah satu penentu keberhasilan pemberian *biosealant* getah nangka. Hasil pengamatan histopatologi tendon dapat dilihat pada **Gambar 5.1**, **Gambar 5.2**, **Gambar 5.3** dan **Gambar 5.4**.



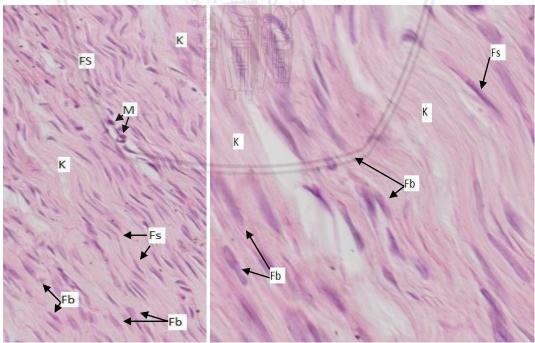
Gambar 5.1 Histologi tendon kelompok kontrol negatif dengan pewarnaan HE perbesaran 100x (kiri) dan 400x (kanan)

Keterangan: K=Serat kolagen; Fb= Fibroblast; Fs= Fibrosit

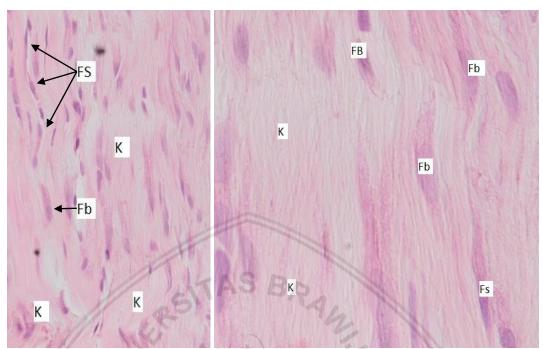


Gambar 5.2 Histopatologi tendon kelompok kontrol positif dengan pewarnaan HE perbesaran 100x (kiri) dan 400x (kanan)

Keterangan: In=Infiltrasi sel radang; Fb=Fibroblast



Gambar 5.3 Histopatologi tendon kelompok perlakuan 1 (Asam Mefenamat) dengan pewarnaan HE perbesaran 100x (kiri) dan 400x (kanan) **Keterangan:** K=Serat kolagen; Fb=Fibroblast; Fs=Fibrosit



Gambar 5.4 Histopatologi tendon kelompok perlakuan 2 (Asam Mefenamat + Getah nangka) dengan pewarnaan HE perbesaran 100x (kiri) dan 400x (kanan)

Keterangan: K=Serat kolagen; Fb=Fibroblast; Fs=Fibrosit

Gambar 5.1 merupakan gambaran histologi dari organ tendon kelompok kontrol negatif yang merupakan kelompok tikus normal. Pada gambar tendon yang sehat tidak terdapat kerusakan jaringan dan terlihat jaringan tendon berupa serabut kolagen padat yang tersusun satu arah. Selain itu terlihat adanya fibrosit dan fibroblast yang menempel langsung pada serabut kolagen serta tidak ditemukan adanya inflamasi. Keadaan ini sesuai dengan yang dijelaskan oleh Saputra (2016), yaitu terdiri dari fibroblas (tenoblas) dan fibrosit (tenosit) yang melekat pada serabut kolagen yang tersusun padat dan rapi. Fibroblas adalah sel–sel tendon yang imatur yang berbentuk spindel, memiliki organel sitoplasmik yang banyak yang mencerminkan aktivitas metabolik yang tinggi. Ketika fibroblas ini matur, ia

akan elongasi dan membentuk fibrosit yang memiliki rasio nukleus ke sitoplasma yang lebih rendah dibandingkan fibroblast dengan aktivitas metabolik yang lebih rendah pula (Snedeker and Foolen, 2017). Gambaran histologi normal dari tendon kelompok kontrol negatif ini akan digunakan sebagai acuan struktur tendon normal dan sebagai pembanding gambaran tendon terhadap kelompok yang lain.

Pada hasil gambaran histopatologi kelompok kontrol positif (Gambar 5.2) dengan perbesaran mikroskop 100x terlihat adanya infiltasi sel radang yang menunjukkan adanya inflamasi. Setelah diamati dengan perbesaran 400x, sel radang yang mendominasi adalah makrofag. Menurut Pohan (2012), secara histologis makrofag memiliki bentuk yang ameboid (bentuknya tidak tetap) serta memiliki inti sel yang relatif besar. Plasma dari makrofag adalah agranulosit atau tidak mengandung granula (butiran). Pada proses penyembuhan luka, makrofag berperan dalam fagositosis terhadap antigen dan bahan nekrotik. Selain itu makrofag juga berperan dalam merangsang aktivasi growth factor yang akan terlibat pada fase proliferasi.

Pada pengamatan dengan perbesaran 400x juga terlihat serabut kolagen yang terbentuk masih sangat sedikit dan terjadi proliferasi sel fibroblast. Keadaan ini menunjukkan bahwa proses penyembuhan tendon pada kelompok kontrol positif baru memasuki awal fase proliferasi, karena terdapat peningkatan jumlah fibroblast namun serabut kolagen yang terbentuk masih sangat sedikit. Pada fase proliferasi ditandai dengan meningkatnya jumlah sel fibroblast yang kemudian akan mensintesis

kolagen sehingga akan memperbaiki tendon yang rusak (Ramadhan, 2010). Menurut Sharma dan Maffuli (2006), fase proliferasi pada proses perbaikan tendon dimulai pada hari kedelapan hingga hari ke-14 sejak terjadinya ruptur.

Pada hasil gambaran histopatologi kelompok perlakuan 1 (Gambar 5.3) yaitu kelompok tikus yang diberi insisi pada tendon Achilles dan diberi analgesik asam mefenamat dapat diamati bahwa sudah tidak terdapat infiltrasi sel radang yang menandakan tidak adanya inflamasi. Selain itu terlihat adanya proliferasi sel fibroblast, hal ini menandakan bahwa fase inflamasi sudah berakhir dan proses penyembuhan tendon sudah memasuki fase proliferasi. Pada gambaran histopatologi juga terlihat bahwa pada kelompok P1 sudah terbentuk serat kolagen satu arah yang tipis.

Gambaran histopatologi tikus kelompok perlakuan (P1) menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan gambaran histopatologi kelompok kontrol positif yang ditandai dengan tidak adanya inflamasi dan terbentuknya serabut kolagen tipis satu arah. Hal ini dikarenakan pada kelompok P1 diberi analgesik asam mefenamat yang berperan sebagai analgesik dan antiinflamasi. Menurut Lostapa dkk. (2016), asam mefenamat merupakan obat antiinflamasi yang termasuk golongan non steroid (NSAID). Sama seperti obat antiinflamasi non steroid lainnya, asam mefenamat bekerja dengan cara menghambat enzim siklooksigenase. Siklooksigenase adalah enzim berperan dalam biosintesis yang prostaglandin.

Prostaglandin adalah salah satu faktor kimia yang dihasilkan dari adanya proses inflamasi yang berperan sebagai mediator peradangan dan nveri (Sudewa, 2017). Adanya penghambatan terhadap siklooksigenase pada proses penyembuhan luka akan menurunkan respon inflamasi sehingga proses inflamasi akan berlangsung lebih singkat dan segera memasuki fase proliferasi. Pada fase proliferasi akan terjadi perbaikan pada tendon yang rusak dengan adanya proses angiogenesis dan sintesis kolagen oleh fibroblast (Kusumastuti dkk., 2014). Pemberian analgesik asam mefenamat pada kelompok P1 mengakibatkan proses inflamasi berlangsung lebih singkat sehingga proses proliferasi pada kelompok P1 lebih dahulu dimulai daripada kelompok kontrol positif.

Gambaran histopatologi kelompok perlakuan 2 (Gambar 5.4) yaitu kelompok tikus yang diberi robek tendon dengan terapi analgesik asam mefenamat ditambah *biosealant* getah nangka menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan gambaran histopatologi kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan 1. Hal ini ditandai dengan tidak adanya infiltrasi sel radang yang menunjukkan tidak adanya inflamasi serta telah terbentuknya serat kolagen satu arah yang lebih tebal dan rapi apabila dibandingkan dengan serat kolagen pada kelompok perlakuan 1.

Kelompok perlakuan 2 menunjukkan hasil yang lebih baik dikarenakan selain adanya efek antiinflamasi dan analgesik dari asam mefenamat, pada getah nangka terkandung bahan aktif yaitu pektin dan selulosa (**Lampiran 9**) yang dapat membantu proses penyembuhan robek

tendon. Kandungan pektin pada getah nangka akan bekerja dengan menstimulasi leukosit seperti monosit dan neutrophil untuk melakukan kemotaksis menuju area luka (Chansiripornchai et al., 2005), sehingga dengan semakin banyaknya paparan leukosit di area luka akan meningkatkan proses fagosit terhadap bahan nekrotik dan kuman atau bakteri pada area robek tendon. Hal ini akan mengakibatkan proses pembersihan area luka menjadi lebih singkat dan tendon tidak mengalami luka yang bertambah parah. Selain itu kandungan pektin pada getah nangka juga dapat bekerja sebagai antibakteri dengan cara merusak dan mengganggu permukaan sel bakteri sehingga pertumbuhan dan perkembangan bakteri penyebab infeksi dapat dicegah. Kandungan selulosa pada getah nangka berperan sebagai perekat untuk menyatukan dan memfiksasi kedua sisi tendon yang robek (Tuhuloula et al., 2013).

Selain pektin dan selulosa, getah nangka juga mengandung tannin (Lampiran 10) yang bekerja sebagai antibakteri dan antioksidan yang dapat mempercepat penyembuhan luka (Noer dkk., 2016) sehingga fase inflamasi dapat berlangsung lebih singkat dan segera memasuki fase proliferasi. Pada fase proliferasi, makrofag akan mengaktifkan *growth factor* yang berperan dalam proses angiogenesis yaitu pembentukan pembuluh darah baru sehingga menutrisi kembali jaringan yang rusak dan proliferasi fibroblast yang akan mensintesis kolagen sehingga tendon yang rusak akan diperbaiki (Kusumastuti dkk., 2014). Pada kelompok perlakuan 2, perbaikan tendon lebih baik dibandingkan kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan

Penjelasan di atas menunjukkan bahwa penggunaan *biosealant* getah nangka mampu membantu mempercepat proses penyembuhan tendon yang ditinjau dari pengamatan histopatologi tendon yang ditandai dengan proses penyembuhan tendon yang telah memasuki fase proliferasi dan telah terbentuknya serat kolagen satu arah yang tebal dan rapi.



BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa:

- 1. Pemberian terapi *biosealant* getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) dapat menurunkan *Nociceptive withdrawal time* pada robek tendon tikus (*Rattus norvegicus*).
- 2. Pemberian terapi *biosealant* getah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) dapat mempengaruhi proses penyembuhan robek tendon pada tikus (*Rattus norvegicus*) ditinjau berdasarkan gambaran histopatologi tendon.

6.2 Saran

Apabila dilaksanakan penelitian lanjutan, perlu dijadikan perhatian mengenai hal-hal berikut:

- 1. Perlu dilakukan adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui volume, waktu dan frekuensi pemberian getah nangka yang efektif pada penyembuhan robek tendon.
- 2. Perlu dilakukan adanya penelitian lebih lanjut dengan pengamatan beberapa interval waktu pada proses kesembuhan robek tendon yang mewakili fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase maturasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Barbato, K. B., G. D. Almeida, J. D Costa, L.Rodriguez, C.Raposo, H. Dias, R. Paiva, L.P. Oliviera, J. Carvalho. 2017. Complete Achilles Tenotomy: A New Improved Experimental Surgical Technique in Rats. *Open Journal of Animal Sciences*. 10 (1): 1-11
- Barrett, J. and A. W. Nathaniel. 2008. Introduction to Equine Tendon Injury. *AAEP Proceedings* Vol. 54: 464-469
- Barrot, M. 2012. Tests and Models of Nociception and Pain in Rodents. *Neuroscience* 211: 39-50
- Casey, J. M. 2011. *Tendon Injuries (Bowed Tendon) In Horses*. Equine Sports Medicine, Dentistry, & Surgery. Florida
- Chansiripornchai P., C. Pramatwinai dan A.. Rungsipipat, 2005. The Efficiency of Polysaccahride Gel Extra from Fruit-Hulls of Durian for Wound Healing in Pig Skin. *Acta Hort*. Vol. 5(3): 39
- De Jong, J. P., J. T. Nguyen and A. J. Sonnema. 2014. The Incidence Of Acute Traumatic Tendon Injuries In The Hand And Wrist: A 10-Year Population-Based Study. *Clinical Orthopaedic Surgery* Vol. 6:196–202
- Dennis, Elisabeth A.P. 2016. Pemanfaatan Biji Buah Nangka (Artocarpus Heterophyllus) Sebagai Bahan Baku Pembuatan Susu Nabati Dengan Penambahan Perisa Jahe (Zingiber Officinale Rosc.) [Skripsi]. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta
- Doral, M. N., M. Alam, M. Bozkurt, E. Turhan, O. A. Atay, G. Donmez and N. Maffuli. 2010. Functional Anatomy of The Achilles Tendon. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* Vol. 18: 638–643
- Hasanah, A. 2015. Efek Jus Bawang Bombay (Allium cepa linn.) terhadap Motilitas Spermatozoa Mencit yang Diinduksi Streptozotocin (stz). Universitas Muhammadiyah Malang. Malang
- Hartono, B. 2016. Sel Punca: Karakteristik, Potensi dan Aplikasinya. *Jurnal Kedokteran Meditek* Vol. 22(60): 72-75
- Jusuf, A. A. 2009. *Histoteknik Dasar*. Bagian Histologi Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta
- Kusumastuti, E., J. Handajani dan H. Susilowati. 2014. Ekspresi COX-2 dan Jumlah Neutrofil Fase Inflamasi pada Proses Penyembuhan Luka Setelah Pemberian Sistemik Ekstrak Etanolik Rosela (*Hibiscus sabdariffa*). *Maj Ked Gi* Vol. 21(1): 13-19

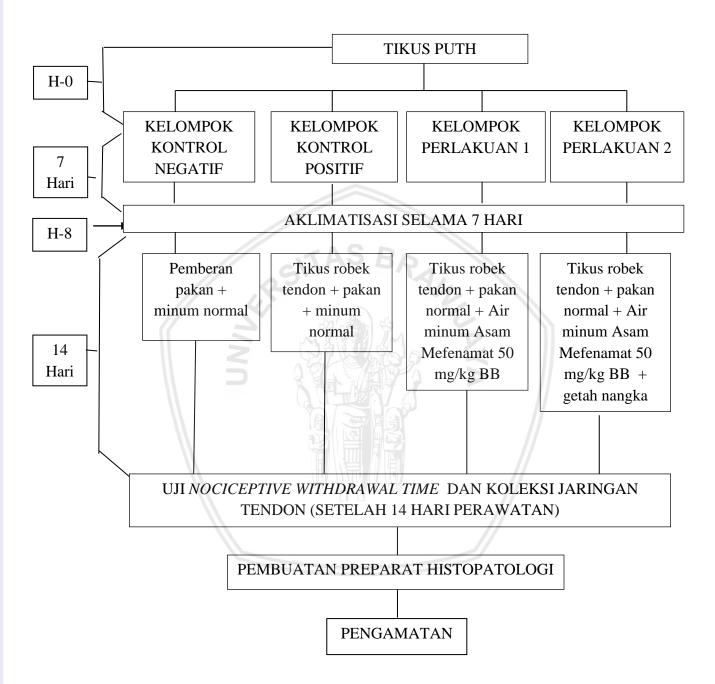
- Janvier Labs. 2013. Research Model: Sprague Dawley Rat [Online]. http://www.janvier-labs.com/rodent-research-models-services/researchmodels/per-species/outbred-rats/product/sprague-dawley.html [16 November 2018].
- Le Bars, D., M. Gozariu and S. W. Cadden. 2001. Animal models of nociception. *Pharmacol* Rev 53:597–652.
- Lostapa, W. F. W., A. A. G. J. Wardhita, G. A. G. P Pemayun dan L. M. Sudimartini. Kecepatan Kesembuhan Luka Insisi yang diberi Amoksisilin dan Asam Mefenamat pada Tikus Putih. *Buletin Veteriner Udayana* Vol. 8 (2): 172-179
- Maffuli, N., A. Del Buono, F. Spiezia, U. G. Longo and V. Denaro. 2012. Light Microscopic Histology of Quadriceps Tendon Ruptures. *International Orthopaedics* 36:2367-2371
- Maffuli, N., A. G. Via and F. Olivia. 2017. Chronic Achilles Tendon Rupture. *The Open Orthopaedics Journal* Vol. 11: 660-669
- Maula, I.F. 2014. *Uji Antifertilitas Ekstrak N-Heksana Biji Jarak Pagar (Jatropha curcas L.) pada tikus Jantan (Rattus novergicus) Galur Sprague Dawley secara In Vivo*. [SKRIPSI]. Program Studi Farmasi UIN Syarif Hidayatullah: Jakarta.
- Nair, P. N., H. Palavinel and R. Kumar. 2017. Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*), a Versatile but Underutilized Food Source. *Fiji Agricultural Journal* Vol. 57(1): 5-18
- Noer, S., R. D. Pratiwi dan E. Gresinta. 2016. Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin Dan Flavonoid Sebagai Kuersetin) Pada Ekstrak Daun Inggu (Ruta angustifolia L.). *Jurnal Ilmi-ilmu MIPA*:19-29
- Nourissat, G., F. Berenbaum and D. Duprez. 2015. Tendon Injury: From Biology to Tendon Repair. *Rheumatology Advance Online Publication*
- Permata, V. A. 2014. Patofisiologi Nyeri. *Ejournal UMM*.
- Pohan, H. 2012. Penurunan Jumlah Makrofag pada Gingiva Tikus Wistar Jantan Setelah Terpapar Stressor Rasa Sakit [Skripsi]. Universitas Jember. Jember
- Ramadhan, P. F. L. 2010. Karakterisasi In Vitro dan In Vivo Komposit Alginat Polivinil Alkohol Zno Nano Sebagai Wound Dressing Antibakteri [Skripsi]. Universitas Airlangga. Surabaya

- Rosandy, F. T. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Nangka (Artocarpus heterophyllus Lmk.) Terhadap Lama Hidup Mencit (Mus musculus) yang di Infeksi Toxoplasma gondii [Skripsi]. Universitas Airlangga. Surabaya
- Saputra, I. K. A. K. 2016. Rasio Serat Kolagen Tipe Iii/Tipe I Lebih Rendah dan Kekuatan Tensile Lebih Tinggi pada Kesembuhan Cedera Tendon Achilles Kelinci yang Diberikan Astaxanthin [Tesis]. Universitas Udayana. Denpasar
- Sengupta, P. 2013. The Laboratory Rat: Relating its Age with Human's. *International Journal of Preventive Medicine*, 4(6): 624–630.
- Sharma, P. and N. Maffuli. 2006. Tendon Injury and Tendinopathy: Healing and Repair. *Journal of Bone and Joint Surgery* Vol. 87:187-202
- Sharma, P. and N. Maffuli. 2008. Biology of Tendon Injury: Healing, Modeling and Remodeling. *Journal Musculoskelet Neuronal Interact* Vol. 6(2): 181-190
- Sharp, P. and J. Villano. 2013. *The Laboratory Rat: Second Edition*. CRC Press. Boca Raton. 1-7
- Sibarani, N. M. H., I.K. Barata, dan A.A.G. Arjana. 2013. Studi Histopatologi Hepar Tikus yang Diinduksi Aspirin Pasca Pemberian Madu Peroral. *Indonesia Medicus Veterinus* Vol. 2 (5): 499-495
- Siritapetawee, J., S. Thammasirirak and W. Samasornsuk. 2012. Antimicrobial Activity of a 48-kDa Protease (AMP48) from *Artocarpus heterophyllus* Latex. *European Review for Medical Pharmacological Science* Vol. 16(1): 132-137
- Sjamsuhidajat, R. dan de Jong, Wim. Buku Ajar Ilmu Bedah. Ed.2. 2004. Jakarta: EGC
- Slaoui, M. and L. Fiette. 2014. Histopathology Procedures: From Tissue Sampling to Histopathological Evaluation. Springer Science and Business Media. 4 (2): 69-82
- Smith, R. 2008. Tendon and Ligament Injury. AAEP Proceedings Vol. 5: 475-501
- Smith, R. and S. Michael. 2016. *Tendon injury in the horse: Current theories and therapies*. In Practice. 25. 10.1136/inpract.25.9.529.
- Snedeker, J. G. and J. Foolen. 2017. Tendon Injury and Repair A Perspective on the Basic Mechanisms of Tendon Disease and Future clinical Therapy. *Acta Biomaterialia*

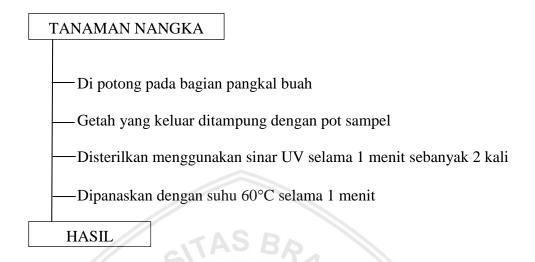
- Sudewa, I. B. A.. 2017. Siklooksigenase, Jalur Arakidonat dan *Nonsteroidal Anti Inflamatory Drugs*. Bali: Universitas Udayana
- Suprianto, A. 2014. Perbandingan Efek Fiksasi Formalin Metode Intravital dengan Metode Konvensional pada Kualitas Gambaran Histologis Tendon Tikus [Skripsi]. Universitas Tanjungpura. Pontianak
- Taylor, S. E. 2006. Mesenchymal Stem Cell Therapy In Equine Musculoskeletal Disease: Scientific Fact Or Clinical Fiction? *Equine Vet J* Vol. 39: 172-180
- Tejpal, A. dan P. Amrita. 2016. Jackfruit: A Health Boon. Delhi Institute of Pharmaceutical Sciences and Research. India
- Thomopoulos, S., W. C. Parks, D. B. Rifkin and K. A. Derwin. 2015. Mechanism of Tendon Injury and Repair. *Journal of Orthopaedic Research* Vol. 33: 832-839
- Tolistiawaty, I., J, Widjaja, P. P. F. Sumolang dan Octaviani. 2014. Gambaran Kesehatan pada Mencit (Mus musculus) di Instalasi Hewan Coba. *Jurnal Vektor Penyakit* Vol. 8(1): 27 32
- Tuhuloula, A., L. Budiyarti dan E. N. Fitriana. 2013. *Karakterisasi Pektin Dengan Memanfaatkan Limbah Kulit Pisang Menggunakan Metode Ekstraksi*. Universitas Lambung Mangkurat. Banjarmasin
- Wulandari, Aulia Tamam. 2015. *Kajian Polimer Dalam Getah Nangka* (Artocarpus Heterophyllus). Yogyakarta: Universitas Atma Jaya Yogyakarta



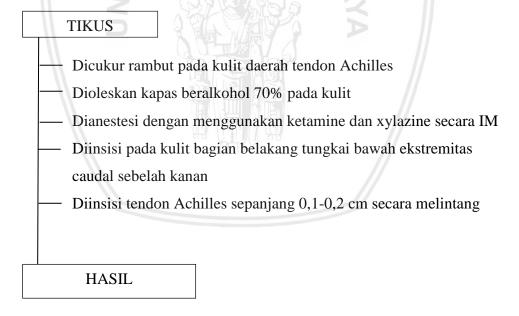
Lampiran 1 : Kerangka Operasional Penelitian



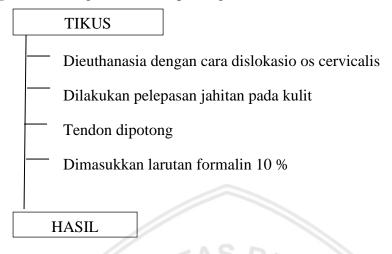
Lampiran 2 Persiapan Getah Nangka



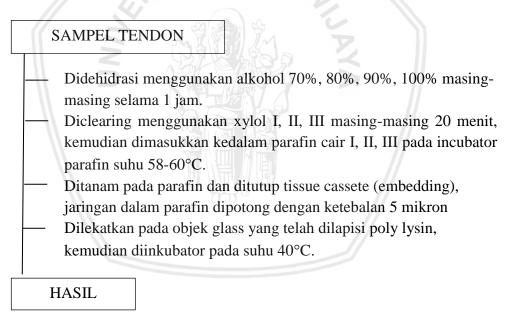
Lampiran 3: Pembuatan Insisi Robek Tendon Pada Hewan Coba



Lampiran 4 : Pengambilan Sampel Organ Tendon



Lampiran 5 : Pembuatan Preparat Histologi



Lampiran 6 : Sertifikat Laik Etik



KOMISI ETIK PENELITIAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KETERANGAN KELAIKAN ETIK "ETHICAL CLEARENCE"

No: 933-KEP-UB

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

PENELITIAN BERJUDUL

: PENGGUNAAN GETAH NANGKA (Artocarpus heterophyllus) SEBAGAI LEM BIO SEALANT PADA MODEL ROBEK TENDON TIKUS PUTIH (Rattus norvegicus)

PENELITI

: ADITYA FERNANDO

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT

: UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN

: LAIK ETIK

Malang, 13 April 2018 Ketua Komisi Etik Penelitian Udiversitas Brawijaya

NIP. 19600903 198802 2 001

Lampiran 7 : Data Uji Statistika Nociceptive Withdrawal Time TestUji Normalitas Data

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov ^a		Shapiro-Wilk		ilk	
	KELOMPOK	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
REFLEKS	KONTROL NEGATIF	.201	5	.200*	.979	5	.930
	KONTROL POSITIF	.300	5	.161	.897	5	.394
	KELOMPOK 1	.299	B ₅	.164	.861	5	.231
	KELOMPOK 2	.195	5	.200*	.952	5	.752

a. Lilliefors Significance Correction

Hasil uji normalitas data menunjukkan bahwa nilai signifikansi (p) > 0,05, sehingga H_0 dapat diterima dan data yang digunakan memiliki distribusi yang tersebar normal.

Uji Homogenitas Varian

Test of Homogeneity of Variances

REFLEKS

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.805	3	16	.187

Hasil uji homogenitas varian menunjukkan nilai signifikansi (p) sebesar 0,187. Oleh karena nilai p > 0,05 maka H_0 dapat diterima dan data yang digunakan memiliki ragam yang homogen.

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

Uji Statistik ANOVA

ANOVA

REFLEKS					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	152.171	3	50.724	36.315	.000
Within Groups	22.349	16	1.397		
Total	174.520	19			

Deskriptif

Descriptives

REFLEKS			63,		44			
			601	A. C.	95% Confidence	Interval for Mean		
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
KONTROL NEGATIF	5	3.0760	1.29920	.58102	1.4628	4.6892	1.30	4.70
KONTROL POSITIF	5	9.4800	.60154	.26902	8.7331	10.2269	8.61	10.31
KELOMPOK 1	5	8.9920	1.00186	.44804	7.7480	10.2360	7.31	9.94
KELOMPOK 2	5	4.5960	1.59174	.71185	2.6196	6.5724	2.74	6.76
Total	20	6.5360	3.03072	.67769	5.1176	7.9544	1.30	10.31

Pada hasil uji statistik ANOVA didapat nilai signifikansi (p) < 0.05,

sehingga H₀ ditolak yang berarti terdapat perbedaan signifikan antar perlakuan.

Uji Tukey

REFLEKS

Tukey HSD

		Subset for a	alpha = 0.05
KELOMPOK	N	1	2
KONTROL NEGATIF	5	3.0760	
KELOMPOK 2	5	4.5960	
KELOMPOK 1	5		8.9920
KONTROL POSITIF	5		9.4800
Sig.		.217	.913

BRAWIJAYA

Uji Tukey

REFLEKS

Tukey HSD

	Ī		
		Subset for a	alpha = 0.05
KELOMPOK	N	1	2
KONTROL NEGATIF	5	3.0760	
KELOMPOK 2	5	4.5960	
KELOMPOK 1	5		8.9920
KONTROL POSITIF	5		9.4800
Sig.		.217	.913

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



Lampiran 8 : Hasil Pengujian Kandungan Pektin dan Selulosa pada Getah Nangka

UNIT PELAKSANA TEKNIS (UPT) LABORATORIUM PUTRA INDONESIA MALANG

Jl. Barito No. 5 Telp. (0341) 491132 - 492052 Fax. (0341) 485411 MALANG

SURAT KETERANGAN HASIL PENGUJIAN

Nomor: 121 / UPT-LAB.PIM / I / 2019

Yang bertandatangan di bawah ini menerangkan, bahwa hasil pengujian sebagai berikut:

Nama Sampel

: Getah Nangka

Produksi

Kode Produksi/Batch:

: Pot

Wadah Jumlah

: 1 sampel

Asal Sampel

: Malang, Indonesia

Jenis Pengujian

: Uji Selulosa dan Pektin

Hasil Pengujian

A THE A	H G III	asil
Jenis Uji	Kualitatif	Kuantitatif
Pektin	positif	0,21 %
Selulosa	positif	24,42%

Demikian surat keterangan hasil pengujian sampel ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.



HASIL PENGUJIAN INI HANYA BERLAKU UNTUK CONTOH - CONTOH TERSEBUT DI ATAS.

Lampiran 9 : Hasil Pengujian Kandungan Tannin pada Getah Nangka



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR DINAS KESEHATAN UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU

Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu

KOTA BATU

65313

Nomor Sifat

: 074 / 06D / 102.7 / 2019

Perihal

Surat Keterangan Analisa Kualitatif

Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :

Nama	NIM	Fakultas
Aulia Dyasti Maurenda	155130107111047	
Akhmad Rifky Tri B.	155130100111057	Kedokteran Hewan, Universitas
Silvira Tri Purnama	155130101111076	Brawijaya
Aditya Fernando	155130101111080	

2. Identitas Sampel

Nama daerah sampel

Nangka Artocarpus heterophyllus

Nama latin Getah

Bagian sampel Bentuk sampel : Segar Asal sampel

Tanggal penerimaan Tanggal pemeriksaan : 21 Januari 2019 : 22 Januari 2019

No	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil
1.	Flavonoid	Merah Bata, Merah Muda, Merah Tua	Negatif
2.	Tanin	Hijau Kehitaman, Biru Kehitaman, Coklat Kehitaman	Positif
3.	Saponin	Busa Permanen	Negatif

Nama Sampel	Flavonoid	Tanin	Saponin
Getah Nangka (Artocarpus heterophyllus)	W V		

5. Pustaka

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

Demikian disampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

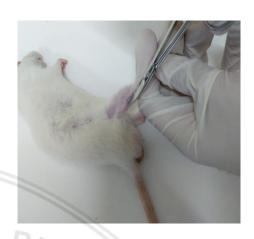
Batu, 22 Januari 2019 Kepala UPT Materia Medica Batu

r. PHISAFRAM, Drs. Apt. MKes. 1P. 19611102 199103 1 003

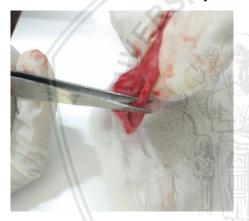
Lampiran 10 : Dokumentasi Kegiatan



Pemberian Anastesi Ketamin Xylazin



Insisi Kulit pada Kaki Belakang



Dilakukan perobekan pada tendon



Pemberian lem biosealan getah nangka



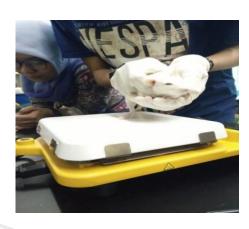
Pemberian Sinar UV



Penutupan Kulit dengan penjahitan



Pemeliharaan hewan coba pasca perlakuan



Uji Nociceptive withdrawal time



Pengkoleksian Tendon



Tendon yang dikoleksi



Sampel tendon dimasukkan kedalam formalin



Pembuatan preparat histopatologi tendon