PENGARUH PEMBERIAN SALEP EKSTRAK KULIT JENGKOL (Archidendron pauciflorum) TERHADAP EKSPRESI IL-6 DAN HISTOPATOLOGI EPIDERMIS KULIT DALAM PROSES KESEMBUHAN LUKA TERBUKA PADA TIKUS (Rattus norvegicus)

SKRIPSI

Oleh: GITA AMALIA 145130107111001



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG 2019

PENGARUH PEMBERIAN SALEP EKSTRAK KULIT JENGKOL (Archidendron pauciflorum) TERHADAP EKSPRESI IL-6 DAN HISTOPATOLOGI EPIDERMIS KULIT DALAM PROSES KESEMBUHAN LUKA TERBUKA PADA TIKUS (Rattus norvegicus)

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan

> Oleh: GITA AMALIA 145130107111001



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG 2019

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN SALEP EKSTRAK KULIT JENGKOL (Archidendron pauciflorum) TERHADAP EKSPRESI IL-6 DAN HISTOPATOLOGI EPIDERMIS KULIT DALAM PROSES KESEMBUHAN LUKA TERBUKA PADA TIKUS (Rattus norvegicus)

Oleh: <u>GITA AMALIA</u> 145130107111001

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji pada tanggal 6 Maret 2019 dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Edwin Widodo, S.Si., M.Sc., Ph.D NIP. 19810504 200501 1 001 drh. Fajar Shodid Permata, M.Biotech NIP. 198202 7 200912 2 003

Mengetahui, Dekan Fakultas Kedokteran Hewan

Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc NIP. 19631216 198803 1 002

ii

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Gita Amalia NIM : 145130107111001 Program Studi : Kedokteran Hewan

Penulis Skripsi berjudul : Pengaruh Pemberian Salep Ekstrak Kulit Jengkol

(Archidendron pauciflorum) Terhadap Ekspresi IL-6 dan Histopatologi Epidermis Kulit dalam Proses Kesembuhan Luka Terbuka pada Tikus (Rattus

norvegicus)

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaksud di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.

2. Apabila di kemudian 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, Maret 2019 Yang menyatakan,

<u>Gita Amalia</u> NIM. 145130107111001

PENGARUH PEMBERIAN SALEP EKSTRAK KULIT JENGKOL (Archidendron pauciflorum) TERHADAP EKSPRESI IL-6 DAN HISTOPATOLOGI EPIDERMIS KULIT DALAM PROSES KESEMBUHAN LUKA TERBUKA PADA TIKUS (Rattus norvegicus)

ABSTRAK

Luka terbuka adalah cedera yang melibatkan kerusakan eksternal atau internal pada kulit dan jaringan tubuh. Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat herbal untuk penanganan luka adalah kulit jengkol. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh kulit jengkol (Archindendron pauciflorum) dalam menurunkan efek inflamasi luka terbuka melalui ekspresi IL-6 sebagai indikator kesembuhan luka dan perubahan yang terlihat pada gambaran histopatologi epidermisnya. Penelitian dilakukan dengan cara pemberian salep ekstrak kulit jengkol terhadap luka terbuka. Ekstrak kulit jengkol dibuat pada sediaan salep dengan konsentrasi 5%, 10% dan 15%. Hewan coba yang digunakan adalah 20 ekor tikus putih (Rattus norvegicus). Tikus coba dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok KN (Kontrol Negatif) adalah kelompok sehat, kelompok KP (Kontrol Positif) adalah kelompok yang diberi luka terbuka namun tidak diterapi, dan kelompok P1 – P3 adalah kelompok yang diberi luka terbuka dan diterapi salep kulit jengkol dengan konsentrasi masing-masing 5%, 10%, dan 15%. Parameter yang digunakan pada penelitian ini adalah ekspresi IL-6 dengan pewarnaan imunohistokimia dan gambaran histopatologi epidermis kulit dengan pewarnaan HE. Analisis data yang dilakukan adalah dengan uji One Way ANOVA dan uji lanjutan Tukey dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0.05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekspresi IL-6 pada kelompok KP sebesar 97,43 ± 0,91% turun menjadi 39,54 ± 1,27% pada kelompok P3 (salep 15%). Hal ini menunjukkan bahwa pada P3 memiliki nilai persentase yang mendekati dengan kelompok KN yaitu 31,08 ± 1,62%. Gambaran histopatologi epidermis kulit menunjukkan reepitelisasi yang paling baik pada kelompok P2 (salep 10%). Kesimpulan penelitian ini ekstrak kulit jengkol dapat digunakan sebagai terapi alternatif pada penyembuhan luka terbuka.

Kata Kunci: luka terbuka, kulit jengkol, IL-6, histopatologi epidermis kulit.

THE EFFECT OF JENGKOL-SKIN (Archidendron pauciflorum) EXTRACT OINTMENT BY LOOKING AT IL-6 EXPRESSION AND THE EPIDERMAL HISTOPHATOLOGY OF SKIN IN OPENWOUNDS HEALING OF RATS (Rattus norvegicus)

ABSTRACT

An open wound is an injury involving an external or internal break in the skin and body tissue. One of plants that can be used for wound treatment is the skin of jengkol fruit. This study was conducted to determine the effect of jengkol skin (Archidendron pauciflorum) in reducing the inflammatory effect on IL-6 expression as an indicator of wound healing and the changes in the histopathology image of epidermal skin. The research was done by giving an extract of jengkol skin to openwound. The extract is made of ointment with the concentration of 5%, 10%, and 15%. The experimental animals were used 20 rats (Rattus norvegicus). Rats will divide into 5 groups. KN (Negative Control) is a healthy, KP (Positive Control) is an incisored but untreated group, and P1 – P3 are the group that were given and treated with jengkol-skin ointment with each concentration of 5%, 10%, and 15%. The parameters used in this study are the expression of IL-6 with immunohistochemical staining, and histopathology images of epidermsl skin with HE staining. Data analysis was performed by One Way ANOVA-test and Tukeycontinued-test with 95% significance level ($\alpha = 0.05$). The results showed that IL-6 expression in KP have reduced from $97.43 \pm 0.91\%$ to $39.54 \pm 1.27\%$ in P3 (15%) ointment). This shows that the percentage value of P3 is closer to KN (31,08 \pm 1,62%). The histopathologic image of the epidermal skin also shows the best reepitelization is in P2 (10% ointment). The conclusion in this study is jengkol skin extract can be used as an alternative therapy for open-wound healing.

Keywords: open wound, jengkol skin, IL-6, epidermal histopatology.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga proposal skripsi yang berjudul Pengaruh Pemberian Salep Ekstrak Kulit Jengkol (*Archidendron pauciflorum*) Terhadap Ekspresi IL-6 dan Histopatologi Epidermis Kulit dalam Proses Kesembuhan Luka Terbuka pada Tikus (*Rattus norvegicus*) dapat terselesaikan. Pada penulisan ini penulis tidak lupa mengucapkan terima kasih kepada:

- 1. Bapak Edwin Widodo, S.Si., M.Sc., Ph.D selaku dosen pembimbing satu atas bimbingan, nasehat serta waktunya dalam mendukung pelaksanaan dan penyusunan skripsi.
- 2. drh. Dian Vidiastuti, M.Si dan drh. Fajar Shodiq Permata, M.Biotech selaku dosen pembimbing dua atas bimbingan, nasehat serta waktunya dalam mendukung pelaksanaan dan penyusunan skripsi.
- 3. drh. Dodik Prasetyo, M.Vet selaku dosen penguji satu yang telah memberikan masukan dan kritikan untuk menjadikan skripsi ini lebih baik.
- 4. drh. Fidi Nur Aini EPD, M.Si selaku dosen penguji dua yang telah memberikan masukan dan kritikan untuk menjadikan skripsi ini lebih baik.
- 5. Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya atas dukungan dan bimbingan dalam mendukung penyusunan skripsi ini dan untuk kemajuan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.

- 6. Keluarga tercinta ayahanda Adhi Dharmansyah dan ibunda Surima Dayani atas do'a, dorongan, semangat serta fasilitas yang telah diberikan.
- 7. Keluarga tercinta kakak Andhini Rachmawati, Rama Arisaputra, kakak ipar Melsa Sufyani, dan keponakan Raesha Manhasiva Arisaputra dan Ralea Amera Arisaputra yang senantiasa memberikan do'a, dorongan, semangat serta fasilitas yang telah diberikan.
- 8. Yasmin, Nastiti, dan Firsta sebagai rekan kelompok skripsi yang telah bekerja sama dengan baik selama pelaksanaan dan penyusunan skripsi.
- 9. Sahabat tersayang Istiqvarani Sanputri, Icha Yung Aulia, Intan Kirana, dan Riera Indah yang selalu memberikan dukungan, do'a, dan semangat bagi penulis dalam pelaksaan dan penyusunan skripsi.
- 10. Teman-teman 2014A (*Amaze Class*) dan angkatan 2014 (AVENGERS) yang selalu memberikan dukungan, do'a, dan semangat bagi penulis dalam pelaksaan dan penyusunan skripsi.
- 11. Serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebut satu persatu yang telah membantu dalam penyusunan skripsi.

Akhir kata penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan dan bantuan yang telah diberikan kepada penulis dan semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat dan menambah pengetahuan bagi penulis dan pembaca.

Malang, Maret 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halar	man
HALAMAN JUDI	UL	i
	ESAHAN SKRIPSI	
	YATAAN	
	AR	
DAFTAR I AMPI	IRAN	Xii
DAFTAR SINGK	ATAN DAN LAMBANG	Xiii
RAR 1 PENDAHI	JLUAN	1
1 1 I star Re	lakang	1
1.1 Latal DC	n Masalah	4
1.3 Batasan	Masalah	4
1.4 Tujuan F	Penelitian	5
1.5 Manfaat	Penelitian	5
	N PUSTAKA	
	Luka	
2.2 Proses P	enyembuhan Luka	
	omeostasis	
2.2.2 Inf	lamasi	9
2.2.3 Pro	oliferasi	11
2.2.4 Res	modelling	13
		15
	uktur Kulit	15
	stopatologi Kulit	
2.4 Jengkol		19
	asifikasi Jengkol	
	andungan dan Manfaat	20
2.1.2 Rd 2.5 Interleuk	kin 6 (IL-6)	
	Coba	
2.0 Hewan C		23
RAR 3 KERANCI	KA KONSEP	25
		25
_	a Konseptual	
5.2 Hipotesis	s Penelitian	28
RAR 4 METODO	LOGI PENELITIAN	29
		29
	dan Waktu Penelitian	
	Bahan	29
4.2.1 Ala	at-alat Penelitian	29

		4.2.2 Bahan Penelitian	30
	4.3	Sampel Penelitian	30
		Rancangan Penelitian	
		Variabel Penelitian	
	4.6	Tahapan Penelitian	32
	4.7	Prosedur Kerja	32
		4.7.1 Persiapan Hewan Coba	32
		4.7.2 Pembuatan Ekstrasi Kulit Jengkol	33
		4.7.3 Pembuatan Salep Ekstrak Kulit Jengkol	33
		4.7.4 Pembuatan Luka Terbuka pada Hewan Coba	34
		4.7.5 Pemberian Terapi Salep Ekstrak Kulit Jengkol	35
		4.7.6 Pengambilan Jaringan Kulit dan Pembuatan Preparat	
		Histopatologi Kulit Tikus	35
		4.7.7 Pengamatan Gambaran Histopatologi Kulit Tikus	37
		4.7.8 Pengamatan Ekspresi IL-6 dengan Imunohistokimia (IHK)	37
	4.8	Analisis Data	39
BAB :	5 H	ASIL DAN PEMBAHASAN	40
	5.1	Pengaruh Pemberian Salep Ekstrak Kulit Jengkol (Archidendron	
		pauciflorum) Terhadap Ekspresi IL-6 dalam Proses Kesembuhan	
		Luka Terbuka Tikus	40
	5.2	Pengaruh Pemberian Salep Ekstrak Kulit Jengkol (Archidendron	
		pauciflorum) Terhadap Perubahan yang Terjadi Melalui Gambaran	
		Histopatologis Epidermis Kulit dalam Proses Kesembuhan Luka	
		Terbuka Tikus	45
BAB	6 K	ESIMPULAN DAN SARAN	56
	6.1	Kesimpulan	56
	6.2	Saran	56
DAFT	ΓΔΙ	R PUSTAKA	57
I AM			62

DAFTAR GAMBAR

Gam	Gambar Halan	
2.1	Fase Inflamasi	11
2.2	Fase Poliferasi	13
2.3	Fase Remodeling	14
2.4	Gambaran histopatologis kulit normal tikus	18
2.5	Kulit jengkol (Archidendron pauciflorum)	20
2.6	Tikus putih (Rattus norvegicus)	23
3.1	Kerangka konsep penelitian	25
5.1	Ekspresi IL-6 pada semua kelompok kulit tikus pasca terapi hari ke-10	
	dengan perbesaran 400X	41
5.2	Gambaran histopatologis epidermis kulit tikus pewarnaan HE kelompok Kontrol Negatif (KN) perbesaran 100X dan 400X	47
5.3	Gambaran histopatologis epidermis kulit tikus pewarnaan HE kelompok Kontrol Positif (KP) perbesaran 100X dan 400X	49
5.4	Gambaran histopatologis epidermis kulit tikus pewarnaan HE kelompok P1 perbesaran 100X dan 400X	50
5.5	Gambaran histopatologis epidermis kulit tikus pewarnaan HE kelompok	
	P2 perbesaran 100X dan 400X	51
5.6	Gambaran histopatologis epidermis kulit tikus pewarnaan HE kelompok	
	P3 perbesaran 100X dan 400X	52

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman	
5.1	Rata-rata ekspresi IL-6 pada semua kelompok perlakuan	42	



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman	
1.	Kerangka Operasional Rencana Penelitian	63	
2.	Langkah Kerja Penelitian	64	
3.	Perhitungan Komposisi Salep Ekstrak Kulit Jengkol	66	
4.	Perhitungan Dosis Anasthesi	67	
5.	Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit dengan Pewarnaan HE	68	
6.	Pembuatan Preparat Ekspresi IL-6 dengan Metode IHK	69	
7.	Hasil Uji Statistik Rata-rata Ekspresi IL-6	70	
8.	Laik Etik	75	
9.	Determinasi Kulit Jengkol	76	
10.	Dokumentasi	78	



BRAWIJAY

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

ADP : Adenosine Diphosphate

ANOVA : Analysis of Variance

BB : berat badan

cm : centimeter

COX : cyclooxygenase

DAB : Diamino Benzidine

ECM : Extracellular Matrix

EGF : Epidermal Growth Factor

FGF : Fibroblast Growth Factor

FGF-1 : Fibroblast Growth Factor-1

FGF-2 : Fibroblast Growth Factor-2

g : gram

H₂O₂ : Hidrogen Peroksidae

HE : Hematoxylin Eosin

ICAM : Intercellular Adhesion Moleculer

IgG: Immunoglobulin G

IHK: immunohistokimia

IL-1 : Interleukin 1

IL-6 : *Interleukin* 6

IL-8 : Interleukin 8

IM : intramuscular

KGF : Kreatinocyte Growth Factor

KN : Kontrol Negatif

KP : Kontrol Positif

LOX : lipooxygenase

LPS : lipopolisakarida

mm : milimeter

MMP : matriks metalloproteinase

P1 : Perlakuan 1

P2 : Perlakuan 2

P3 : Perlakuan 3

PBS : Phospat Buffered Saline

PGA : Pulvis Gummi Arabicum

PMN : polimorfonuklear

RAL : Rancangan Acak Lengkap

SA-HRP : Strep Avidin Horse Radish Peroxidase

SAINTEK: Sains dan Teknologi

SALT : Skin Associated Lymphoid Tissue

SD : standar deviasi

TGF : Transforming Growth Factor

TGF-β : Transforming Growth Factor-Beta

TNF-α : Tumor Necrosis Factor-Alpha

UV : ultraviolet

VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor

1.1 Latar Belakang

Luka adalah rusak atau hilangnya jaringan tubuh yang terjadi karena adanya suatu faktor yang mengganggu sistem perlindungan tubuh. Faktor tersebut seperti trauma, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik, atau gigitan hewan. Bentuk luka berdasarkan penyebabnya yaitu luka tertutup dan luka terbuka. Salah satu contoh luka tertutup adalah hematoma dimana pembuluh darah yang pecah menyebabkan berkumpulnya darah di bawah kulit. Salah satu contoh luka terbuka adalah luka insisi dimana terdapat robekan linier pada kulit dan jaringan di bawahnya, baik secara tidak sengaja maupun sengaja dibuat (Pusponegoro, 2005). Luka yang sengaja dibuat untuk tujuan tertentu seperti luka insisi pada operasi. Pada luka insisi, ukuran luka yang terlihat dari luar (external component) lebih panjang daripada kedalaman luka (internal component). Insisi yang lebih dalam meliputi lapisan muskularis, pembuluh darah, saraf maupun tendo (Triyono, 2005).

Penyembuhan luka ditandai dengan adanya reepitelisasi dan pemulihan jaringan ikat dibawahnya. Ketika terjadi luka, tubuh memiliki mekanisme untuk mengembalikan komponen-komponen jaringan yang rusak dengan membentuk struktur baru dan fungsional (Ferreira *et al.*, 2006). Proses penyembuhan luka tidak hanya terbatas pada proses regenerasi yang bersifat lokal, tetapi juga dipengaruhi oleh faktor endogen, seperti umur, nutrisi, imunologi, pemakaian obat-obatan, dan kondisi metabolik. Proses penyembuhan luka dibagi ke dalam empat tahap, dimana keempat fase bekerja

BRAWIJAYA

secara *overlapping* (saling tumpang tindih), yaitu tahap homeostasis, inflamasi, proliferasi, dan *remodelling* (Diegelmann *and* Evans, 2004).

Proses penyembuhan luka memerlukan peranan dari mediator sitokin pro-inflamasi seperti TNF-α (*Tumor Necrosis Factor-Alpha*), *Interleukin* (IL-1, IL-6, IL-8), dan TGF-β (*Transforming Growth Factor-Beta*). Sitokin IL-6 merupakan mediator pro-inflamasi yang diproduksi oleh sel T dan makrofag yang berfungsi untuk merangsang sel inflamasi dan respon kekebalan tubuh selama infeksi. Semakin tinggi kadar IL-6 pada luka, menandakan proses inflamasi yang sedang berlangsung. Apabila jumlah sitokin IL-6 berlebihan, maka dapat memperpanjang masa inflamasi dan menunda proses kesembuhan luka (Masfufatun, 2017).

Penggunaan obat bertujuan untuk mempercepat proses penyembuhan luka. Obat yang digunakan dapat berupa obat kimia atau obat herbal. Salah satu penanganan luka menggunakan obat yang cukup dikenal oleh masyarakat adalah *povidon iodine*. Penggunaan obat ini mempunyai banyak efek samping yang kemungkinan dapat menghambat penyembuhan luka, yaitu iritasi kulit, nyeri ringan, dan reaksi alergi (kemerahan pada kulit, rasa gatal, dan bengkak), sehingga diperlukan alternatif lain untuk menyembuhkan luka (Sajidah *et al.*, 2014). Obat yang sering digunakan untuk mempercepat penyembuhan luka insisi adalah obat topikal (salep). Harga obat salep dianggap relatif lebih murah dibandingkan dengan obat-obatan lainnya. Penggunaan obat salep juga tergolong sederhana dan mudah diaplikasikan secara langsung (Evaria dan Rince, 2007).

Obat herbal atau terapi herbal adalah salah satu terapi tradisional yang banyak digunakan oleh masyarakat di Indonesia. Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat herbal adalah kulit jengkol. Jengkol (Archidendron pauciflorum) banyak ditemukan di hampir seluruh wilayah Indonesia, tanaman ini biasanya digunakan bijinya untuk dimasak maupun dimakan segar, akan tetapi mendapatkan nama (stigma) yang negatif karena baunya. Salah satu manfaat kulit jengkol dengan pemberian salep ekstrak kulit jengkol adalah dapat mempercepat penutupan luka (Malini dkk., 2017). Menurut Hutapea (1994), kulit jengkol mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, glikosida dan steroid/triterpenoid. Senyawa-senyawa tersebut telah diketahui berperan dalam penyembuhan luka melalui mekanisme antimikroba, meningkatkan neovaskularisasi dan kepadatan kolagen, serta sebagai astringensia dan antioksidan (Malini dkk., 2017). Efek anti-inflamasi pada kulit jengkol berasal dari senyawa aktif flavonoid. Aktivitas antiinflamasi dari flavonoid yaitu dengan penghambatan aktivitas cyclooxygenase (COX) dan lipoxygenase (LOX) sehingga dapat menurunkan efek inflamasi pada luka (Riansyah dkk., 2015).

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka pengobatan herbal ektrak kulit jengkol (*Archidendron pauciflorum*) dapat berpotensi sebagai obat untuk menyembuhkan luka dengan mempercepat fase inflamasi, memicu fase poliferasi serta meningkatkan fase *remodelling*. Penulis melakukan penelitian ini untuk mengetahui bahwa salep ekstrak kulit jengkol dapat menurunkan ekspresi IL-6 dan memahami perubahan patologis kulit melalui gambaran histopatologis dalam proses penyembuhan luka terbuka pada

hewan coba tikus. Penelitian ini dilakukan berdasarkan referensi dari penelitian Malini, dkk. (2017), bahwa pemberian salep ekstrak kulit jengkol dapat mempercepat penutupan luka, dimana hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) model diabet.

1.2 Rumusan Masalah

- 1. Bagaimana pengaruh pemberian salep ekstrak kulit jengkol (*Archidendron pauciflorum*) terhadap ekspresi IL-6 dalam proses kesembuhan luka terbuka pada tikus?
- 2. Bagaimana pengaruh pemberian salep ekstrak kulit jengkol (Archidendron pauciflorum) terhadap gambaran histopatologi kulit dalam proses kesembuhan luka terbuka pada tikus?

1.3 Batasan Masalah

- 1. Hewan model yang digunakan adalah tikus ($Rattus\ norvegicus$) jantan strain $Wistar\ umur\ 8-12\ minggu\ dengan\ berat\ badan\ 150-250\ gram.$
- Pembuatan luka terbuka dilakukan pada bagian dorsal tikus (dengan titik orientasi regio vertebrae, musculus trapezius pars thorachalis dan musculus latissimus dorsi) sepanjang 3 cm dengan kedalaman mencapai lapisan subkutan.
- Kulit jengkol yang dipakai berasal dari jengkol matang yang sudah berwarna hitam kecoklatan. Kulit jengkol tersebut didapatkan dari Pasar Daerah Kota Tangerang.

- Pemberian ekstrak kulit buah jengkol pada sediaan salep konsentrasi 5%,
 10% dan 15% diberikan 2 kali sehari selama 7 hari.
- 5. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah histopatologi kulit metode HE (*Hematoxylin Eosin*) dan ekspresi IL-6 dengan metode imunohistokimia.

1.4 Tujuan Penelitian

- Mengetahui pengaruh pemberian salep ekstrak kulit jengkol (Archidendron pauciflorum) terhadap ekspresi IL-6 dalam proses kesembuhan luka terbuka pada tikus.
- 2. Mengetahui pengaruh pemberian salep ekstrak kulit jengkol (*Archidendron pauciflorum*) terhadap perubahan yang terjadi melalui gambaran histopatologis kulit dalam proses kesembuhan luka terbuka pada tikus.

1.5 Manfaat Penelitian

- Penelitian ini dapat digunakan sebagai kajian ilmiah pemanfaatan flavonoid dari ekstrak kulit jengkol (*Archidendron pauciflorum*) dalam mempengaruhi ekspresi IL-6 dan gambaran histopatologi kulit pada kesembuhan luka terbuka tikus.
- 2. Manfaat lainnya dari penelitian ini adalah untuk pemanfaatan kulit jengkol yang selama ini tidak digunakan atau merupakan bahan yang terbuang, dapat dijadikan sebagai alternatif dalam pengobatan penyembuhan luka.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Definisi Luka

Luka merupakan kerusakan pada suatu komponen jaringan tubuh, dimana terdapat substansi jaringan yang rusak atau hilang. Kerusakan fisik kulit dapat menyebabkan hilangnya fungsi dan struktur kulit normal, serta menimbulkan efek seperti pendarahan, pembekuan darah, dan kematian sel. Penyebab terjadinya luka antara lain trauma benda-benda tajam atau tumpul, sengatan listrik, zat kimia, maupun gigitan hewan (Ammusen *and* Sollner, 2000).

Luka terbagi menjadi dua yaitu luka terbuka (*vulnus appertum*) dan luka tertutup (*vunus occlusum*). Jenis-jenis luka terbuka adalah luka iris, luka insisi, tusuk, bakar, lecet, tembak, laserasi, penetrasi, avulsi, *open fracture*, dan luka gigit. Jenis-jenis luka tertutup adalah memar, bula, hematoma, *sprain*, dislokasi, *close fracture*, laserasi organ dalam (Hidayana, 2011).

Salah satu jenis luka terbuka adalah luka insisi. Menurut Pavletic (2010), luka insisi merupakan salah satu jenis luka yang terjadi mekanisme *shearing* (pemotongan), di mana dihasilkan akibat goresan benda-benda tajam, seperti pisau, kaca, silet dan lain-lain. Energi dari benda-benda tersebut didispersi sepanjang area yang terkena luka sehingga menyebabkan kerusakan jaringan. Luka insisi juga umum dilakukan pada prosedur yang steril dalam proses pembedahan menggunakan bantuan *blade* sehingga hasil dari luka insisi akan terlihat rapi dan dapat ditentukan panjang serta kedalamannya (Memon *et al.*, 2016).

2.2 Proses Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka adalah suatu proses yang kompleks karena adanya kegiatan bioseluler dan biokimia yang terjadi secara berkesinambungan. Penggabungan respon vaskuler, aktivitas seluler, dan terbentuknya senyawa kimia sebagai substansi mediator di daerah luka merupakan komponen yang saling terkait pada proses penyembuhan luka. Ketika terjadi luka, tubuh memiliki mekanisme untuk mengembalikan komponen-komponen jaringan yang rusak dengan membentuk struktur baru dan fungsional (Ferreira, 2006). Berdasarkan waktu penyembuhan, DeLaune (2010) membagi luka menjadi dua jenis, yaitu luka akut, pada saat luka terjadi kurang dari beberapa hari, dan luka kronis, pada saat luka terjadi selama beberapa minggu, bulan ataupun tahun.

Penyembuhan luka merupakan proses yang diatur secara ketat di mana platelet dan fibrin segera mengisi dasar luka dengan gumpalan yang tidak larut, dan terjadi imigrasi neutrofil yang signifikan. Re-epitelisasi hasil oleh proliferasi keratinosit berdekatan dan migrasi di atas area luka. Neutrofil pada luka penting untuk menetralisasi mikroba, namun tidak adanya neutrofil pada luka steril tidak menunda penyembuhan. Makrofag kemudian direkrut dan berperan dalam pembersihan puing-puing dan penyediaan faktor pertumbuhan dan angiogenik. Makrofag pada luka biasanya mengekspresikan penanda yang menunjukkan jalur alternatif dengan adanya fungsi dalam *remodeling* jaringan dan angiogenesis, dibandingkan dengan hanya untuk mematikan patogen (Manchini, 2010).

Selama proses perbaikan, makrofag dianggap memainkan peran penting dalam fibrosis dan bekas luka. Di dalam luka, makrofag membersihkan matriks dan puing-puing sel, termasuk fibrin dan neutrofil bekas. Makrofag juga mengeluarkan

BRAWIJAYA

growth factor dan mediator peradangan yang dapat mengkoordinasikan berbagai tindakan sel, seperti proliferasi fibroblas dan angiogenesis, selama penutupan luka. Perbaikan yang berhasil memerlukan resolusi respon inflamasi (Manchini, 2010).

Proses penyembuhan luka tidak hanya terbatas pada proses regenerasi yang bersifat lokal, tetapi juga dipengaruhi oleh faktor endogen, seperti umur, nutrisi, imunologi, pemakaian obat-obatan, dan kondisi metabolik. Proses penyembuhan luka dibagi ke dalam empat fase, meliputi fase homeostasis, inflamasi, proliferasi, dan maturasi (Diegelmann, 2004).

2.2.1 Homeostasis

Homeostatis memiliki peran protektif yang membantu dalam penyembuhan luka. Pada awal terjadinya luka, vasokonstriksi lokal terjadi pada arteri dan kapiler untuk membantu menghentikan pendarahan. Proses ini dimediasi oleh epinephrin, norepinephrin dan prostaglandin yang dikeluarkan oleh sel yang cedera. Setelah 10 – 15 menit pembuluh darah akan mengalami vasodilatasi yang dimediasi oleh serotonin, histamin, kinin, prostaglandin, leukotriene dan produk endotel. Hal ini memungkinkan fagosit memasuki daerah yang mengalami luka dan memakan sel-sel mati (jaringan yang mengalami nekrosis) (Suryadi dkk., 2014).

Luka yang menembus epidermis akan merusak pembuluh darah dan menyebabkan pendarahan. Kemudian terjadi proses homeostatis. Proses ini mengeluarkan trombosit (platelet). Platelet akan menutupi vaskuler yang terbuka (area luka) dan mengeluarkan substansi vasokontriksi yang mengakibatkan pembuluh darah kapiler vasokontriksi, selanjutnya terjadi pembentukan gumpalan fibrin untuk mencegah kehilangan darah. Pada fase

homestasis jumlah platelet akan meningkat. Setelah itu akan terjadi agregasi platelet dibawah pengaruh dari adenosine diphosphate (ADP). Pada pembuluh darah normal, terdapat produk endotil seperti prostacyclin untuk menghambat pembentukan bekuan darah. Ketika pembuluh darah pecah, proses pembekuan dimulai dari rangsangan kolagen terhadap platelet. Platelet menempel dengan platelet lainnya dimediasi oleh protein fibrinogen. Agregasi platelet bersama dengan eritrosit akan menutup kapiler untuk menghentikan pendarahan. Platelet mensekresi protein aktif yang berikatan dengan fibrin dan extracellular matrix (ECM), menciptakan kemotaksis yang memicu fase inflamasi dengan merekrut sel-sel imun inflamasi seperti neutrofil dan monosit ke luka. Neutrofil adalah sel imun berinti pertama yang menginfiltrasi luka, bertindak sebagai garis pertahanan pertama dengan mendekontaminasi luka. Neutrofil sebagai respon inflamasi awal mensekresikan beberapa sitokin proinflamasi. Monosit yang bermigrasi ke jaringan berdiferensiasi menjadi makrofag yang berperan dalam fagositosis jaringan mati (Leong and Phillips, 2012).

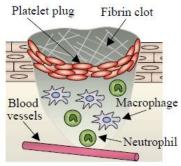
2.2.2 Inflamasi

Reaksi inflamasi adalah respon fisiologis normal tubuh dalam mengatasi luka. Inflamasi ditandai oleh rubor (kemerahan), tumor (pembengkakan), calor (hangat), dan dolor (nyeri). Tujuan dari reaksi inflamasi ini adalah untuk membunuh bakteri yang mengkontaminasi luka. Pada awal terjadinya luka terjadi vasokonstriksi lokal pada arteri dan kapiler dan kemudian akan mengalami vasodilatasi. Hal ini yang menyebabkan lokasi luka tampak merah dan hangat (Suryadi dkk., 2014).

Selama berlangsungnya respon inflamasi, asam arakhidonat sebagai mediator radang akan dilepaskan. Peran asam arakhidonat dalam respon inflamasi adalah pencetus terbentuknya prostaglandin dan leukotrien yang nantinya akan menyebabkan timbulnya tanda-tanda inflamasi. Metabolisme asam arakhidonat melalui dua jalur berbeda, yaitu jalur *cyclooxcygenase* (COX) menghasilkan prostaglandin, dan jalur *lipooxcygenase* (LOX) menghasilkan leukotrien. Enzim COX-2 terbentuk ketika terjadi radang, melepaskan prostaglandin yang menjadi mediator inflamasi (Khotimah, 2017)

Sel mast yang terdapat pada permukaan endotel mengeluarkan histamin dan serotonin yang menyebabkan vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas vaskuler. Hal ini mengakibatkan plasma keluar dari intravaskuler ke ekstravaskuler. Leukosit berpindah ke jaringan yang luka melalui proses aktif yaitu diapedesis. Proses ini dimulai dengan leukosit menempel pada sel endotel yang melapisi kapiler dimediasi oleh selectin. Kemudian leukosit semakin melekat akibat integrin yang terdapat pada permukaan leukosit dengan Intercellular Adhesion Moleculer (ICAM) pada sel endotel. Leukosit kemudian berpindah secara aktif dari sel endotel ke jaringan yang luka. Leukosit ini akan mencari dan menghancurkan debris sel dan benda asing di lokasi luka. Monosit matur akan berkembang menjadi makrofag yang akan melanjutkan proses debridemen seluler. Makrofag lalu secara aktif akan memproduksi growth factors yang penting dalam perekrutan fibroblas dan sel

endotel yang sangat penting pada proses penyembuhan luka selanjutnya (Suryadi dkk., 2014).



Gambar 2.1 Fase Inflamasi – terjadi pembentukan gumpalan fibrin dan platelet di lokasi luka, neutrofil dan makrofag bermigrasi ke luka yang berperan dalam penghancuran bakteri, pengangkatan material asing dan sel-sel debris (Rajan *and* Murray, 2008).

2.2.3 Proliferasi

Tahap proliferasi terjadi secara simultan dengan tahap migrasi dan proliferasi sel basal. Pada fase ini terjadi penurunan jumlah sel–sel inflamasi, tanda–tanda radang berkurang, munculnya sel fibroblas yang berproliferasi, pembentukan pembuluh darah baru, epitelisasi, dan kontraksi luka. Matriks fibrin yang dipenuhi platelet dan makrofag mensekresikan *growth factor* yang mengaktivasi fibroblas. Fibroblas bermigrasi ke daerah luka dan mulai berproliferasi hingga jumlahnya lebih dominan dibandingkan sel radang pada daerah tersebut. Fase ini terjadi pada hari ketiga sampai hari kelima (Lawrence, 2002).

Pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis) adalah proses yang dirangsang oleh kebutuhan energi yang tinggi untuk proliferasi sel. Pada fase ini, makrofag mensekresikan *growth factor* seperti *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) yang menstimulasi proses angiogenesis dengan menstimulasi sel endotel untuk membentuk neovaskuler. Selain itu angiogenesis juga diperlukan untuk mengatur vaskularisasi yang rusak dan

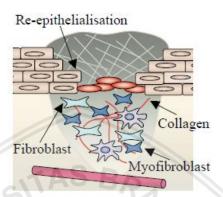
distimulasi kondisi laktat yang tinggi, kadar pH yang asam, dan penurunan tekanan oksigen di jaringan (Gurtner, 2007).

Angiogenesis memiliki faktor seperti *Fibroblast Growth Factor-1* (FGF-1) dan *Fibroblast Growth Factor-2* (FGF-2) ketika terjadi hipoksia jaringan. FGF-2 melepaskan aktivator plasminogen dan prokolagenase. Aktivator plasminogen akan mengubah plasminogen menjadi plasmin dan prokolagenase untuk mengaktifkan kolagenase, kemudian akan terjadi digesti konstituen membran dasar. Ekspresi kolagenase menghasilkan proses perbaikkan jaringan pada *extracellular matrix* (ECM) dan juga memiliki peran penting dalam menginisiasi migrasi keratinosit dalam proses penyembuhan luka (Purnama dkk., 2017).

Pada fase proliferasi terjadi pula epitelialisasi yaitu proses pembentukan kembali lapisan kulit yang rusak. Pada tepi luka, keratinosit akan berproliferasi setelah kontak dengan ECM dan kemudian bermigrasi dari membran basal ke permukaan yang baru terbentuk. Ketika bermigrasi, keratinosit akan menjadi pipih dan panjang dan juga membentuk tonjolan sitoplasma yang panjang. Pada ECM, mereka akan berikatan dengan kolagen tipe I dan bermigrasi menggunakan reseptor spesifik integrin. Kolagenase yang dikeluarkan keratinosit akan mendisosiasi sel dari matriks dermis. Keratinosit juga mensintesis dan mensekresi *matriks metalloproteinase* (MMP) ketika bermigrasi (Gurtner, 2007).

Kontraksi luka merupakan proses terakhir pada fase proliferasi. Pada fase ini terjadi penebalan jaringan di bagian luka, dimulai dari tepi luka hingga pusat luka dengan arah sentripedal. Kontraksi luka terjadi tanpa

bantuan myofibroblas, kemudian fibroblas akan berdiferensiasi menjadi myofibroblas dengan bantuan *growth factor*. Myofibroblas mirip dengan sel otot polos, memiliki aktin dan mampu berkontraksi. Proses ini menandai dimulainya maturasi atau *remodeling* (Pavletic, 2010).

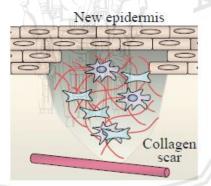


Gambar 2.2 Fase Proliferasi – mediator yang disekresikan oleh makrofag dan sel di sekitarnya memulai terjadinya proliferasi, keratinosit dan fibroblast bermigrasi ke lokasi luka; terjadi endapan dan kontraksi kolagen (Rajan *and* Murray, 2008).

2.2.4 Remodeling Jaringan

Fase remodeling jaringan adalah fase terlama dari proses penyembuhan luka. Proses ini dimulai sekitar hari ke-21 hingga satu tahun. Pada fase remodeling atau maturasi ini, respon inflamasi telah terhenti dan fibroplasia mulai mereda. Proses lisisnya kolagen dan pembentukan kolagen baru akan mulai menurun dan stabil. Sebagian molekul kolagen terdegradasi oleh enzim kolagenase yang didapatkan pada fibroblas, makrofag, dan netrofil pada fase remodeling, disamping itu juga terjadi kontraksi luka yang merupakan suatu proses kompleks dimana melibatkan berbagai jenis sel, matrik dan sitokin. Pada periode ini, myofibroblas mampu melakukan kontraksi, menunjukan adanya pemadatan dari jaringan ikat dan kontraksi dari luka (Rajan and Murray, 2008).

Remodeling dari kolagen dipengaruhi oleh keseimbangan antara sintesis dan katabolisme kolagen. Degradasi kolagen pada luka juga dipengaruhi oleh beberapa enzim proteolitik yaitu MMP yang dihasilkan oleh sel makrofag, epidermis, endothel dan fibroblas. Keseimbangan antara MMP dan inhibitor dari MMP akan menentukan perkembangan penyembuhan luka. Proses remodeling memungkinan kekuatan jaringan baru yang terbentuk bisa mendekati aslinya, pada tiga minggu pertama setelah cedera, kekuatan ini hanya berkisar 20% dari semula, dalam proses remodeling akan terjadi penggantian serabut kolagen dengan serabut yang lebih besar disertai oleh penguatan crosslinking dari masing-masing serabut yang membentuk jaringan yang lebih kuat. Kekuatan maksimal yang bisa dicapai oleh jaringan parut baru hanyalah 70% dari kulit yang normal (Demidova-Rice et al., 2012).



Gambar 2.3 Fase *Remodeling – remodeling* matriks oleh makrofag, fibroblas, sel endotel, dan sel epitel (Rajan *and* Murray, 2008).

2.3 Kulit

Kulit merupakan barier fisik yang dapat mempertahankan tubuh dari agen patogen. Apabila terdapat kerusakan kulit, maka kulit akan mempertahankan tubuh dengan proses imunologik yang cepat terhadap agen patogen tersebut dan mengeluarkan mikroorganisme tersebut dari epidermis dan dermis. Sistem imun berkembang dengan fungsi yang khusus dan bekerja pada kulit. Sel langerhans,

dendrosit kulit, sel endotel, keratinosit dan sel lainnya ikut berpartisipasi dalam *Skin Associated Lymphoid Tissue* (SALT) yang mempunyai sistem imun pada kulit. Ketika mikroorganisme menembus barier kulit akan merangsang respons imun. Kulit seperti halnya organ lain akan merusak mikroorganisme tersebut dan mengeliminasi antigen (Garna, 2001).

2.3.1 Struktur Kulit

Secara biologis, kulit terdiri dari tiga lapisan utama, yaitu lapisan epidermis (lapisan luar yang paling tipis), lapisan dermis (lapisan tengah) dan lapisan subkutan (lapisan paling dalam). Lapisan epidermis merupakan lapisan yang tebalnya relatif, terdiri dari stratum korneum dan mengandung demosom, sel melanosit dan lain-lain. Lapisan dermis merupakan jaringan metabolik aktif yang mengandung kolagen, elastin, sel syaraf, pembuluh darah dan jaringan limfatik. Lapisan subkutan merupakan lapisan yang ada di bawah dermis, terdiri dari jaringan ikat dan lemak (Garna, 2001).

Struktur kulit pada tikus terdiri dari epitelium eksternal (epidermis), lapisan tebal jaringan ikat (dermis), dan lapisan jaringan adiposa (hipodermis atau panniculus adiposa). Lapisan tipis otot lurik, yang dikenal sebagai panniculus carnosus, memisahkan kulit dari struktur lain. Pada mencit, melanin pada pigmen melanosit hadir di sel basal epidermis (Conti, 2004).

1. Lapisan Epidermis

Epidermis merupakan lapisan avaskular (tanpa pembuluh darah) dan lapisan terluar kulit yang terdiri dari epitel skuamosa berkeratin berlapis. Menurut Ziser (2005), epidermis memiliki empat jenis sel utama, yaitu keratinosit, melanosit, sel langerhans dan sel merkel. Keratinosit merupakan

sel dengan jumlah terbanyak yaitu sekitar 90% dari sel-sel yang ditemukan dalam lapisan ini. Melanosit menyusun sekitar 8% dari sel-sel epidermis dan bertanggung jawab untuk memproduksi pigmen melanin. Sel langerhans dan sel merkel juga ditemukan dalam epidermis.

Lapisan epidermis terbagi atas dua penyusun utama yaitu sel keratinosit dan non keratinosit, yang melekat pada membran dasar oleh hemidesmosom. Keratinosit membelah dan berdiferensiasi, kemudian berpindah dari lapisan yang lebih dalam menuju ke permukaan. Sel lainnya yang terdapat dalam lapisan ini adalah melanosit yang berfungsi menghasilkan pigmen melanin. Sel-sel ini ditandai dengan prosesus dendritik yang terbentang di antara keratinosit. Melanin terakumulasi di melanosom yang kemudian ditransfer ke keratinosit di dekatnya, dimana melanin tersebut menetap sebagai butiran melanin. Pigmen melanin menyediakan perlindungan terhadap radiasi *ultraviolet* (UV) (Kumar *and* Clark, 2016).

2. Lapisan Dermis

Dermis merupakan lapisan tengah, di bawah lapisan epidermis dan di atas lapisan subkutan, yang tersusun atas berbagai jaringan ikat yang berfungsi untuk mengakomodasi rangsangan oleh jaringan saraf dan pembuluh darah, derivat epidermis, fibroblas, makrofag, dan juga sel mast. Berbagai sel lain, termasuk limfosit, sel plasma dan leukosit memasuki lapisan ini dalam menanggapi berbagai rangsangan. Dermis berisi pembuluh getah bening, ujung saraf, kelenjar dan folikel rambut. Lapisan dermis tersusun dari fibroblas, yang menghasilkan kolagen, elastin dan proteoglikan. Dermis terdiri dari dua lapisan antar lain lapisan retikuler dan papiler. Lapisan

retikuler terdiri dari jaringan ikat yang kuat yang mengandung kolagen dan serat elastis, sedangkan lapisan papiler berisi saraf dan pembuluh kapiler yang memelihara epidermis. Dermis merupakan srtuktur penyusun kulit yang menyediakan kelenturan, elastisitas dan kekuatan regang kulit. Dermis juga bertanggung jawab untuk menyediakan nutrisi dan dukungan fisik untuk epidermis (Mescher, 2016).

3. Lapisan Subkutan

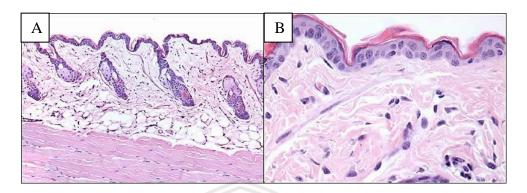
Lapisan subkutan terdiri dari jaringan ikat longgar yang mengikat kulit ke organ di bawahnya. Menurut Mescher (2016), lapisan ini juga disebut *hypodermis* atau *fasia superfisial*, mengandung adiposit yang bervariasi jumlah di berbagai daerah sesuai dengan status gizi. Lapisan subkutan memiliki ketebalan yang bervariasi, sesuai dengan lokasinya pada tubuh. Selain itu, pasokan vaskular pada lapisan subkutan dapat meningkatkan serapan insulin atau obat yang disuntikkan ke dalam jaringan.

Lapisan subkutan menyediakan bantalan lemak bagi tubuh dan juga berfungsi sebagai tempat penyimpanan energi. Konversi hormon seperti pengubahan androstenedion menjadi estron oleh enzim aromatase juga berlangsung dalam lapisan ini. Liposit mampu memproduksi leptin, yang merupakan hormon yang berperan dalam pengaturan berat badan melalui jalur hipotalamus (Kanitakis, 2012).

2.3.2 Histopatologi Kulit

Lapisan kulit tikus terdiri dari epitelium eksternal (epidermis), lapisan tebal jaringan ikat (dermis), dan lapisan jaringan adiposa (hipodermis atau panniculus adiposa). Lapisan tipis otot lurik, yang dikenal sebagai panniculus

carnosus, memisahkan kulit dari struktur lain (Conti, 2004). Berikut **Gambar 2.4** dibawah ini adalah gambaran histologis kulit normal tikus.



Gambar 2.4 Gambaran histologis kulit normal tikus dengan pewarnaan HE (*Hematoxilin Eosin*) perbesaran 100x (A) dan 400x (B) (Conti, 2004).

Pada perbesaran 100 kali menampilkan lapisan epidermis, folikel rambut (*piliary canals*), dermis (dibentuk oleh jaringan ikat padat), otot pili arrector, dan kelenjar sebaceous. Pada perbesaran 400 kali menampilkan lapisan epidermis (stratum corneum, granulosum, spinosum, dan basal), dan lapisan dermal.

- a. Stratum corneum, merupakan lapisan paling atas (superfisial), memiliki banyak lapisan sel-sel mati, pipih, tidak berinti, dan sitoplasma yang telah tergantikan oleh keratin.
- Stratum granulosum, merupakan lapisan sel epitel skuamus yang banyak mengandung granula basofilik.
- c. Stratum spinosum, merupakan lapisan yang terdiri dari lapisan sel berbentuk poligonal dengan inti lonjong. Pada lapisan ini terdapat sel langerhans yang berfungsi mengikat, memproses, dan menyajikan antigen ke limfosit T, dan terlibat dalam respon imun.

d. Stratum basal, merupakan lapisan epidermis yang paling dalam terdiri atas satu lapisan kuboid yang melekat dengan membran lapisan dermis di bawahnya (Mescher, 2016).

2.4 Jengkol

Tanaman jengkol atau buah jengkol sudah lama dikenal masyarakat sebagai bahan pangan. Jengkol merupakan tumbuhan khas Asia Tenggara dan biasa ditemukan dengan mudah di seluruh wilayah Indonesia. Kulit keras tanaman jengkol sampai saat ini masih merupakan limbah yang tidak termanfaatkan dan tidak mempunyai nilai ekonomi. Kulit jengkol mengandung senyawa-senyawa aktif seperti alkaloid, asam fenolat, saponin, flavonoid dan tanin (Hutapea, 1994).

Tumbuhan jengkol merupakan tumbuhan berbiji yang berakar tunggang. Ciriciri yang nampak dari tumbuhan jengkol adalah buahnya berwarna coklat, batang tegak, bulat, berkayu dan memiliki banyak percabangan. Daun jengkol berbentuk lonjong, panjang berkisar 10-20 cm, lebar berkisar 5-15 cm, tepi rata, ujung runcing, pangkal membulat, pertulangan menyirip, dan berwarna hijau tua. Buah jengkol berbentuk bulat pipih dan berwarna coklat kehitaman dengan kulit kehitaman yang relatif tebal (Hutapea, 1994).



Gambar 2.5 Kulit jengkol (Archindendron pauciflorum) (dokumentasi pribadi).

BRAWIJAY/

2.4.1 Klasifikasi Jengkol

Menurut Pandey (2003), klasifikasi tumbuhan jengkol adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Filum : Magnoliophyta

Ordo : Fabales

Famili : Fabaceae

Subfamili : Mimosoideae

Genus : Archindendron

Spesies : Archindendron pauciflorum

2.4.2 Kandungan dan Manfaat

Banyak kandungan kimia yang terkandung pada tumbuhan jengkol, terutama pada bagian kulitnya. Menurut Hutapea (1994), kulit jengkol mengandung banyak senyawa aktif antara lain alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, dan glikosida. Senyawa-senyawa tersebut diketahui dapat berperan baik dalam proses penyembuhan luka, antara lain melalui mekanisme antimikroba, meningkatkan neovaskularisasi, meningkatkan kepadatan kolagen, sebagai astringensia dan antioksidan (Malini dkk., 2017). Menurut Harisaranraj (2009), senyawa-senyawa aktif tersebut yang memiliki fungsi dalam penyembuhan luka antara lain sebagai berikut:

a. Flavonoid, merupakan senyawa sebagai antioksidan yang memberikan aktivitas anti-inflamasi dalam proses kesembuhan luka.

- Saponin, merupakan senyawa yang dapat menghentikan pendarahan dalam mengobati luka dan mengkoagulasi pembuluh darah.
- c. Tanin, memberikan manfaat sebagai astringen yang mampu mempercepat proses kesembuhan luka.

Menurut Nijveltd dkk. (2001), mekanisme aktivitas anti-inflamasi dari senyawa flavonoid adalah menghambat kerja enzim *cyclooxygenase-2* (COX-2) dan *lipoxygenase* (LOX), dengan demikian akan mengurangi produksi prostaglandin oleh asam arakhidonat sehingga mengurangi rasa nyeri. Selain itu juga terjadi penurunan agregasi sel leukosit polimorfonuklear (PMN), terutama sel neutrofil, dan menurunkan efek inflamasi dengan menghambat aktivasi sitokin pada luka.

2.5 Interleukin 6 (IL-6)

Sitokin *Interleukin*-6 (IL-6), glikoprotein 21 kD, adalah salah satu sitokin proinflamasi yang bersifat pleiotropik yang dihasilkan oleh berbagai sel, terutama makrofag, fibroblas, sel mononuklear, sel endotel, dan keratinosit. IL-6 memiliki sifat proinflamasi dan antiinflamasi. Meskipun IL-6 merupakan penginduksi kuat dari respon protein fase akut, IL-6 juga memiliki sifat anti-inflamasi. IL-6 memiliki aktivitas regeneratif dan anti-inflamasi yang disekresikan sel T dan makrofag untuk merangsang respon kekebalan tubuh selama infeksi. Peranan IL-6 dalam aktivitas biologis ialah pengaturan respon imun, mengontrol induksi respon fase akut, dan juga merupakan mediator respon terhadap inflamasi pada luka (Masfufatun, 2017). Menurut Shaikh (2011), inflamasi merupakan respon terhadap perlukaan, dimana

Selain dapat mengontrol induksi respon fase akut, IL-6 bertindak sebagai faktor pertumbuhan sel B matang dan menginduksi pematangan akhir mereka menjadi sel plasma yang memproduksi antibodi. Beberapa efek regulasi dari IL-6 melibatkan penghambatan produksi TNF, dimana memberikan *feedback* negatif dalam membatasi respon inflamasi akut. IL-6 telah lama dianggap sebagai sitokin proinflamasi yang diinduksi oleh lipopolisakarida (LPS) bersama dengan TNF-a dan IL-1. IL-6 sering digunakan sebagai penanda untuk aktivasi sitokin proinflamasi sistemik (Shaikh, 2011).

Reseptor IL-6 adalah kompleks protein yang terdiri dari IL-6 receptor subunit (IL-6R) dan IL-6 signal transducer glycoprotein 130 (gp130). Selanjutnya, STAT3 adalah salah satu komponen kunci untuk pensinyalan reseptor IL-6 di mana IL-6 dapat menstimulasi proliferasi keratinosit. IL-6 menginduksi produksi protein C-reaktif, yang dapat menginduksi fenotipe M1 inflamasi dalam makrofag (Macleod and Mansbridge, 2015). Menurut Thalib dkk. (2018), IL-6 dibutuhkan dalam proses proliferasi sebagai reseptor yang merangsang kreatinosit proliferasi, sehingga keberadaan IL-6 masih ada pada saat peralihan dari fase inflamasi menuju ke fase proliferasi. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Lin et al. (2003), IL-6 memiliki peran penting dalam fase proliferasi angiogenesis dan remodeling dalam proses penyembuhan luka dengan mengatur infiltrasi leukosit dan deposisi kolagen.

BRAWIJAY/

2.6 Hewan Coba

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) menurut Akbar (2010) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia

Subordo : Odontoceti

Famili : Muridae

Sub-famili : Murinae

Genus : Rattus

Spesies : Rattus norvegicus



Gambar 2.6 Tikus putih (Rattus norvegicus) (Swari, 2017).

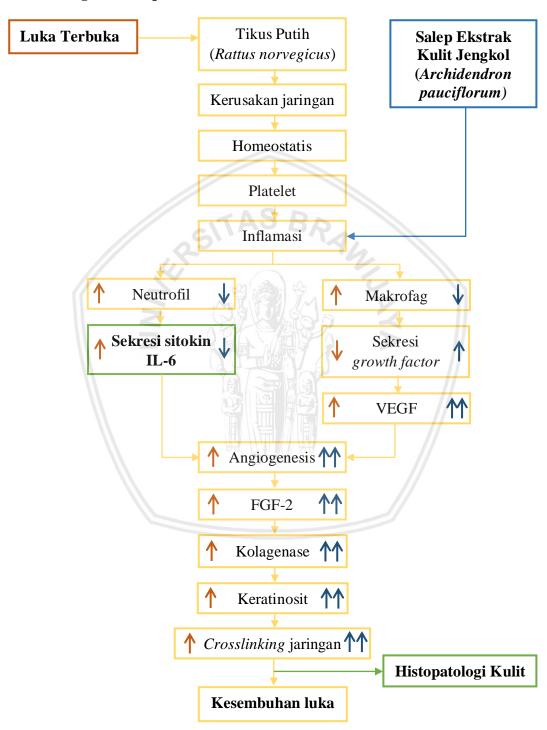
Tikus putih digunakan sebagai hewan coba karena memiliki kemiripan fungsi dan bentuk organ serta proses biokimia dan biofisik dengan manusia sehingga hasil penelitian dapat diaplikasikan ke manusia. Penggunaan tikus putih juga dikarenakan memiliki beberapa keunggulan, antara lain: penanganan dan pemeliharaan yang mudah karena tubuhnya kecil, kemampuan reproduksi yang tinggi karena tidak memiliki musim kawin, masa bunting singkat, dan cocok untuk

berbagai macam penelitian. Tikus putih yang digunakan sebagai hewan percobaan pada umumnya adalah yang berjenis kelamin jantan karena memiliki segi hormonal yang lebih stabil dan pemeliharaan yang lebih mudah (Sirois, 2005).

Beberapa penelitian yang menggunakan tikus putih sebagai model luka insisi adalah penelitian Sabirin, dkk. (2013), yaitu penggunaan salep ekstrak etanol daun mengkudu membuktikan dapat mempercepat proses epitelisasi pada luka insisi tikus. Penelitian ini menunjukkan lama kesembuhan pada luka insisi tersebut adalah 14 hari. Beberapa sel pada tikus kelompok perlakuan sudah menunjukkan maturasi menjadi fibrosit dan sel epitel mulai menutupi sebagian permukaan luka. Deposisi kolagen terlihat serabutnya lebih padat dan lebih banyak ditemukannya kolagen matur. Selain itu, pada penelitian Rupina dkk. (2016), membuktikan bahwa dengan pemberian salep ektrak etanol 70% daun karamunting pada tikus putih model luka insisi didapatkan hasil yaitu meningkatkan epitelisasi ditandai dengan ketebalan epitel dan lebar celah epitel yang menyempit atau menipis pada hari ke-10.

BAB 3 KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan:

↑↓ : efek luka insisi	: variabel terikat
↑↓ : efek terapi	: variabel bebas
: menstimulus	: induksi
: terapi	: tahapan

Luka adalah kerusakan pada kesatuan atau komponen jaringan yang rusak atau hilang. Luka menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan baik jaringan kulit hingga jaringan vaskular. Kerusakan jaringan vaskular (pendarahan) menyebabkan bakteri maupun antigen keluar dari daerah yang mengalami luka dan memicu fase homeostatis untuk menghentikan pendarahan dengan menghasilkan trombosit (platelet). Platelet akan menutupi vaskuler yang terbuka (area luka) dan mengeluarkan substansi vasokontriksi yang mengakibatkan pembuluh darah kapiler vasokontriksi, selanjutnya terjadi pembentukan gumpalan fibrin untuk mencegah kehilangan darah. Pada fase homestasis jumlah platelet akan meningkat. Setelah itu akan terjadi agregasi platelet dibawah pengaruh dari adenosine diphosphate (ADP). Agregasi platelet akan menutup kapiler untuk menghentikan pendarahan dan platelet juga mensekresikan faktor yang dapat menstimulasi produksi trombin yang mengubah fibrinogen menjadi fibrin. Platelet mensekresi protein aktif yang berikatan dengan fibrin dan extracellular matrix (ECM), menciptakan kemotaksis yang memicu fase inflamasi dengan merekrut sel-sel imun inflamasi seperti neutrofil dan monosit ke luka. Neutrofil sebagai respon inflamasi awal mensekresikan beberapa sitokin pro-inflamasi salah satunya IL-6. Monosit yang bermigrasi ke jaringan berdiferensiasi menjadi makrofag yang berperan dalam fagositosis jaringan mati. Pada akhir fase inflamasi, makrofag akan menghasilkan

BRAWIJAY

growth factor yang akan menstimulasi terjadinya proliferasi dengan menarik fibroblas ke area luka dan membentuk jaringan yang baru. Makrofag juga mengeluarkan mediator peradangan yang dapat mengkoordinasikan berbagai tindakan sel, seperti proliferasi fibroblas dan angiogenesis, selama penutupan luka.

Pemberian terapi yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi pemberian salep ekstrak kulit jengkol pada luka insisi yang diberikan pada tikus coba. Kandungan yang ada pada kulit jengkol antara lain adalah flavonoid sebagai anti-inflamasi, saponin untuk menghentikan pendarahan, tanin sebagai astringen yang mampu mempercepat proses kesembuhan luka. Flavonoid yang terkandung pada salep ekstrak kulit jengkol juga dapat menghambat kerja enzim *cyclooxygenase-2* (COX-2) dan *lipoxygenase* (LOX). Ketika enzim tersebut dihambat, maka yang terjadi adalah penurunan efek inflamasi dengan menghambat aktivasi sitokin, seperti IL-6, pada luka. Hal ini diharapkan menurunkan reaksi inflamasi dan fase penyembuhan luka akan bergerak menuju tahap proliferasi.

Pada fase proliferasi, terjadi penurunan jumlah sel-sel inflamasi, munculnya sel fibroblas yang berproliferasi, pembentukan pembuluh darah baru, epitelisasi, dan kontraksi luka. Matriks fibrin yang dipenuhi platelet dan makrofag mensekresikan *growth factor* yang mengaktivasi fibroblas. Fibroblas bermigrasi ke daerah luka dan mulai berproliferasi hingga jumlahnya lebih dominan dibandingkan sel radang pada daerah tersebut. Selain itu, makrofag juga mensekresikan *growth factor* seperti *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) yang menstimulasi proses angiogenesis atau perbaikan pembuluh darah dengan menstimulasi sel endotel untuk membentuk neovaskuler. Sitokin IL-6 memiliki peran penting dalam angiogenesis dan remodeling dalam proses penyembuhan luka dengan mengatur

3.2 Hipotesis Penelitian

membentuk jaringan yang lebih kuat.

Berdasarkan kerangka konseptual yang telah ada, maka hipotesis penelitian adalah sebagai berikut :

- 1. Pemberian salep ekstrak kulit jengkol (*Archidendron pauciflorum*) dapat mempengaruhi ekspresi IL-6 dalam proses kesembuhan luka terbuka pada tikus (*Rattus novergicus*).
- 2. Pemberian salep ekstrak kulit jengkol (*Archidendron pauciflorum*) dapat mempengaruhi gambaran histopatologi dalam proses kesembuhan luka terbuka pada tikus (*Rattus novergicus*).

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

- a. Rencana penelitian ini dilakukan selama 2 bulan, terhitung dari Februari 2018 hingga April 2018.
- Pembuatan ekstrak kulit jengkol dilakukan di Laboratorium Materia Medica,
 Batu.
- c. Pembuatan salep ekstrak kulit jengkol dilakukan di Laboratorium Farmakologi Veteriner, Fakutas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya.
- d. Pemeliharaan hewan coba beserta pemberian perlakuan dilakukan di Laboratorium Fisiologi Hewan, Fakultas SAINTEK, Universitas Islam Negeri, Malang.
- e. Pembuatan preparat histopatologi kulit dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Kesima, Malang.
- f. Perlakuan metode IHK, pengamatan ekspresi IL-6, dan pengamatan gambaran histopatologi kulit dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya.

4.2 Alat dan Bahan Penelitian

4.2.1 Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain kandang tikus hewan coba, seperangkat *dissecting set*, gelas ukur, mikroskop cahaya, pot organ, kasa steril, *underpad*, *plester*, wadah kaca tertutup dan toples.

BRAWIJAY

4.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan *strain* Wistar dengan BB 150 – 250 g yang berusia 8-12 minggu, pakan tikus, air minum tikus, kulit jengkol, formula pembuatan salep, NaCl fisiologis, ketamin, *xylazine*, alkohol dengan konsentrasi bertingkat (70%, 80%, 90%, 100%), minyak emersi, pewarna HE (*Hematoxyline Eosin*), formalin 10%, aquades, larutan PBS (*Phospat Buffered Saline*) pH 7,4, SA-HRP (*Strep Avidin Horse Radish Peroxidase*), DAB (*Diamino Benzidine*), *paraffin*, eter 70%, dan larutan *xylol*.

4.3 Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah tikus putih jantan *strain* Wistar yang memiliki berat badan berkisar 150 – 250 g dengan usia 8 – 12 minggu. Aklimatisasi dilakukan selama tujuh hari agar tikus beradaptasi dengan kondisi laboratorium. Jumlah sampel dihitung menggunakan rumus berikut (Kusriningrum, 2008):

t (n-1)	≥ 15	Keterangan:
5 (n-1)	≥ 15	t = jumlah perlakuan
5n-5	≥ 15	n = jumlah ulangan yang diperlukan
5n	≥ 20	
n	≥ 4	

Berdasarkan rumus di atas, maka untuk 5 macam kelompok perlakuan dperlukan ulangan minimal 4 kali dalam setiap kelompok sehingga jumlah hewan coba yang diperlukan sebanyak 20 ekor (4 ekor tikus dalam satu kelompok).

4.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental*, *post test control only design* dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sampel hewan coba yang berjumlah 20 ekor, dibagi dalam 5 perlakuan yang berbeda dan masingmasing menggunakan pengulangan sebanyak 4 kali.

Kelompok hewan coba pada penelitian ini adalah:

- Kelompok KN (Kontrol Negatif) adalah kelompok hewan coba yang tidak diberi luka terbuka dan tidak diterapi
- 2. Kelompok KP (Kontrol Positif) adalah kelompok hewan coba yang diberi luka terbuka dan tidak diterapi
- Kelompok P1 (Perlakuan 1) adalah kelompok hewan coba yang diberi luka terbuka dan diterapi salep ekstrak kulit jengkol 5%
- 4. Kelompok P2 (Perlakuan 2) adalah kelompok hewan coba yang diberi luka terbuka dan diterapi salep ekstrak kulit jengkol 10%
- Kelompok P3 (Perlakuan 3) adalah kelompok hewan coba yang diberi luka terbuka dan diterapi salep ekstrak kulit jengkol 15%

4.5 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

- a. Variabel bebas: Terapi salep ekstrak kulit jengkol (Achidendron pauciflorum)
- b. Variabel terikat: Ekspresi IL-6 dan Gambaran Histopatologi Kulit
- c. Variabel kontrol:

BRAWIJAYA

- 1. Homogenitas tikus (meliputi *strain*, jenis kelamin, BB, usia, suhu pemeliharaan, jenis pakan dan kandang)
- 2. Perlakuan luka terbuka (meliputi lokasi insisi dan alat yang dipakai)
- 3. Penggantian kasa steril pada lokasi luka
- 4. Intesitas pemberian terapi

4.6 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian pada penelitian ini antara lain adalah sebagai berikut:

- a. Persiapan hewan coba
- b. Pembuatan ekstraksi kulit jengkol
- c. Pembuatan salep ekstrak kulit jengkol
- d. Pemberian luka terbuka pada hewan coba
- e. Pemberian terapi salep ekstrak kulit jengkol
- f. Pengambilan jaringan kulit dan pembuatan preparat kulit tikus
- g. Pengamatan gambaran histopatologi kulit tikus
- h. Pengamatan ekspresi IL-6 dengan metode imunohistokimia

4.7 Prosedur Kerja

4.7.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih jantan *strain* Wistar dengan BB berkisar 150 – 250 g dan usia 8 – 12 minggu. Hewan coba tersebut dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok berisikan 4 ekor hewan coba. Hewan coba dirawat di Laboratorium Fisiologi Hewan, Fakultas

SAINTEK, Universitas Islam Negeri, Malang. Hewan coba tersebut dipelihara dalam kandang balok plastik berukuran 17,5 x 23,75 x 17,5 cm yang diberi tutup kawat. Kandang tikus ditempatkan pada tempat yang bebas dari polutan dan suara ribut (Tahani, 2013). Langkah kerja persiapan hewan coba juga dijelaskan pada **Lampiran 2.a**.

4.7.2 Pembuatan Ekstrasi Kulit Jengkol

Pembuatan ekstraksi dilakukan di Laboratorium Materia Medica, Batu. Kulit jengkol tersebut dipisahkan dari dagingnya dan dikeringkan pada suhu 40°C selama 48 jam agar tidak merusak flavonoid (Hernani, 2009). Setelah kulit jengkol mengering, maka selanjutnya dilakukan penggilingan agar menjadi lebih halus. Ekstraksi kulit jengkol dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Perbandingan etanol dan serbuk jengkol tersebut adalah 2:1. Maserat yang dihasilkan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40 – 50 °C sampai diperoleh ekstrak etanol dalam bentuk pasta (Syafnir dkk., 2014).

4.7.3 Pembuatan Salep Ekstrak Kulit Jengkol

Pembuatan salep ekstrak kulit jengkol dilakukan di Laboratorium Farmakologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya. Ekstrak kulit jengkol diproses dalam bentuk sediaan salep agar bahan aktif pada ekstrak bertahan lama di atas permukaan kulit dan berpenetrasi secara optimal ke dalam kulit (Yanhendri dan Yenny, 2012). Ekstrak kulit jengkol yang telah didapat sebelumnya dihomogenisasi menggunakan mortar dengan basis salep vaselin album (Malini dkk., 2017). Vaselin album dipilih karena

memiliki dasar hidrokarbon yang mempunyai waktu kontak dan absorbsi tinggi dibanding basis salep yang lain (Naibaho *et al.*, 2013). Salep ekstrak kulit jengkol tersebut dibuat pada konsentrasi 5%, 10% dan 15% (Malini dkk., 2014).

Salep ekstrak kulit jengkol dibuat dengan cara menghomogenkan ekstrak kulit jengkol dengan basis salep. Basis salep yang digunakan adalah kombinasi antara PGA (*Pulvis Gummi Arabicum*) dan vaselin album dengan perbandingan 1:4. Komposisi salep ektrak kulit jengkol yang digunakan terlampir dalam **Lampiran 3**. Semua bahan meliputi ekstrak kulit jengkol dan basis salep tersebut kemudian diletakkan pada mortar dan dihomogenkan menggunakan alu. Setelah itu, salep diletakkan pada wadah tertutup dan diberi label. Salep tersebut dipergunakan untuk perlakuan kelompok tikus P1, P2 dan P3. Langkah kerja pembuatan salep juga dijelaskan pada **Lampiran 2.b**.

4.7.4 Pembuatan Luka Terbuka pada Hewan Coba

Tikus yang digunakan sebagai hewan coba diadaptasikan pada kondisi laboratorium selama 7 hari. Setelah dilakukan aklimatisasi selama 7 hari, tikus diberi perlakuan luka terbuka dengan cara menginsisi kulit dimulai pada hari ke-1 pada kelompok tikus KP, P1, P2, dan P3. Tikus terlebih dahulu diinjeksi anasthesi dengan kombinasi *ketamine* (dosis 40 mg/kgBB) dan *xylazine* (dosis 5 mg/kgBB) secara IM. Perhitungan dosis anasthesi yang diberikan juga dijelaskan pada **Lampiran 4.** Kemudian lokasi sekitar insisi dibersihkan dari rambut hingga bersih, dan dioles dengan kapas alkohol 70% untuk sterilisasi. Insisi dibuat sepanjang 3 cm dan kedalaman hingga mencapai lapisan subkutan

pada daerah dorsal (dengan titik orientasi regio *vertebrae*, *musculus trapezius* pars thorachalis dan *musculus latissimus dorsi*).

4.7.5 Pemberian Terapi Salep Ekstrak Kulit Jengkol

Kelompok tikus yang diinsisi diberi terapi salep ekstrak kulit jengkol secara topikal, yaitu dengan cara mengoleskan tipis pada lokasi luka, dua kali sehari. Konsentrasi salep ekstrak kulit jengkol yang diberikan adalah 5% pada kelompok P1, 10% pada kelompok P2, dan 15% pada kelompok P3. Kelompok KN dan KP tidak diberi terapi salep. Setelah dioleskan salep, lokasi luka segera ditutup dengan kasa steril agar tidak terkontaminasi. Lama terapi yang diberikan adalah 10 hari, yaitu pada hari ke-1 hingga hari ke-10. Langkah kerja pemberian salep juga dijelaskan pada **Lampiran 2.d**.

4.7.6 Pengambilan Jaringan Kulit dan Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit Tikus

Euthanasia dan pengambilan jaringan kulit tikus dilakukan 10 hari setelah insisi atau hari ke-11, dan merupakan modifikasi dari penelitian Malini dkk. (2017). Euthanasia tikus dilakukan dengan cara *dislokasio os occipital*, kemudian mengeksisi bagian luka yang paling luar dan melibatkan sedikit jaringan kulit normal, sekitar 0,5 cm dari tepi luka. Menurut Ramdani dkk. (2014), eksisi tersebut segera dimasukkan pada larutan formalin 10% sebelum dilakukan pembuatan preparat histologi.

Pembuatan preparat histopatologi kulit diawali dengan fiksasi jaringan, dimana eksisi biopsi kulit direndam pada formalin 10% selama kurang lebih 18 – 24 jam. Setelah itu, jaringan segera dimasukkan pada akuades selama 1

jam agar bersih dari larutan fiksasi. Tahap selanjutnya adalah tahap dehidrasi, di mana eksisi biopsi dimasukkan pada larutan alkohol bertingkat 70% (30 bagian akuades + 70 bagian alkohol absolut), 80% (20 bagian akuades + 80 bagian alkohol absolut), 90% (10 bagian akuades + 90 bagian alkohol absolut) dan 100%. Tahapan ini berfungsi agar memudahkan *paraffin* cair masuk dan mengisi ruang yang ada pada sel. Jaringan yang sudah lebih jernih tersebut dimasukkan dalam alkohol-*xylol* selama 1 jam, dan *xylol* murni selama 2 x 2 jam. Potongan jaringan tersebut bisa dimasukkan pada *paraffin* cair selama 2 x 2 jam.

Potongan jaringan yang telah dimasukkan pada *paraffin* cair ditunggu hingga memadat. Jaringan dalam *paraffin* tersebut dipotong dengan ketebalan 4 mikron dengan menggunakan mikrotom. Potongan jaringan tersebut bisa diletakkan pada *object glass* yang telah dilapisi *polylisine* sebagai perekat. Jaringan yang telah ada pada *object glass* tersebut dipanaskan pada inkubator bersuhu 56 - 58°C agar *paraffin* di dalamnya dapat mencair kembali.

Pewarnaan dilakukan dengan cara deparaffinasi dengan *xylol*, dilanjutkan rehidrasi dengan alkohol turun bertingkat 95%, 90%, 80% dan 70% masing-masing selama 5 menit. Kemudian jaringan tersebut dicuci dengan air mengalir selama 15 menit dan akuades selama 5 menit. Jaringan kemudian diwarnai dengan pewarna HE selama 10 menit, dicuci dengan air mengalir selama 30 menit dan akuades selama 5 menit. Jaringan yang terwarnai tersebut kemudian diberi perlakuan dehidrasi kembali dengan alkohol bertingkat 70%, 80%, 90% dan 95% masing-masing selama 5 menit. Lalu, dilanjutkan dengan

tahap *clearing* dengan larutan xylol I, II, dan III selama 3 menit. Tahap terakhir dari pembuatan preparat histologi adalah dilakukan *mounting* dengan larutan Entellan serta ditutup *coverglass*. Langkah kerja pembuatan preparat histologi kulit dengan pewarnaan HE juga dijelaskan pada **Lampiran 5**. Seluruh rangkaian pembuatan preparat histopatologi ini dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Kesima, Malang.

4.7.7 Pengamatan Gambaran Histopatologi Kulit Tikus

Pengamatan hasil pembuatan preparat organ kulit tikus yang sudah diwarnai dengan pewarnaan HE dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100 kali pada satu lapang pandang. Kemudian diperjelas pada bagian lapisan epidermis dengan perbesaran 400x. Pada gambaran histopatologi kulit yang diamati adalah adanya penutupan luka dilihat dari reepitelisasi epidermis dan adanya kerusakan jaringan pada daerah luka. Pengamatan reepitelisasi kulit dilakukan di area luka yang diberi luka terbuka yang kemudian diinterpretasikan secara deskriptif dengan bantuan software Master OlyVia.

4.7.8 Pengamatan Ekspresi IL-6 dengan Imunohistokimia (IHK)

Tahap awal pengamatan ekspresi *Interleukin 6* (IL-6) dengan metode imunohistokimia adalah tahap deparafinasi, yaitu preparat direndam dalam larutan *xylol* I, *xylol* II, alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 95%) selama 1x5 menit dan dimasukkan ke dalam aquaes selama 1x5 menit. Kemudian preparat dicuci dengan menggunakan PBS pH 7,4 selama 3x5 menit. Tahapan selanjutnya yaitu preparat ditetesi dengan 3% H₂O₂ (Hidrogen Peroksidae)

Tahap selanjutnya adalah preparat diinkubasi dengan antibodi primer Rat Anti Interleukin-6 dengan suhu 4°C selama 24 jam dan dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 3x5 menit. Kemudian diinkubasi dengan antibodi sekunder berlabel biotin (Rabbit Anti-Rat IgG biotin labeled) selama 1 jam dengan suhu ruang dan dicuci dengan PBS pH 7,4 selama 3x5 menit. Selanjutnya preparat ditetesi dengan Strep Avidin Horse Radish Peroxidase (SA-HRP) selama 40 menit dengan suhu ruang dan dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 3x5 menit. Kemudian preparat ditetesi dengan Diamano Benzidine (DAB) selama 10 menit dengan suhu ruang dan dicuci dengan PBS pH 7,4 selama 3x5 menit dan dikeringkan. Tahapan terakhir adalah melakukan mounting dengan menggunakan larutan entellan dan ditutup dengan coverglass. Langkah kerja pembuatan preparat ekspresi IL-6 dengan metode IHK juga dijelaskan pada Lampiran 6.

Hasil akhir dari pembuatan preparat imunohistokimia diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Pengamatan ekspresi IL-6 dalam sel inti marofag/sel radang akan tampak berwarna coklat gelap yang menunjukkan adanya reaksi inflamasi. Pengukuran presentase ekspresi IL-6 dilakukan dengan mengamati 5 bidang pandang pengamatan. Perhitungan secara kuantitatif terhadap IL-6 dilakukan dengan bantuan software Immunoratio.

BRAWIJAYA

BRAWIJAYA

4.8 Analisis Data

Data hasil pengamatan gambaran histopatologi kulit akan dianalisis secara deskriptif dan data hasil ekspresi IL-6 akan dianalisis secara kuantitatif. Analisa data kuantitatif diolah secara statistik menggunakan *SPSS for Windows 22* untuk uji *One Way ANOVA*, dilanjutkan dengan uji *Tukey* dengan *significance level* = 0,05 (α = 5%).

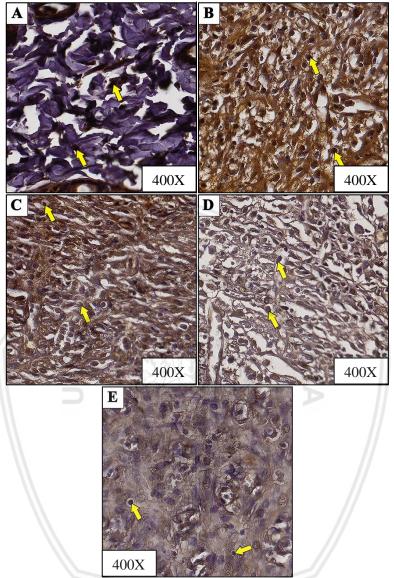


BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Pemberian Salep Ekstrak Kulit Jengkol (Archidendron pauciflorum) Terhadap Ekspresi IL-6 dalam Proses Kesembuhan Luka Terbuka Tikus

Interleukin-6 (IL-6) merupakan suatu sitokin yang terlibat dalam inisiasi serta pemeliharaan respon inflamasi dan imunologis yang sebagian besar dihasilkan oleh makrofag. Peranan IL-6 dalam aktivitas biologis ialah pengaturan respon imun, mengontrol induksi respon fase akut, dan juga merupakan mediator respon terhadap inflamasi pada luka. IL-6 sering digunakan sebagai penanda untuk aktivasi sistemik dari sitokin pro-inflamasi. IL-6 mempunyai fungsi dimana pada keadaan inflamasi produksinya akan meningkat sebagai sitokin pro-inflamasi (Karnen dan Iris, 2010).

Pengamatan ekspresi IL-6 dilakukan pada kelompok tikus sehat (Kontrol Negatif), kelompok sakit tanpa terapi (Kelompok Positif), kelompok tikus yang diterapi salep ekstrak kulit jengkol 5% (Perlakuan 1), kelompok tikus yang diterapi salep ekstrak kulit jengkol 10% (Perlakuan 2), dan kelompok tikus yang diterapi salep ekstrak kulit jengkol 15% (Perlakuan 3) (Gambar 5.1).



Gambar 5.1 Ekspresi IL-6 pada semua kelompok kulit tikus pasca terapi hari ke-10 dengan perbesaran 400X. Ekpresi IL-6 terdapat pada inti sel makrofag (←).
Keterangan A. Kelompok Kontrol Negatif; B. Kelompok Kontrol Positif; C. Kelompok Perlakuan Terapi 5%; D. Kelompok Perlakuan Terapi 10%; E. Kelompok Perlakuan Terapi 15%.

Imunohistokimia merupakan suatu metode identifikasi protein spesifik di dalam sel atau jaringan dengan menggunakan prinsip pengikatan antara antigen dengan antibodi. Ekspresi IL-6 pada organ kulit tikus model luka terbuka ditunjukkan dengan adanya warna coklat gelap pada gambaran Immuhistokimia (IHK) yang ditunjukkan dengan tanda panah kuning (\leftarrow)

pada **Gambar 5.1**. IL-6 terekspresikan pada seluruh sel inti makrofag di organ dermis tikus. Selain pada inti sel makrofag, IL-6 dapat terekspresi pada sel neutrofil, sel keratinosit, dan fibroblas. Warna coklat gelap yang dihasilkan pada gambaran imunohistokimia disebabkan karena adanya ikatan antara antigen (IL-6) dengan antibodi primer (*Rat Anti Interleukin-6*) yang selanjutnya berikatan dengan antibodi sekunder (*Rabbit Anti-Rat IgG biotin labeled*). Pemberian antibodi sekuder *Rabbit Anti-Rat* yang diikuti SA-HRP (*Streptavidin-Horseradish Peroxidase*) dan substrat berupa *Diamino Benzidine* (DAB) akan menghasilkan warna coklat gelap pada sitokin IL-6.

Data rata-rata ekspresi IL-6 dari kelima kelompok perlakuan dapat dilihat pada (**Tabel 5.1**) dibawah ini.

Tabel 5.1 Rata-rata ekspresi IL-6 pada semua kelompok perlakuan

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Ekspresi IL-6 ± SD (%)
KN (Kontrol Negatif)	$31,08 \pm 1,62^{a}$
KP (Kontrol Positif)	$97,43 \pm 0,91^{e}$
P1 (Terapi Salep 5%)	$81,69 \pm 1,64^{d}$
P2 (Terapi Salep 10%)	$52,2 \pm 4,64^{c}$
P3 (Terapi Salep 15%)	$39,54 \pm 1,27^{\rm b}$

Keterangan Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan (p<0,05) antara perlakuan.

Hasil uji normalitas dan uji homogenitas varian menunjukkan nilai signifikansi p>0,05 (**Lampiran 7.1 dan 7.2**), maka dapat disimpulkan data yang digunakan mempunyai distribusi dan homogenitas yang normal, sehingga dilanjutkan dengan uji *One Way* ANOVA. Berdasarkan uji statistik didapatkan nilai uji *One Way* ANOVA yaitu p<0,05 (**Lampiran 7.4**), maka terdapat perbedaan yang signifikan antara perlakuan, sehingga dilanjutkan dengan uji *Tukey*. Hasil uji *Tukey* (**Lampiran 7.5**), menunjukkan kelompok

antara perlakuan terapi salep ekstrak kulit jengkol memiliki perbedaan yang nyata (**Tabel 5.1**). Pada tabel tampak bahwa ekspresi IL-6 pada masingmasing perlakuan, yaitu kontrol negatif (KN), kontrol positif (KP), terapi salep 5% (P1), terapi salep 10% (P2), dan terapi salep 15% (P3), menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan terjadinya penurunan nilai rata-rata ekspresi IL-6 yang ditandai dengan notasi a, b, c, d dan e. Hasil rata-rata ekspresi IL-6 pada kulit tikus kelompok perlakuan terapi P3 (39,54 \pm 1,27%) menunjukkan nilai rata-rata yang mendekati nilai KN (31,08 \pm 1,62%), dibandingkan kelompok perlakuan lainnya.

Pada kelompok tikus kontrol negatif (KN) (**Gambar 5.1 A**) yaitu tikus sembuh, yang tidak diberi luka terbuka dan tidak diterapi, menunjukkan angka persentase IL-6 sebanyak (31,08 ± 1,62%). Pada kelompok tikus kontrol positif (KP) (**Gambar 5.1 B**) yaitu tikus sakit, yang hanya diberi luka terbuka dan tidak diterapi selama 10 hari, menunjukkan angka persentase IL-6 sebanyak (97,43 ± 0,91%). Pada kelompok tikus P1 yaitu tikus yang diberi luka terbuka dan diterapi salep ekstrak kulit jengkol 5% (**Gambar 5.1 C**) menunjukkan angka persentase ekpresi IL-6 yang tinggi (81,69 ± 1,64%) dan jauh dengan kelompok KN. Pada kelompok tikus P3 yaitu tikus yang diberi luka terbuka dan diterapi salep eksrak kulit jengkol 10% (**Gambar 5.1 D**) menunjukkan angka persentase ekpresi IL-6 yang cukup tinggi (52,2 ± 4,64%) dan cukup jauh dengan kelompok KN. Pada kelompok tikus P3 yaitu tikus yang diberi luka terbuka dan diterapi salep ekstrak kulit jengkol 15% (**Gambar 5.1 E**) menunjukkan angka persentase ekpresi IL-6 yang rendah

BRAWIJAYA

 $(39,54 \pm 1,27\%)$ dan mendekati kelompok KN. Menurut Mukherjee (2015), jika konsentrasi ekstrak tumbuhan yang digunakan sebagai bahan obat terlalu rendah maka kandungan bioaktif pada ekstrak tersebut juga semakin sedikit dan fungsi biologisnya juga akan rendah yang menyebabkan tidak adanya perubahan atau terapi yang berarti.

Sel-sel radang dalam fase inflamasi akan meningkat sehari setelah terjadi luka dan berkurang di hari ke-6. IL-6 sebagai sitokin pro-inflamasi akan mengalami peningkatan pada hari ke-3 pasca perlukaan. Pada hari ke-7, fase inflamasi sudah mulai tumpang tindih dengan fase proliferasi (Lin *et al.*, 2003). Pada penelitian ini dilakukan terapi selama 10 hari yang diperkirakan terjadi penurunan ekpresi IL-6 pada akhir terapi dan sudah mulai memasuki fase proliferasi. Namun pada kelompok KP, dimana pada hari ke-10 sudah memasuki fase proliferasi, kadar IL-6 masih sangat tinggi (97,43 ± 0,91%). Hal ini menunjukkan bahwa IL-6 masih berperan dalam fase proliferasi. Berdasarkan penelitian Lin, *et al.* (2003), IL-6 diperlukan meskipun di hari ke-10 setelah terjadi perlukaan. Fase reepitelisasi akan terbentuk sempurna setelah 14 hari pasca perlukaan. MacLeod *and* Mansbridge (2015) juga menjelaskan bahwa IL-6 memiliki keterlibatan yang penting dalam proses keterlambatan penyembuhan luka dimana IL-6 dapat membantu merangsang pembentukan keratinosit yang berperan dalam penyembuhan luka.

Penyembuhan luka merupakan proses yang kompleks untuk mengembalikan struktur dan anatomi kulit. Penyembuhan luka terdiri dari empat fase yaitu fase hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase konstruksi atau *remodeling*. Fase hemostasis merupakan fase yang menekan pendarahan awal saat terjadinya luka. Fase ini dapat tampak pada 10-30 menit setelah terjadinya luka. Pada fase ini teramati luka masih tampak merah, terjadi pendarahan, serta belum ada penutupan luka. Fase penyembuhan luka selanjutnya adalah fase inflamasi. Fase ini disebut fase radang karena ditandai oleh reaksi kemerahan, sensasi hangat, dan nyeri. Fase ini dapat berlangsung 1-6 hari setelah terjadinya luka dan berfungsi untuk pembersihan luka yang ditandai dengan banyaknya sel neutrofil dan makrofag pada luka yang membantu fagositosis bakteri dan benda asing. Fase selanjutnya dari penyembuhan luka adalah fase proliferasi, yaitu fase pembentukan jaringan baru berupa reepitelisasi, neovaskularisasi, dan pembentukan kolagen. Fase ini dapat berlangsung pada hari ke 5-21 setelah terjadinya luka (Baranoski and Ayello 2008).

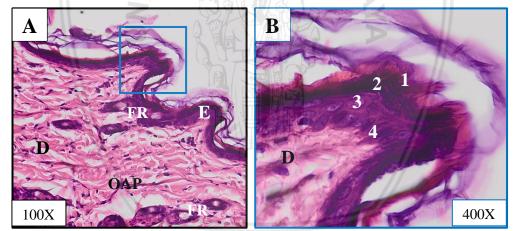
Kerusakan jaringan saat terjadi luka akan memicu aktivasi enzim fosfolipase yang mengubah fosfolipid pada membran sel yang mengalami kerusakan menjadi asam arakhidonat. Asam arakhidonat akan dimetabolisme menjadi dua jalur yaitu *lipooxygenase* (LOX) dan *cyclooxygenase* (COX). *Lipooxygenase* adalah enzim utama pada neutrofil yang menghasilkan senyawa leukotrien yang memiliki kemotaktik kuat dalam merangsang migrasi leukosit ke area luka, sedangkan jalur *cyclooxygenase* akan menghasilkan prostaglandin yang menyebabkan vasodilatasi dan pembentukan edema (Silalahi *and* Surbakti, 2015).

Salep ekstrak kulit jengkol mengandung flavonoid yang dapat menurunkan jumlah sel-sel radang serta makrofag sehingga faktor inflamasi mengalami penurunan dan memasuki fase proliferasi dengan cepat. Menurut Nijveltd *et al.* (2001), mekanisme aktivitas anti-inflamasi pada senyawa flavonoid adalah menghambat kerja enzim LOX dan COX, dengan demikian akan mengurangi produksi prostaglandin oleh asam arakhidonat sehingga mengurangi rasa nyeri. Selain itu juga terjadi penurunan agregasi sel leukosit polimorfonuklear (PMN), terutama sel neutrofil, dan menurunkan efek inflamasi dengan menghambat aktivasi sitokin pada luka. Kandungan tanin dalam ekstrak kulit jengkol juga dapat meningkatkan produksi *growth factor* seperti VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), EGF (*Epidermal Growth Factor*) dan FGF (*Fibroblast Growth Factor*) sehingga dapat meningkatkan proses angiogenesis dan mempercepat penutupan atau proses kesembuhan luka (Malini dkk., 2017).

Hasil dari pengamatan ekspresi IL-6 menunjukkan bahwa terapi salep ekstrak kulit jengkol 15% (P3) memberikan pengaruh paling baik dalam menurunkan kadar ekspresi IL-6 terhadap mempercepat fase inflamasi dan berlanjut ke fase proliferasi dibandingkan terapi salep 5% dan 10%.

5.2 Pengaruh Pemberian Salep Ekstrak Kulit Jengkol (Archidendron pauciflorum) Terhadap Perubahan yang Terjadi Melalui Gambaran Histopatologis Epidermis Kulit dalam Proses Kesembuhan Luka Terbuka Tikus

Kulit terdiri atas dua lapisan utama yaitu epidermis dan dermis. Epidermis merupakan jaringan epitel yang berasal dari ektoderm, sedangkan dermis berupa jaringan ikat agak padat yang berasal dari mesoderm. Lapisan epidermis terdiri dari beberapa lapisan stratum yaitu stratum korneum, stratum granulosum, starum spinosum dan starum basalis. Dermis tersusun atas dua stratum yaitu stratum papilar dan stratum retikuler (Kalangi, 2013).



Gambar 5.2 Gambaran histopatologis epidermis kulit tikus perwarnaan HE kelompok Kontrol Negatif (KN) perbesaran 100X (A) dan 400X (B).

Keterangan A. Kondisi kulit kelompok tikus KN yaitu tidak diberi luka terbuka dan tidak diterapi. Kulit tersusun atas lapisan epidermis (E) dan lapisan dermis (D) yang dilengkapi dengan folikel rambut (FR) dan otot arektor pili (OAP); **B.** Lapisan epidermis tersusun atas beberapa stratum, yaitu stratum korneum (1), stratum granulosum (2), stratum spinosum (3), dan stratum basalis (4) yang menempel dengan lapisan dermis (D) dibawahnya.

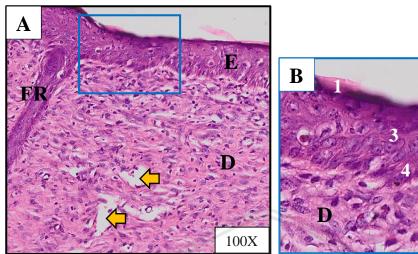
Gambaran histopatologis epidermis kulit tikus diatas (**Gambar 5.2**) menunjukkan kondisi kulit tikus normal yaitu tidak diberi luka terbuka dan tidak diterapi selama 10 hari. Pada gambaran perbesaran 100X (**Gambar 5.2**)

BRAWIJAYA

A), tampak adanya keberadaan folikel rambut dan otot arektor pili pada lapisan dermis. Pada lapisan epidermis perbesaran 400X (**Gambar 5.2 B**), tersusun atas satu lapis stratum korneum, satu lapis stratum granulosum, satu lapis stratum spinosum, dan satu lapis stratum basalis dengan epitel.

Secara biologis, kulit normal terdiri atas tiga lapisan yaitu epidermis, dermis, dan hipodermis. Lapisan epidermis tersusun atas satu lapis stratum korneum yang disusun oleh lapisan sel-sel mati, tidak berinti, dan berkeratin, satu lapis stratum granulosum yang disusun oleh epitel skuamus yang banyak mengandung granula basofilik, satu lapis stratum spinosum yang disusun oleh epitel kuboid atau hampir gepeng dengan inti di tengah, dan satu lapis stratum basalis atau germinativum yang disusun oleh epitel kuboid yang melekat dengan membran lapisan dermis dibawahnya. Lapisan dermis tersusun atas stratum papilar dan stratum retikular yang disusun oleh pembuluh darah, fibroblas, makrofag, dan folikel rambut. Lapisan terakhir yaitu hipodermis (subkutan) yang banyak mengandung jaringan lemak (Mescher, 2016).

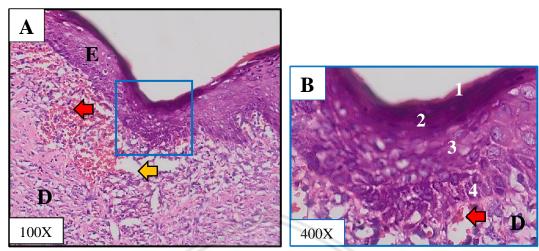
Struktur kulit pada tikus terdiri dari epitelium eksternal (epidermis), lapisan tebal jaringan ikat (dermis), dan lapisan jaringan adiposa (hipodermis). Lapisan epidermis tersusun atas satu lapis stratum korneum, satu lapis stratum granulosum, satu lapis stratum spinosum, dan satu lapis stratum basalis. Lapisan dermis tersusun atas jaringan ikat padat, otot arektor pili, folikel rambut dan kelenjar sebasea. Lapisan tipis otot lurik, yang dikenal sebagai panniculus carnosus, memisahkan kulit dari struktur lain (Conti, 2004).





Keterangan A. Kondisi kulit tikus pasca diberi luka terbuka tanpa diterapi selama 10 hari. Kulit tersusun atas lapisan epidermis (E) dan lapisan dermis (D). Folikel rambut (FR) tampak mengalami kerusakan dan pada lapisan dermis tampak adanya kerusakan jaringan (←); B. Kondisi kulit menunjukkan reepitelisasi pada lapisan epidermis, yaitu ditandai dengan terbentuknya stratum korneum (1), stratum granulosum (2), stratum spinosum (3), dan stratum basalis (4).

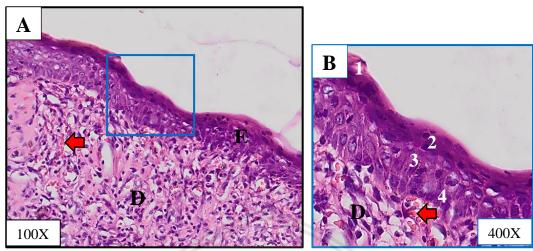
Gambaran histopatologis epidermis kulit tikus diatas (Gambar 5.3) menunjukkan kondisi kulit setelah diberi luka terbuka tanpa diberikan perlakuan terapi selama 10 hari. Pada gambaran perbesaran 100X (Gambar 5.3 A), tampak adanya kerusakan pada folikel rambut dan pada lapisan dermis tampak adanya kerusakan jaringan sehingga penutupan luka belum sepenuhnya menyatu dengan baik. Pada lapisan epidermis perbesaran 400X (Gambar 5.3 B), celah luka sudah menutup dengan baik dimana sudah mengalami reepitelisasi yang ditandai dengan terbentuknya lapisan stratum korneum dan lapisan stratum granulosum yang tipis, lapisan stratum spinosum yang tebal, dan epitel pada lapisan stratum basalis tampak kolumnar dan tersusun rapat.



Gambar 5.4 Gambaran histopatologis epidermis kulit tikus perwarnaan HE kelompok P1 perbesaran 100X (A) dan 400X (B).

Keterangan A. Kondisi kulit tikus pasca diberi luka terbuka dan diterapi salep 5% selama 10 hari. Kulit tersusun atas lapisan epidermis (E) dan lapisan dermis (D). Pada lapisan dermis tampak adanya kerusakan jaringan (←) dan juga tampak adanya inflamasi (←) di lapisan atas dermis; **B.** Kondisi kulit menunjukkan reepitelisasi pada lapisan epidermis, dimana terbentuknya stratum korneum (1), stratum granulosum (2), stratum spinosum (3), dan stratum basalis (4), beberapa epitel pada stratum basalis tampak menumpuk; tampak adanya inflamasi (←) di lapisan dermis (D).

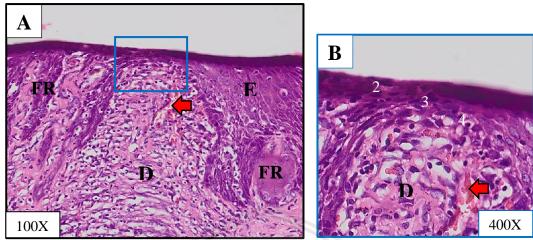
Gambaran histopatologis epidermis kulit tikus diatas (Gambar 5.4) menunjukkan kondisi kulit tikus pasca diberi luka terbuka dan diterapi salep kulit jengkol 5% selama 10 hari. Pada gambaran perbesaran 100X (Gambar 5.4 A), tampak adanya kerusakan pada lapisan dermis sehingga penutupan luka belum sepenuhnya menyatu dan juga adanya inflamasi. Kemudian pada lapisan epidermis tampak belum melekat sepenuhnya dengan lapisan dermis dibawahnya. Pada lapisan epidermis perbesaran 400X (Gambar 5.4 B), celah luka sudah menutup dengan baik dimana sudah mengalami reepitelisasi yang ditandai lapisan stratum korneum yang tipis, adanya penebalan pada lapisan stratum spinosum, namun pada lapisan stratum basalis tampak epitel-epitel yang menumpuk dan tersusun rapat.



Gambar 5.5 Gambaran histopatologis epidermis kulit tikus perwarnaan HE kelompok P2 perbesaran 100X (A) dan 400x (B).

Keterangan A. Kondisi kulit tikus pasca diberi luka terbuka dan diterapi salep 10% selama 10 hari. Kulit tersusun atas lapisan epidermis (E) dan lapisan dermis (D), tidak tampak adanya kerusakan dan sedikit adanya inflamasi (←) di lapisan dermis; **B.** Kondisi kulit menunjukkan reepitelisasi pada lapisan epidermis dimana menunjukkan adanya stratum korneum (1), stratum granulosum (2), stratum spinosum (3), dan stratum basalis (4) yang sudah menempel dengan lapisan dermis (D); inflamasi (←).

Gambaran histopatologis epidermis kulit tikus diatas (**Gambar 5.5**) menunjukkan kondisi kulit tikus pasca diberi luka terbuka dan diterapi salep kulit jengkol 10% selama 10 hari. Pada gambaran perbesaran 100X (**Gambar 5.5 A**), tidak tampak adanya kerusakan pada lapisan epidermis maupun dermis dan sedikit adanya inflamasi di lapisan dermis. Kemudian lapisan epidermis sudah menempel dengan lapisan dermis dibawahnya. Pada lapisan epidermis perbesaran 400X (**Gambar 5.5 B**), celah luka sudah menutup dengan baik dimana sudah mengalami reepitelisasi yang ditandai dengan terbentuknya lapisan statum korneum, epitel skuamus pada lapisan stratum granulosum, keberadaan lapisan stratum spinosum di area tengah epidermis, dan epitel pada lapisan stratum basalis tampak sudah mulai kuboid.



Gambar 5.6 Gambaran histopatologis epidermis kulit tikus perwarnaan HE kelompok P3 perbesaran 100X (A) dan 400x (B).

Keterangan A. Kondisi kulit tikus pasca diberi luka terbuka dan diterapi salep 15% selama 10 hari. Kulit tersusun atas lapisan epidermis (E) dan lapisan dermis (D). Folikel rambut (FR) tampak mengalami kerusakan dan juga tampak adanya inflamasi (←) di lapisan dermis; **B.** Kondisi kulit menunjukkan belum sepenuhnya mengalami reepitelisasi pada lapisan epidermis, dimana hanya tampak stratum granulosum (2), lapisan stratum spinosum yang tipis (3), dan epitel pada lapisan stratum basalis (4) tidak tersusun rapi; inflamasi (←).

Gambaran histopatologis epidermis kulit tikus diatas (**Gambar 5.6**) menunjukkan kondisi kulit tikus pasca diberi luka terbuka dan diterapi salep 15% selama 10 hari. Pada gambaran perbesaran 100X (**Gambar 5.6 A**), tampak adanya kerusakan pada folikel rambut dan adanya inflamasi di lapisan dermis. Kemudian lapisan epidermis sudah menempel dengan lapisan dermis dibawahnya. Pada lapisan epidermis perbesaran 400X (**Gambar 5.6 B**), celah luka sudah menutup dengan baik namun belum mengalami reepitelisasi yang sempurna dimana hanya terbentuknya lapisan stratum granulosum, lapisan spinosum yang tipis, epitel pada lapisan stratum basalis tidak tersusun rapi, dan belum terbentuknya lapisan stratum korneum.

Kulit merupakan barier fisik yang dapat mempertahankan tubuh dari agen patogen. Apabila terdapat kerusakan kulit, maka kulit akan mempertahankan tubuh dengan proses imunologis yang cepat terhadap agen patogen tersebut dan mengeluarkan mikroorganisme tersebut dari epidermis dan dermis. Sistem imun berkembang dengan fungsi yang khusus dan bekerja pada kulit. Sel langerhans, dendrosit kulit, sel endotel, keratinosit dan sel lainnya ikut berpartisipasi dalam *Skin Associated Lymphoid Tissue* (SALT) yang mempunyai sistem imun pada kulit. Ketika mikroorganisme menembus barier kulit akan merangsang respon imun. Kulit akan merusak mikroorganisme tersebut dan mengeliminasi antigen (Garna, 2001).

Fase proliferasi ditandai dengan jumlah sel radang yang mulai menurun, adanya fibroblas yang berproliferasi, pembentukan kapiler baru dan pembentukkan epitel baru (reepitelisasi). Fase proliferasi secara umum mengikuti dan tumpang tindih dengan fase inflamasi yang ditandai dengan reepitelisasi. Pada proses reepitelasi, fibroblas mengeluarkan *Keratinocyte Growth Factor* (KGF). KGF dibantu oleh *Epidermal Growth Factor* (EGF) berperan dalam proses stimulasi reepitelisasi epidermis. Proses reepitelisasi epidermis dimulai dari keratinosit yang bermigrasi dari membran basalis akan bergerak menyeberangi permukaan luka dan menyatu dengan epitel pada lapisan kulit normal. Keratinosit merupakan sel dominan pada lapisan epidermis yang berperan sebagai protektif awal bagi kulit. Keratinosit akan mengalami keratinisasi atau kornifikasi pada epitel. Setelah terjadi peningkatan proliferasi dan sintesis matrik ekstraseluler, proses kesembuhan

luka memasuki fase *remodeling* yang dapat berlangsung selama bertahuntahun (Guo *and* Dipietro, 2010).

Mekanisme terjadinya reepitelisasi meliputi proses mobilisasi, migrasi dan diferensiasi sel epitel. Mobilisasi dimulai saat sel-sel epitel akan bergerak dari tepi jaringan bebas menuju jaringan yang rusak atau daerah perlukaan. Setelah mobilisasi akan terjadi migrasi keratosit menuju daerah perlukaan dan akan membentuk lapisan basal yang berjumlah satu hingga dua lapis. Proses yang terakhir adalah proses diferensiasi yaitu sel-sel pada tepian luka akan membentuk menjadi lembaran tipis dan akan menyebar sehingga menutup celah pada epitel. Pada proses reepitelisasi, fibroblas mengeluarkan KGF yang berperan dalam stimulasi mitosis sel epidermal. Keratinisasi dimulai dari pinggir luka sehingga membentuk barrier yang menutupi permukaan luka (Martyarini, 2011).

Proses penyembuhan luka sangat dipengaruhi oleh peranan migrasi dan proliferasi fibroblas pada area perlukaan. Febram dkk. (2010) mengungkapkan bahwa migrasi fibroblas pada area perlukaan distimulasi oleh *Transforming Growth Factor* (TGF), yaitu faktor pertumbuhan yang dihasilkan oleh jaringan granulasi yang terbentuk selama proses inflamasi. Proliferasi fibroblas pada tahap penyembuhan luka mengindikasikan adanya proses penyembuhan yang berlangsung cepat. Proses utama pertumbuhan fibroblas akan terjadi di hari ke-7 sampai ke-14 pasca perlukaan dan terjadi penyempurnaan sampai struktur kulit kembali normal (Martyarini, 2011).

Kandungan yang terdapat dalam ekstrak kulit jengkol seperti flavanoid, tanin, dan saponin, dapat membantu dalam proses reepitelisasi luka terbuka dan dapat mempercepat kesembuhan. Flavonoid pada kulit jengkol ini berperan sebagai anti-inflamasi. Senyawa ini bekerja dengan mempersingkat fase inflamasi pada proses penyembuhan luka. Pada fase inflamasi terjadi aktivitas fagositosis dari benda asing dan debris luka. Tanin berperan dalam fase proliferasi dan reepitelisasi pada proses penyembuhan jaringan luka, sedangkan saponin dapat meningkatkan proliferasi monosit sehingga dapat meningkatkan jumlah makrofag. Makrofag akan mensekresikan *growth* factor yang dapat menarik lebih banyak fibroblas ke daerah luka dan mensintesis kolagen serta meningkatkan proliferasi pembuluh darah kapiler (Ardiana dkk., 2015).

Hasil dari pengamatan gambaran histologis kulit tikus menunjukkan bahwa terapi salep ekstrak kulit jengkol 10% (P2), dilihat dari penutupan celah luka yang mengalami reepitalisasi paling baik secara mikroskopis (Gambar 5.5) dan dilihat dari panjang luka secara makroskopis (Lampiran 10) pada terapi hari ke-10, memberikan pengaruh paling baik dibandingkan dengan terapi salep 5% dan 15%.

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

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

- Salep ekstrak kulit jengkol (Archidendron pauciflorum) dengan konsentrasi 15% memberikan pengaruh terbaik dalam menurunkan tingkat ekspresi IL-6 pada proses penyembuhan luka kulit tikus model luka terbuka.
- 2. Salep ekstrak kulit jengkol (*Archidendron pauciflorum*) dengan konsentrasi 10% memberikan pengaruh terbaik dalam reepitelisasi kulit dan panjang penutupan luka pada proses penyembuhan luka kulit tikus model luka terbuka.

6.2 Saran

Saran yang dapat diberikan adalah diharapkan adanya penelitian lanjutan untuk mengkaji potensi ekstrak kulit jengkol terhadap perubahan ekspresi IL-6 pada fase-fase yang berbeda dalam proses penyembuhan luka pada jaringan kulit.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, B. 2010. Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas. Edisi 1. Adabia Press. Jakarta.
- Ammusen, P. D. and B. Sollner. 2000. *Wound Management Principles and Practice*. Beiersdorf Medical Bibliothek, Hamburg. pp. 9-14.
- Ardiana, T., A. R. P. Kusuma, dan M. D. Firdausy. 2015. Efektifitas Pemberian Gel Binahong (*Anredera cordifolia*) 5% Terhadap Jumlah Sel Fibroblast pada Soket Pasca Pencabutan Gigi Marmut (*Cabia cobaya*). *ODONTO Dental Journal* Volume 2(1): 187-193.
- Ariani, S., L. Loho, dan M. F. Durry. 2014. Khasiat Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) terhadap Pembentukan Jaringan Granulasi dan Reepitelisasi Penyembuhan Luka Terbuka Pada Kelinci. Jurnal e-Biomedik Volume 1(2): 233-237.
- Baranoski S. and E. A. Ayello. 2008. Wound Care Essential Practice Principle. Lippincott Williams & Wilkins. New York.
- Conti, C. J., I. B. G. Conti, F. Benavides, A. F. W. Frijhoff, and M. A. Conti. 2004. Atlas of Laboratory Mouse Histology. American College of Laboratory Animal Medicine. Texas.
- Danu, M. 2012. The Effect of Aloe Vera on Healing Process of Incission Wound. Jurnal Plastik Rekonstruksi.
- DeLaune, S. C. and P. K. Ladner. 2010. *Fundamentals of Nursing:* Standards and Practice Fourth Edition. Delmar, Cengage Learning. New York.
- Demidova-Rice, T. N., M. R. Hamblin, and I. M. Herman. 2012. Acute and Impaired Wound Healing: Pathophysiology and Current Methods for Drug Delivery, Part 1: Normal and Chronic Wounds: Biology, Causes, and Approaches to Care. *NIH Public Access, Adv Skin Wound Care* 25(7): 304–314.
- Diegelmann, R.F. and M. C. Evans. 2004. *Wound Healing:* An Overview of Acute, Fibrotic and Delayed Healing. Frontiers in Bioscience. 9, 283-289.
- Evaria dan S. Rince. 2007. *MIMS Indonesia Petunjuk Konsultasi*. Edisi 7 2007/2008. PT. Infomaster Lisensi dari CMP Medica. Jakarta.
- Febram, B., Wientarsih, I., dan Pontjo, B. 2010. Aktivitas Sediaan Salep Ekstrak Batang Pohon Pisang Ambon (*Musa paradisiaca var sapientum*) Dalam Proses Persembuhan Luka Pada Mencit (*Mus musculus albinus*). *Majalah Obat Tradisional* 15(3): 121-137.
- Ferreira, M. C., P. Tuma, V. F. Carvalho, and F. Kamamoto. 2006. *Complex Wounds*. Clinics. 61, 571-578.

- Garna, H. 2001. Patofisiologi Infeksi Bakteri pada Kulit. *Sari Pediatri*, Vol. 2(4): 205 209.
- Guo, S. and L. A. DiPietro. 2010. Factors Affecting Wound Healing. *J. Dent. Res.* 89(3): 219-229.
- Gurtner, G. C. 2007. *Wound Healing:* Normal and Abnormal. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia. 15-22.
- Guyton, A. C. dan E. J. Hall. 2006. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi ke-9. Penerbit EGC. Jakarta.
- Harisaranraj, R., K. Suresh, and S. Saravanababu. 2009. Evaluation of The Chemical Composition *Rauwolfia serpentina* and *Ephedra vulgaris*. *IDOSI Publications*. *Advances in Biological Research* 3(5-6): 174-178.
- Hernani, N. 2009. Aspek Pengeringan dalam Mempertahankan Kandungan Metabolit Sekunder pada Tanaman Obat. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. Bogor.
- Hidayana, N. A. 2011. Perbedaan Kecepatan Kesembuhan Luka Bakar Derajat 2 dengan Olesan Madu Murni dan Tulle (*Famycetine sulfate*) pada Tikus Putih [Skripsi]. Fakultas Keperawatan. Universitas Muhammadiyah.
- Hutapea, J. R. 1994. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia Edisi III*. Depkes RI. Jakarta.
- Kalangi, S. J. R. 2013. Histofisiologi Kulit. Jurnal Biomedik (JBM) 5(3): 12-20.
- Kanitakis, J. 2012. Anatomy, Histology And Immunohistochemistry Of Normal Human Skin. *Eur Journal of Dermatol*. 12(4): 390–401.
- Karnen, G. dan B. Iris. 2010. Immunologi Dasar. Balai Penerbit FKUI. Jakarta.
- Khotimah, S. N. dan A. Muhtadi. 2017. *Beberapa Tumbuhan yang Mengandung Senyawa Aktif Antiinflamasi*. Farmaka Suplemen Vol. 14(2).
- Kumar, P. and Clark. 2016. *Kumar & Clark's Clinical Medicine 9th Edition*. Elsevier. London.
- Kusriningrum, R. S. 2007. *Perancangan Percobaan*: Untuk Penelitian Bidang Biologi, Pertanian, Peternakan, Perikanan, Kedokteran, Kedokteran Hewan, Farmasi Cetakan Pertama. Airlangga University Press. Surabaya.
- Lawrence, W. T. 2002. Wound Healing Biology and Its Application to Wound Management. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia. 107-32.
- Leong, M. and L. G. Phillips. 2012. Wound Healing. Elsevier. Amsterdam. 984-92.
- Lin, Z. Q., T. Kondo, Y. Ishida, T. Takayasu, and N. Mukaida. 2003. Essential Involvement of IL-6 In The Skin Wound-Healing Process as Evidenced by Delayed Wound Healing In IL-6 Deficient Mice [Thesis]. Faculty of Forensic Medicine, China Criminal Police Collage.

- MacKay, D. and A. L. Miller. 2003. Nutritional Support For Wound Healing. *Altern. Med. Rev.* 8(4): 359-377.
- MacLeod, A. S. and J. N. Mansbridge. 2015. *The Innate Immune System in Acute and Chronic Wounds*. Mary Ann Liebert, Inc. San Diego. Volume 5(2).
- Madihah, N. Ratningsih, D. M. Malini, A. H. Faiza, dan J. Iskandar. 2017. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Kulit Buah Jengkol (*Archidendron pauciflorum*) Terhadap Tikus Wistar Betina. Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiv Indonesia. 3(1): 33-38.
- Malini, D. M., Madihah, dan F. Kamilawati. 2017. Uji Potensi Sediaan Salep Ekstrak Etanol Kulit Buah Jengkol Untuk Mempercepat Penutupan Luka Pada Kulit Mencit Model Diabet. Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiv Indonesia. 3(2): 205-210.
- Mancini, M. M., H. M. Funk, A. M. Paluch, M. Zhou, P. V. Giridhar, C. A. Mercer, S. C. Kozma, and A. F. Drew. 2010. Differences in Wound Healing in Mice with Deficiency of IL-6 versus IL-6 Receptor. *J Immunol*, 184: 7219-7228.
- Martyarini, S. A. 2011. Efek Madu Dalam Proses Epitelisasi Luka Bakar Derajat Dua Dangkal [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro.
- Masfufatun, P. O. A. Tania, L. H. Raharjo, dan A. Baktir. 2017. Kadar IL-6 dan IL-10 Serum pada Tahapan Inflamasi di *Rattus norvegicus* yang Terinfeksi *Candida albicans. Jurnal Kedokteran Brawijaya*, Vol. 30(1).
- Memon, M. A., A. Shah, A. Z. Khan, A. Sifeddein, Y. Xianjun, L. Qinhua, H. Y. Alhaag, A. K. Khan, M. Nazar, I. A. Shah, and S. Tao. 2016. Careful Surgery, Management and Treatment of Feline (Cat) Breast Cancer. Journal of Animal Research and Nutrition, 1(2): 11.
- Mescher, A. L. 2016. *Junqueira's Basic Histology:* Text and Atlas, 14th Edition. McGraw-Hill Education. New York.
- Mukherjee, P. K. 2015. *Evidence-Based Validation of Herbal Medicine*. Elsevier. Amsterdam.
- Naibaho, O. H., P. V. Y. Yamlean, dan W. Wiyono. 2013. Pengaruh Basis Salep terhadap Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Daun Kemangi (*Ocinum sanctum L.*) pada Kulit Punggung Kelinci yang Dibuat Infeksi *Staphylococcus aureus. Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT*, 2(2): 27-33.
- Nijveldt, R. J., E. V. Nood, D. Hoorn, and P. G. Norren. 2001. *Flavonoids*: A Review of Probable Mechanisms of Action and Potential Applications. *American Journal of Clinical and Nutrition*, 74.
- Pandey, B. P. 2003. *A Textbook of Botany Angiospermis*. S. Chand & Company Ltd. New Dehli.
- Papanicolaou. 2013. The Pathophysiologic Roles of Interleukin-6 In Human Disease. *Annals of Internal Medicine*, Vol. 128(2): 127–137.

BRAWIJAY

- Pavletic, M. M. 2010. Atlas of Small Animal Wound Management and Reconstructive Surgery 3rd Edition. Willey-Blackwell Saunders. New York.
- Pratiwi, A. D., R. Ratnawati, dan H. Kristianto. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kuncup Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap Peningkatan Ketebalan Epitelisasi Luka Insisi pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar. *Majalah Kesehatan FKUB* 2(3).
- Purnama, H., Sriwidodo, dan S. Ratnawulan. 2017. Proses Penyembuhan dan Perawatan Luka. *Farmaka Suplemen*, Vol. 15(2).
- Pusponegoro, A. D. 2005. Buku Ajar Ilmu Bedah Edisi ke-2. Penerbit EGC. Jakarta.
- Rajan, V. and R. Z. Murray. 2008. The Duplicitous Nature of Inflammation In Wound Repair. Wound Practice & Research: Journal of the Australian Wound Management Association, Vol. 16(3).
- Ramdani, N. F., C. Mambo, dan J. Wuisan. 2014. Uji Efek Daun Kemangi (*Ocinum basilicum L.*) terhadap Penyembuhan Luka Insisi pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Jurnal e-Biomedik UNSRAT*, 37(8).
- Riansyah, Y., L. Mulqie, dan R. Choesrina. 2015. Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas (L.) Lamk*) terhadap Tikus Wistar Jantan. *Prosiding Penelitian Spesia Unisba*, *Bandung*.
- Rowan, M. P., L. C. Cancio, E. A. Elster, D. M. Burmeister, L. F. Rose, and S. Natesan. 2015. *Burn Wound Healing and Treatment:* Review and Advancements. Critical Care. 19: 243.
- Rupina, W., H. F. Trianto, dan I. Fitrianingrum. 2016. Efek Salep Ekstrak Etanol 70% Daun Karamunting terhadap Re-epitelisasi Luka Insisi Kulit Tikus Wistar. Artikel Penelitian eJKI, Vol. 4(1). [12 April 2016].
- Sabirin, I. P. R., A. M. Maskoen, dan B. S. Hernowo. 2013. Peran Ekstrak Etanol Topikal Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) pada Penyembuhan Luka Ditinjau dari Imunoekspresi CD34 dan Kolagen pada Tikus Galur Wistar [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Ahmad Yani. 45(4): 226–233.
- Sajidah, A., G. A. S. Puja, W. Warnis, dan Sugijati. 2014. Perbedaan Lama Penyembuhan Luka Bersih Antara Perawatan Luka Menggunakan Gerusan Bawang Merah (*Allium cepa L.*) Dibandingan dengan Povidon Iodine 10% Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar. *ISSN*: 1978-3787. Vol. 8(4).
- Shaikh, P. Z. 2011. *Cytokines:* Their Physiologic and Pharmacologic Functions In Inflammation: A Review. Int. J. of Pharm. & Life Sci. (IJPLS). India. Vol. 2(11): 1247-1263.

- Silalahi, J. and C. Surbakti. 2015. Burn Wound Healing Activity of Hydrolyzed Virgin Coconut Oil. *International Journal of PharmTech Research CODEN IJPRIF. ISSN*: 0974-4304. Vol.8(1): 67-73.
- Sirois. 2005. *Laboratory Animal Medicine:* Principles and Procedures. Elsevier. London.
- Steffi. 2010. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Flavonoid dari Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Jengkol (*Pithecellobii pericarpium*) [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Sumetera Utara.
- Suryadi, I. A., A. Asmarajaya, dan S. Maliawan. 2014. Proses Penyembuhan dan Penanganan Luka. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 10(5): 4-10.
- Swari, M. O. 2017. Pengaruh Pemberian Gel Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Pada Proses Penyembuhan Luka Gingiva Ditinjau Dari Jumlah Sel Neutrofil [Skripsi]. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Syafnir, L., Y. Krishnamurti, dan M. Ilma. 2014. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Kulit Jengkol (*Archidendron pauciflorum (Benth.) I. C. Nielsen*). *Prosiding Sains, Teknologi dan Kesehatan Universitas Islam Bandung*.
- Tahani, N. A. 2013. Laporan Teknik Instrumentasi Laboratorium Biosistem (Hewan Coba). Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Talley, D., J. D. Brancroft, and A. Stevans. 2011. *Theory and Practice of Histological Techniques:* Fixation and Fixatives 3rd Edition. Churchill Livingstone. Edinburgh.
- Thalib, A., K.A. Erika, M. N. Massi, T. Tahir, dan A. Mas'ud. 2018. Pengaruh Pemberian Krim Topikal Ekstrak Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizuz*) Pada Luka Akut Terhadap Kadar Interleukin-6 Fase Inflamasi Pada Wistar. *Jurnal Luka Indonesia*, Vol. 4(1): 1-10.
- 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]. Program Magister Biomedik dan PPDS I. Universitas Diponegoro.
- Yanhendri dan S. W. Yenny. 2012. *Berbagai Bentuk Sediaan Topikal dalam Dermatologi*. Cermin Dunia Kedokteran. 194(6): 423-430.
- Ziser. 2005. *Integumentary System*. In Human Anatomy & Physiology. 5–20.