



**PENGARUH EKSTRAK *Morinda citrifolia* L. TERHADAP
PENYEMBUHAN LUKA INSISI
Penelitian Ditinjau dari Kolagen pada Tikus Jantan Galur Wistar**

SKRIPSI

**BRILLIANT GAREDA AIRLANGGA
169010004**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS WAHID HASYIM
2020**



**PENGARUH EKSTRAK *Morinda citrifolia L.* TERHADAP
PENYEMBUHAN LUKA INSISI
Penelitian Ditinjau dari Kolagen pada Tikus Jantan Galur Wistar**

LAPORAN HASIL SKRIPSI

**Diajukan sebagai syarat untuk mengikuti ujian hasil skripsi
mahasiswa program strata-1 kedokteran umum**

**BRILLIANT GAREDA AIRLANGGA
169010004**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS WAHID HASYIM
2020**

LEMBAR PENGESAHAN HASIL SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

PENGARUH EKSTRAK *Morinda citrifolia* L. TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA INSISI Penelitian Ditinjau dari Kolagen pada Tikus Jantan Galur Wistar

Dipersiapkan dan disusun oleh:

Nama : BRILLIANT GAREDA AIRLANGGA

NIM : 169010004

Telah dipertahankan di depan dewan penguji pada tanggal 11 Februari 2020 dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Pembimbing I



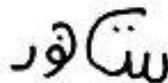
dr. Meita Hendrianingtyas., Sp.PK., M.Si., Med
NIP : 1979 0531 2008 12 2002

Pembimbing II



dr. Naela Fadhila, M.Kes
NIP : 12.18.1.0470

Penguji



Siti Nur Chasanah, S.Si., M.Sc.
NPP : 12.17.1.0439

Semarang, 12 Maret 2020

Fakultas Kedokteran

Dekan



dr. Endang Ambarwati, Sp.KFR (K)
NIP: 19560806 1985032001

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama mahasiswa : Brilliant Gareda Airlangga

NIM : 169010004

Alamat : Grogol, Karangudi, Ngrampal, Sragen

Program Studi : Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran
Wahid Hasyim

Judul KTI : Pengaruh Ekstrak *Morinda Citrifolia L.* terhadap
Penyembuhan Luka Insisi Penelitian Ditinjau dari Kolagen
pada Tikus Jantan Galur Wistar

Dengan ini menyatakan bahwa:

- 1) Skripsi ini ditulis sendiri tulisan asli saya sediri tanpa bantuan orang lain selain pembimbing dan narasumber yang diketahui oleh pembimbing.
- 2) Skripsi ini sebagian atau seluruhnya belum pernah dipublikasi dalam bentuk artikel ataupun tugas ilmiah lain di Universitas Wahid Hasyim maupun di perguruan tinggi lain.
- 3) Dalam skripsi ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis orang lain kecuali secara tertulis dicantumkan sebagai rujukan dalam naskah dan tercantum pada daftar kepustakaan.

Semarang, 11 Februari 2020

Yang membuat pernyataan,

Brilliant Gareda Airlangga

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya kami dapat menyelesaikan tugas Skripsi ini. Penulisan Skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Wahid Hasyim. Kami menyadari sangatlah sulit bagi kami untuk menyelesaikan Skripsi ini tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak sejak penyusunan proposal sampai dengan terselesaikannya laporan hasil Skripsi ini. Bersama ini kami menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Prof. Dr. Mahmutarom HR. SH., MH. selaku Rektor Universitas Wahid Hasyim Semarang yang telah memberi kesempatan kepada kami untuk menimba ilmu di Universitas Wahid Hasyim.
2. dr. Endang Ambarwati, Sp.KFR(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Wahid Hasyim Semarang yang telah memberikan sarana dan prasarana kepada kami sehingga kami dapat menyelesaikan tugas ini dengan baik lancar.
3. dr. Meita Hendrianingtyas, Sp. PK.,M,Si.Med selaku dosen pembimbing 1 dan dr. Naela Fadhila, M.Kes. selaku dosen pembimbing 2 yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing kami dalam penyusunan Skripsi ini.
4. Ibu Siti Nur Chasanah S.Si, M.Sc. selaku ketua Skripsi Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Wahid Hasyim.
5. Bapak dan Ibu Dosen Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Wahid Hasyim yang telah berjasa memberikan bekal pengetahuan untuk memperkaya dan mempertajam daya kritis penyusun.
6. Orang tua saya bapak Harsono dan ibu Sriyanti dan kakek saya alm. bapak Bisri Diyatno beserta saudara dan keluarga kami yang senantiasa memberikan dukungan moral, spiritual maupun material.
7. Sahabat yang selalu memberi dukungan dalam menyelesaikan Skripsi ini.

8. Pihak lain yang tidak mungkin kami sebutkan satu-persatu atas bantuannya secara langsung maupun tidak langsung sehingga Skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

Akhir kata, kami berharap Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga Skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Semarang, 11 Februari 2020



Brilliant Gareda Airlangga

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN	iii
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR SINGKATAN	x
ABSTRAK	xi
ABSTRACT	xii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar belakang	1
1.2 Permasalahan penelitian	4
1.3 Tujuan penelitian	4
1.4 Manfaat penelitian	5
1.5 Keaslian penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Luka insisi	8
2.2 Penyembuhan luka	8
2.3 Kolagen.....	11
2.4 <i>Morinda citrifolia L.</i>	12
2.5 Tikus Wistar	14
2.6 Gentamisin	15
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	
3.1 Kerangka teori.....	17
3.2 Kerangka konsep	18
3.3 Hipotesis	18
BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1 Ruang lingkup penelitian	20
4.2 Tempat dan waktu penelitian	20
4.3 Jenis dan rancangan penelitian	20
4.4 Populasi dan sampel	20
4.5 Variabel penelitian.....	22
4.6 Definisi operasional.....	23
4.7 Cara pengumpulan data.....	23
4.8 Alur penelitian	30
4.9 Analisis data	31
4.10 Etika penelitian.....	31
BAB V HASIL PENELITIAN.....	32
BAB VI PEMBAHASAN.....	36

BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN.....	39
DAFTAR PUSTAKA.....	41

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Fase-fase penyembuhan	7
Tabel 4.1. Derajat komposisi ekstrak buah mengkudu dengan basisnya	23
Tabel 5.1. Data hasil penelitian jumlah kolagen.....	34
Tabel 5.2. Uji <i>independent t-test</i> terhadap jumlah kolagen antar kelompok.....	35

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Buah mengkudu	12
Gambar 3.1. Kerangka teori.....	17
Gambar 3.2. Kerangka konsep.....	18
Gambar 4.1. Alur penelitian	30
Gambar 5.1. Gambaran mikroskopis jaringan kulit pada hari ke-7 dengan pewarnaan <i>sirius red</i> dengan perbesaran 40x.....	33
Gambar 5.2. Histogram jumlah rerata kolagen	34

DAFTAR SINGKATAN

ES	: <i>Embryo-derived stem</i>
COX-2	: <i>Cyclooxygenase-2</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear factor-κB</i>
MMP-1	: <i>Matrix metalloproteinase-1</i>
CFUs	: <i>Colony forming units</i>
KEPK	: <i>Komisi Etik Penelitian Kesehatan</i>
mRNA	: <i>Messenger Ribonucleic acid</i>

ABSTRAK

Latar Belakang Menurut RISKESDAS 2018, proporsi cedera luka insisi atau iris di Indonesia adalah sebesar 20,1%. Salah satu tanaman herbal yaitu *Morinda citrifolia L.* atau mengkudu yang banyak terdapat di Indonesia dan dapat bermanfaat untuk menunjang penyembuhan luka insisi dan sintesis kolagen.

Tujuan Mengetahui adanya perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian beberapa dosis salep ekstrak buah mengkudu pada luka insisi pada tikus jantan galur Wistar.

Metode Penelitian dengan *Post Test Only Group Design* pada 30 ekor tikus jantan galur Wistar tertentu, dibagi secara acak menjadi 5 kelompok. Kelompok P1, P2 dan P3 diberikan salep ekstrak buah mengkudu dosis 10%, 20% dan 30% secara berurutan. Kelompok kontrol K0 diberikan perlakuan basis salep dan kelompok kontrol K1 diberikan perlakuan salep gentamisin.

Hasil Hasil uji dengan *independent t-test* pada kelompok K0 dan P1 dengan kelompok P2, P3 dan K1 didapatkan perbedaan yang bermakna ($p=0,000$). Hasil pada kelompok P2 dengan kelompok P3 didapatkan perbedaan yang tidak bermakna ($p=0,644$). Hasil pada kelompok K1 dengan kelompok P2 dan P3 didapatkan perbedaan yang tidak bermakna ($p=0,471$ dan $p=0,153$).

Kesimpulan Terdapat perbedaan jumlah kolagen yang bermakna sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 20% dan 30% pada luka insisi tikus galur Wistar.

Kata Kunci *Morinda citrifolia L.*, Ekstrak buah mengkudu, jumlah kolagen

ABSTRACT

Background According to the RISKESDAS 2018, the proportion of incision type injuries in Indonesia is 20.1%. One option for herbal treatment is *Morinda citrifolia* L. or often called noni which is known to grown well throughout the majority of regions in Indonesia and it can be useful to support incision wound healing and collagen synthesis.

Aim This research aims to find out the differences in the amount of collagen after administration of several doses of Noni fruit extract ointment to incision wounds in male Wistar strain rats.

Method This experimental research using Post Test Only Group Design. The samples were 30 Wistar strain male rats with certain criteria, randomly divided into 5 groups. Group P1, P2 and P3 was treated with 10%, 20% and 30% noni fruit extract ointment respectively. Group K0 was treated with cream base ointment and group K1 was treated with gentamicin ointment.

Results Test results with independent t-test found significant difference between group K0 and P1 with groups P2, P3 and K1 ($p = 0,000$). The results in group P2 with group P3 found no significant difference ($p = 0,644$). The results in group K1 with groups P2 and P3 were found to be insignificant ($p = 0,471$ and $p = 0,153$).

Conclusion There is a significant difference in the amount of collagen after administration of 20% and 30% doses of noni fruit extract ointment to the Wistar strain rat incision wound.

Keywords: *Morinda citrifolia* L., Noni fruit extract, collagen amount

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Luka adalah hilangnya atau rusaknya sebagian jaringan tubuh. Keadaan ini dapat disebabkan oleh trauma benda tajam atau tumpul, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik atau gigitan hewan. Bentuk luka terbagi menjadi bermacam-macam bergantung penyebabnya, misalnya luka insisi atau *vulnus scissum* disebabkan oleh benda tajam.¹ Gaya mekanik dapat menimbulkan beragam bentuk kerusakan jaringan. Tipe kerusakan bergantung dari bentuk benturan, jumlah energi yang didapat ketika benturan dan jaringan atau organ yang menerima. Semua jaringan ikat bereaksi secara sama terhadap gaya mekanik dan bentuk cederanya dapat terbagi meliputi abrasi, kontusi, laserasi, luka insisi dan luka tusukan. Luka insisi ditimbulkan oleh instrumen tajam dan dapat merusak pembuluh darah secara parah.²

Luka merupakan keadaan yang sering dialami oleh setiap orang, baik dengan tingkat keparahan ringan, sedang atau berat. Menurut Laporan Nasional Riset Kesehatan Dasar tahun 2018 yang dilakukan oleh Balitbang Kemenkes RI, proporsi cedera jenis luka insisi atau iris di Indonesia adalah sebesar 20,1%, terbanyak ketiga dari luka lecet/lebam/memar dan terkilir. Prevalensi tertinggi berdasarkan karakteristik meliputi; pada usia 35-44 tahun sebesar 24,0%, pada jenis kelamin laki-laki sebesar 23,1%, pada pendidikan tamat SD sebesar 22,3%, pada status pekerjaan nelayan sebesar 30,7% dan pada penduduk perdesaan sebesar 21,8%.³

Penyembuhan luka meliputi variasi dari beberapa proses yaitu, peradangan akut, proliferasi sel dan kontraksi dari kisi kolagen yang terbentuk. Beberapa tipe dari sel dikerahkan menuju lokasi cedera untuk menjalankan proses penyembuhan. Mengikuti netrofil dan monosit, fibroblas tertarik ke lokasi cedera untuk inisiasi fase proliferasi. Fibroblas mensekresi kolagen dan glikosaminoglikan dari jaringan granulasi baru, yang kemudian mempengaruhi *remodeling* jaringan granulasi menjadi dermis matur.⁴

Penanganan luka insisi diawali dengan penghentian perdarahan, kemudian setelah perdarahan berhenti, luka insisi dapat ditutup, namun perlu diperhatikan apabila terdapat benda asing didalam luka, oleh karena itu perlu dilakukan eksplorasi sebelum penutupan luka untuk menghindari infeksi ataupun gangguan penyembuhan luka. Pada luka insisi yang terjadi secara tidak sengaja dan pada area tindakan bedah yang telah terkolonisasi ataupun pada penelitian dengan hewan, dapat diasumsikan bahwa bakteri telah terdapat pada luka tersebut. Perawatan luka yang baik berperan penting untuk pencegahan infeksi mikroba. Pada awal fase penyembuhan luka ketika proliferasi bakteri dimulai, pemberian antibiotik secara parenteral diketahui dapat mengeliminasi bakteri. Penggunaan antibiotik ini sekarang umum dilakukan pada banyak keadaan.⁵ Pemberian antibiotik gentamisin secara lokal diketahui menunjukkan hasil yang efektif serta dapat menunjang fase epitelisasi pada penyembuhan luka.^{6,7}

Morinda citrifolia L. telah dikenali sebagai tanaman penting untuk pengobatan berbagai gangguan fisiologis. *Morinda citrifolia L.* secara umum dikenal dengan nama mulberi india, noni atau di Indonesia disebut mengkudu.

Mengkudu telah dilaporkan memiliki jangkauan luas dalam penggunaan terapi penyakit seperti artritis, luka bakar, sakit kepala, luka dan infeksi kulit. Bagian-bagian dari tumbuhan mengkudu dari akar, daun dan buahnya memiliki dominasi kandungan-kandungan yang berbeda. Buah mengkudu diketahui dapat bekerja sebagai antiinflamasi, imunostimulan, antioksidan hingga antimikroba.⁸ Buah mengkudu mengandung zat nutrisi dan zat aktif seperti β -karoten, flavonoid, skopoletin serta glikosida iridoid dengan berbagai fungsi meliputi antioksidan, antiinflamasi hingga menunjang sintesis kolagen dan perlindungan matriks ekstraseluler. Pada penelitian sebelumnya diketahui penggunaan salep ekstrak mengkudu untuk luka insisi cenderung bermanfaat untuk penyembuhan luka namun secara statistik tidak bermakna, hal ini diantaranya diduga terjadi karena dosis ekstrak mengkudu topikal yang kurang.^{9,10}

Sebagai hewan percobaan untuk penyakit pada manusia, tikus menawarkan banyak keuntungan. Pada faktanya, tikus pernah menjadi organisme yang paling banyak digunakan secara luas pada penelitian medis dan kesuksesan isolasi dari sel *embryo-derived stem* (ES) pada tikus akan dengan cepat memperluas penggunaannya. Lebih jauh lagi, pada banyak kasus, fisiologi tikus lebih sesuai dengan kondisi manusia. Fisiologis tikus diketahui juga lebih mudah untuk diperiksa dibanding mencit.¹¹ Tikus galur Wistar saat ini diketahui merupakan salah satu biakan tikus yang populer dan digunakan pada berbagai laboratorium penelitian. Biakan tikus ini telah dikembangkan sejak tahun 1906 oleh Institut Wistar untuk penelitian biologi dan medis, dan tercatat sebagai biakan tikus pertama yang dikembangkan untuk menjadi hewan percobaan.¹²

Berdasarkan uraian diatas, meliputi kandungan-kandungan dalam buah mengkudu dan sifat-sifat tikus yang mendukung untuk digunakan sebagai hewan percobaan untuk penyakit manusia, maka penulis ingin mengetahui lebih lanjut mengenai pengaruh salep ekstrak buah mengkudu dalam pembentukan kolagen pada proses penyembuhan luka insisi.

1.2 Permasalahan penelitian

1.2.1 Permasalahan umum

Pada penelitian ini sesuai dengan latar belakang yang telah diuraikan diatas, maka rumusan masalah yang didapatkan, yaitu “Apakah terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian beberapa dosis salep ekstrak buah mengkudu pada luka insisi pada tikus?”.

1.2.2 Permasalahan khusus

- 1) Apakah terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian basis salep dan dosis salep ekstrak buah mengkudu 10% ?
- 2) Apakah terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian basis salep dan dosis salep ekstrak buah mengkudu 20% ?
- 3) Apakah terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian basis salep dan dosis salep ekstrak buah mengkudu 30% ?
- 4) Apakah terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 10% dan 20% ?
- 5) Apakah terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 10% dan 30% ?

- 6) Apakah terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 20% dan 30%?
- 7) Apakah terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 10% dan salep gentamisin?
- 8) Apakah terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 20% dan salep gentamisin?
- 9) Apakah terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 30% dan salep gentamisin?

1.3 Tujuan penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Mengetahui adanya perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian beberapa dosis salep ekstrak buah mengkudu pada luka insisi pada tikus.

1.3.2 Tujuan khusus

- 1) Menganalisis perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian basis salep dan dosis salep ekstrak buah mengkudu 10%.
- 2) Menganalisis perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian basis salep dan dosis salep ekstrak buah mengkudu 20%.
- 3) Menganalisis perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian basis salep dan dosis salep ekstrak buah mengkudu 30%.
- 4) Menganalisis perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 10% dan 20%.
- 5) Menganalisis perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 10% dan 30%.

- 6) Menganalisis perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 20% dan 30%.
- 7) Menganalisis perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 10% dan salep gentamisin.
- 8) Menganalisis perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 20% dan salep gentamisin.
- 9) Menganalisis perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 30% dan salep gentamisin.

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat bagi penelitian

- 1) Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai efek salep ekstrak buah mengkudu terhadap penyembuhan luka insisi ditinjau dari jumlah kolagen pada tikus.
- 2) Sebagai bahan rujukan untuk pengembangan lebih lanjut tentang pemanfaatan buah mengkudu oleh peneliti selanjutnya,

1.4.2 Manfaat bagi masyarakat

- Memberikan informasi pada masyarakat terhadap pemanfaatan buah mengkudu dalam penyembuhan luka insisi.

1.5 Keaslian penelitian

No.	Peneliti	Judul	Metode penelitian	Hasil
1.	Indah Puti Rahmayani Sabirin, dkk. 2013. MKB. 2013;45(4):226–33 ⁹	<i>Peran Ekstrak Etanol Topikal Daun Mengkudu (Morinda citrifolia L.) pada Penyembuhan Luka Ditinjau dari Imunoekspresi CD34 dan Kolagen pada Tikus Galur Wistar</i>	Eksperimental	Hasil penelitian menunjukkan penyembuhan luka dengan ekstrak etanol daun mengkudu pada kelompok perlakuan cenderung lebih baik.
2.	Sulistiowati N.A. 2009. Karya tulis ilmiah. ¹³	<i>Pengaruh Sari Buah Mengkudu (Morinda citrifolia L.) Terhadap Kadar Gula Darah Penderita Diabetes Mellitus Tipe II</i>	Eksperimental	Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara selisih nilai <i>pretest-posttest</i> pada kelompok eksperimen dan kontrol.
3.	Febrianti F.Y.W. 2002. Karya tulis ilmiah. ¹⁴	<i>Daya Antiinflamasi air Perasan Buah Mengkudu (Morinda citrifolia L.) pada Mencit Jantan.</i>	Eksperimental	Air perasan buah mengkudu (<i>Morinda citrifolia L.</i>) mempunyai daya antiinflamasi

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Luka insisi

Luka insisi dapat didapatkan oleh karena insisi ketika dilakukan tindakan operasi atau secara tidak sengaja oleh benda tajam seperti pisau atau serpihan kaca. Setelah perdarahan berhenti oleh proses hemostasis, luka ini dapat ditutup. Hal ini diketahui sebagai penutupan primer, namun luka-luka superfisial harus juga dilakukan eksplorasi luka dengan baik karena benda asing yang tidak dikeluarkan dapat menyebabkan infeksi ataupun gangguan pada jaringan sekitarnya.⁵

2.2 Penyembuhan luka

Penyembuhan luka berperan untuk restorasi dari integritas jaringan yang rusak. Penyembuhan luka kulit, yang umumnya digunakan untuk menggambarkan prinsip menyeluruh dari penyembuhan luka, secara umum dibagi kedalam tiga fase meliputi fase inflamasi, fase proliferasi dan fase *remodeling*. Masing-masing fase-fase ini diperantarai oleh beberapa sel, sitokin dan *growth factors*.¹⁵ (**Tabel 2.1**)

Tabel 2.1. Fase-fase penyembuhan luka¹⁶

Fase	Karakteristik	Komponen utama
Inflamasi	Vasolidasi	Netrofil
	Ekstravasasi	Monosit
	Edema	Makrofag
Proliferasi	Penutupan luka	Keratinosit
	Revaskularisasi	Fibroblas
Remodeling	Maturasi luka	Kolagen
	Bekas luka	Elastin Fibroblas

2.2.1 Fase inflamasi

Kerusakan jaringan dan sel memicu kaskade proses penyembuhan luka. Adanya perdarahan diikuti pembekuan darah lalu bekuan darah akan lisis. Kontak darah dengan kolagen akan memicu agregasi trombosit dan koagulasi. Sumbatan persilangan fibrin-fibronektin akan terbentuk untuk mencegah perdarahan. Sumbatan ini akan membentuk matriks untuk deposisi kolagen dan migrasi seluler dengan lisis bekuan darah dan penggantian dengan jaringan granulasi. Tromboksan dan prostaglandin yang dikeluarkan oleh sel yang rusak menyebabkan vasokonstriksi (5-15 menit) yang juga berperan dalam hemostasis.⁵

Netrofil akan bermigrasi ke lokasi luka dalam satu jam dan merupakan sel dominan pada 48 jam pertama. Netrofil akan memfagosit debris dan bakteri. Setelah 24 jam, netrofil akan diikuti makrofag, yang akan melanjutkan memfagosit debris dan berperan penting dalam produksi *growth factor* dan sitokin untuk fase proliferasi. Durasi dari fase inflamasi normalnya adalah sekitar 3 hari. Faktor-faktor yang mengintervensi proses respon ini dapat mengganggu atau memperlambat penyembuhan.^{5,15}

2.2.2 Fase proliferasi

Fase proliferasi terjadi sejak hari ketiga dari perlukaan. Proses utama selama fase ini terfokus pada pembentukan jaringan baru untuk mengisi ruang luka. Sel utama selama fase ini adalah fibroblas, sel jaringan ikat yang mensintesis dan mensekresi kolagen, proteoglikan dan glikoprotein yang dibutuhkan untuk penyembuhan luka. Fibroblas juga memproduksi famili *growth factor* yang menginduksi angiogenesis dan proliferasi serta migrasi sel endotelial. Kolagen,

fibronectin, glikoprotein, glikosaminoglikan dan hialuronan terendapkan untuk membentuk matriks ekstraseluler sementara. Kolagen pada awalnya terendap untuk matriks ekstraseluler sementara namun secara perlahan akan terorientasi pada garis dari tekanan yang memapar luka.²

Kolagen akan menunjang kekuatan dari luka dan sebagai kerangka untuk penempelan seluler dan diferensiasi. Miofibroblas yang merupakan diferensiasi dari fibroblas, akan menempel ke fibronectin lalu bermigrasi ke sudut luka dan akan menempel ke matriks ekstraseluler disana. Kontraksi dari sel ini berperan untuk proses kontraktur luka, yang terjadi pada hari ke 5 -15. Deposisi kolagen dari fibroblas terus berlanjut sejak hari ke-3 dan hari ke-5 hingga ke-7 fibril kolagen menjadi lebih banyak dan mulai menyatukan luka insisi kemudian terus berlanjut hingga bulan ke-6, bergantung pada luas luka. Komponen akhir dari fase proliferasi adalah epitelisasi, yaitu selama sel epitel pada sudut luka berproliferasi untuk membentuk lapisan permukaan baru yang sama dengan yang mengalami kerusakan.^{5,15}

2.2.3 Fase *remodeling*

Setelah deposisi kolagen selesai, vaskularisasi dari luka secara perlahan berkurang dan permukaan bekas luka menjadi lebih pucat karena pembuluh darah berkurang akibat proses apoptosis. Kolagen tipe III yang diendapkan selama fase proliferasi, secara perlahan akan terdegradasi dan digantikan oleh kolagen tipe I yang lebih kuat. Jumlah kolagen yang akhirnya terbentuk bergantung pada volume awal dari jaringan granulasi. Pada luka terbuka dengan celah epitel, bekas luka dapat menjadi besar. Pada beberapa kasus, keseimbangan antara sintesis kolagen

dan degradasinya dapat terganggu, sehingga kolagen terus diproduksi dan menghasilkan tampilan merah, kasar dan hipertropik. Sintesis kolagen yang meluas ke jaringan sekitar disebut keloid.^{5,15}

2.3 Kolagen

Kolagen terdiri dari famili fibrosa glikoprotein yang hanya ada pada matriks ekstraseluler. Kolagen ditemukan pada manusia serta juga hewan, dan tercatat karena tingginya kekuatan ketegangan, sehingga tahan terhadap gaya tarikan. Kolagen dibentuk secara primer oleh fibroblas, sel yang ditemukan pada berbagai jaringan ikat, namun juga sel otot halus dan sel epitelial. Diketahui terdapat 30 tipe kolagen pada manusia.^{2,17} Tipe utama dari kolagen adalah tipe I, II dan III; bersamaan ketiganya membentuk 80% kolagen tubuh. Tipe I dan III merupakan tipe kolagen yang penting dalam penyembuhan luka.¹⁸

Setiap kolagen terestriksi pada lokasi tertentu dalam tubuh, namun dua atau lebih sering ditemukan pada satu matriks ekstraseluler membentuk kelompok-kelompok famili kolagen. Terdapat banyak perbedaan antar kelompok kolagen, namun paling tidak memiliki dua persamaan dalam sifat struktural. Persamaan pertama adalah semua molekul kolagen terdiri dari tiga rantai polipeptida, yaitu rantai alfa. Persamaan kedua adalah pada sepanjang strukturnya, rantai polipeptida dari molekul kolagen saling mengitari untuk membentuk trias heliks yang seperti batang.¹⁹

Kolagen berperan penting pada setiap fase penyembuhan luka karena fungsi kemotaktiknya. Kolagen menarik sel-sel seperti fibroblas dan keratinosit ke lokasi luka, sehingga mendukung proses debridemen, angiogenesis dan reepitelisasi.²⁰

Fungsi utama kolagen adalah sebagai rangka pada jaringan ikat, kebanyakan dalam bentuk tipe I, II dan III. Kolagen tipe III pada awal penyembuhan luka akan menuju dasar luka, kemudian proporsi kolagen tipe I meningkat sebagaimana pembentukan jaringan parut berlanjut dan terjadi *remodeling* jaringan. Kolagen mulai terbentuk pada hari ke- 3 sejak mulai terjadi penyembuhan luka kemudian jumlahnya akan tampak nyata di hari ke-5 hingga hari ke-7 dan pada hari ke-14 jumlahnya mulai stabil dan terorganisir, namun hal ini juga bergantung pada luas luka. Deposit dan *remodeling* kolagen berperan untuk meningkatkan kekuatan ketegangan dari luka. Struktur epitel dapat sembuh dengan proses regenerasi, namun jaringan ikat tidak dapat dan bergantung pada proses perbaikan, kebanyakan oleh pembentukan jaringan parut kolagenosa.^{10,19}

2.4 *Morinda citrifolia* L.

Morinda citrifolia L., diketahui secara komersial sebagai noni atau dengan nama mengkudu di Indonesia. Nama saintifik yang digunakan adalah *Morinda citrifolia* L. Nama botani untuk genusnya diturunkan dari dua kata Latin *morus*, mulberi, dan *indicus*, India, dengan referensi dari kesamaan mengkudu dengan mulberi (*Morus alba*). Nama spesies (*citrifolia*) mengindikasikan kemiripan daun mengkudu dengan daun beberapa spesies citrus. Tumbuhan ini tumbuh secara luas disepanjang Pasifik dan merupakan salah satu sumber yang signifikan untuk pengobatan tradisional dalam masyarakat kepulauan Pasifik. Pohon hijau ini merupakan tumbuhan natif dari bagian tenggara Asia yaitu Indonesia hingga Australia. Mengkudu tercatat sebagai tumbuhan yang tahan terhadap kondisi ekstrem. Mengkudu dapat tumbuh pada tanah infertil, asam hingga basa. Mengkudu

tumbuh secara alami pada lokasi yang relatif kering hingga lembab atau daerah rendah yang dekat dengan pantai. Toleransi lingkungan mengkudu juga meliputi paparan dari angin, api, banjir dan kondisi salin. Mengkudu diketahui sangat tahan dan sulit mati, dan salah satu tumbuhan yang pertama kali mengkolonisasi area pembuangan dan bekas aliran lava. Seluruh bagian mengkudu memiliki kegunaan secara tradisional ataupun modern, meliputi akar (pewarna, obat), batang (kayu bakar, peralatan) dan daun serta buah (makanan, obat).^{8,20}



Gambar 2.1 Buah mengkudu matang dan belum matang.
Nelson S.C.²⁰

2.4.1 Pengaruh Kandungan Buah Mengkudu Terhadap Jumlah Kolagen

Bagian dari tanaman mengkudu, yaitu buah, diketahui mengandung berbagai zat aktif yang dapat menunjang proses penyembuhan luka dan meningkatkan sintesis kolagen. Beberapa kandungan buah mengkudu antara lain mengandung zat nutrisi dan zat aktif seperti β -karoten, flavonoid, skopoletin serta glikosida iridoid. Kandungan ekstrak buah mengkudu meliputi zat nutrisi berupa

mikronutrien dan zat aktif berupa β -karoten serta flavonoid dapat menunjang proses penyembuhan luka insisi dengan fungsi antioksidan.^{8,10}

Zat skopoletin diketahui berfungsi sebagai antiinflamasi, yaitu dengan menurunkan ekspresi *Cyclooxygenase-2* (COX-2). Zat skopoletin juga dapat menghambat fungsi kolagenase dan elastase, sebagai fungsi perlindungan protein matriks ekstraseluler. Glikosida iridoid pada buah mengkudu, yaitu asam deasetilasperulosidik dan asam asperulosidik diketahui dapat meningkatkan sintesis kolagen kulit dan juga dapat meningkatkan penggantian stratum korneum kulit. Glikosida iridoid juga dapat menghambat kerja *nuclear factor- κ B* (NF- κ B). NF- κ B berfungsi untuk aktivasi kolagenase, seperti *matrix metalloproteinase-1* (MMP-1) dan menurunkan sintesis kolagen tipe 1.^{8,10}

Selain kandungan buah mengkudu diatas, tanaman mengkudu diketahui juga mengandung lebih dari 160 fitokimia dengan 120 komponennya yang telah terbukti bersifat menguntungkan secara medis dan aktif secara biologik. Buah mengkudu sendiri mengandung berbagai komponen meliputi alizarin, deasetilasperulosidik, asam kaprilik, asam kaproik, asam heksaniok hingga etil kaproat. Ekstrak buah mengkudu juga mengandung mikronutrien, komponen volatil dan non-volatil, keton, lakton terpenoid dan prokseronin.⁸

2.5 Tikus Wistar

Tikus Wistar merupakan salah satu tikus paling populer penggunaannya pada laboratorium penelitian. Tikus Wistar memiliki karakteristik meliputi kepala lebar, telinga panjang dan panjang ekor yang selalu lebih pendek dari panjang tubuhnya. Tikus Wistar merupakan biakan tikus albino dari spesies *Rattus norvegicus*. Biakan

ini dikembangkan oleh Institut Wistar pada tahun 1906 untuk penelitian biologis dan medis. Lebih dari setengah dari seluruh biakan tikus penelitian merupakan turunan dari koloni yang dibiakan oleh seorang ahli fisiologis bernama Henry Donaldson, administrator saintifik bernama Milton J. Greenam dan peneliti genetik bernama Helen Dean King. Penggunaan tikus Wistar memungkinkan para peneliti untuk menginvestigasi etiologi, evolusi penyakit dan terapi yang tidak dapat diteliti pada manusia karena prosedur yang dapat mencederai seorang manusia sehingga melanggar etik.¹²

Tikus Wistar jantan merupakan hewan coba yang sering digunakan untuk model manusia dalam penelitian bioseluler.²¹ Jenis tikus lain, tikus Sprague-Dawley dan F344 seringkali digunakan untuk penelitian perilaku karena memiliki kesamaan dengan perilaku manusia depresi. Tikus jenis Lewis lebih sering digunakan untuk penelitian penyakit diabetes mellitus dan autoimun.²²

2.6 Gentamisin

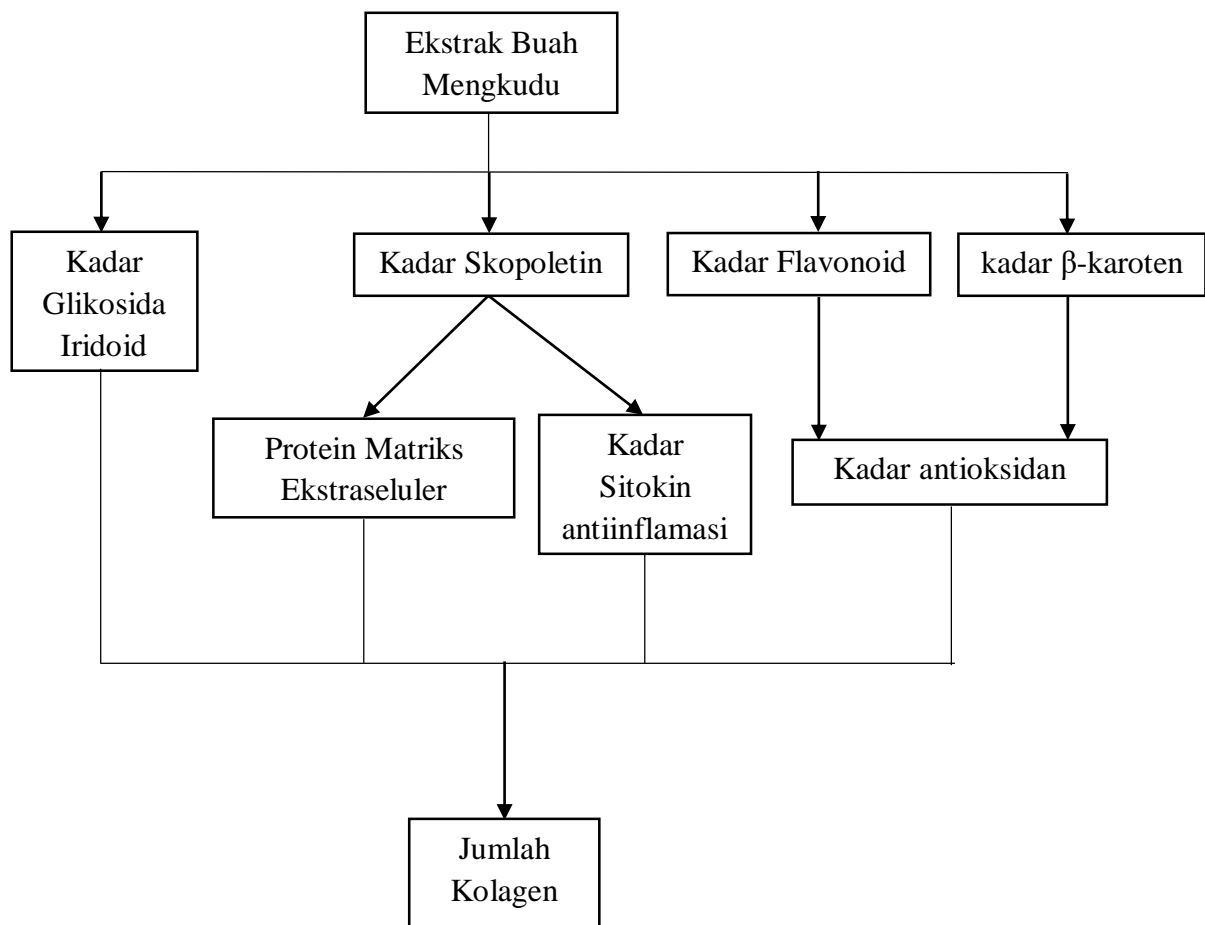
Salep gentamisin sulfat merupakan sediaan antibiotik spektrum luas untuk penggunaan topikal. Gentamisin sulfat bekerja sangat efektif dalam perawatan infeksi primer maupun sekunder pada kulit meliputi impetigo, folikulitis, dermatitis, abses kulit hingga luka insisi. Hasil perawatan yang baik dari penggunaan salep gentamisin telah diperoleh pada penghentian infeksi, ulkus kulit, luka bakar superfisial terinfeksi, luka sengatan atau gigitan serangga terinfeksi, luka laserasi atau abrasi terinfeksi dan luka insisi bedah minor.²³

Penggunaan gentamisin lokal secara topikal diketahui efektif untuk menurunkan jumlah bakteri. Perawatan dengan gentamisin dapat menurunkan

colony forming units (CFUs) dibandingkan penggunaan sefazolin.⁶ Gentamisin sulfat secara khusus baik untuk terapi infeksi *Pseudomonas sp.*, namun formulasi tertentu, termasuk gentamisin basis krim dan larutan dapat menunjang kontraksi dan epitelisasi luka.⁷

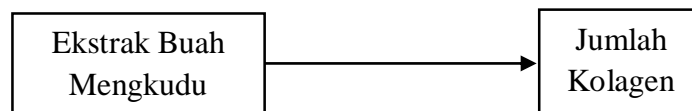
BAB III
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka teori



Gambar 3.1. Kerangka teori

3.2 Kerangka konsep



Gambar 3.2. Kerangka konsep

3.3 Hipotesis

3.3.1 Hipotesis mayor

Terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian beberapa dosis salep ekstrak buah mengkudu pada luka insisi pada tikus.

3.3.2 Hipotesis minor

- 1) Terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian basis salep dan dosis salep ekstrak buah mengkudu 10%.
- 2) Terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian basis salep dan dosis salep ekstrak buah mengkudu 20%.
- 3) Terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian basis salep dan dosis salep ekstrak buah mengkudu 30%.
- 4) Terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 10% dan 20%.

- 5) Terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 10% dan 30%.
- 6) Terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 10% dan salep gentamisin.
- 7) Terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 20% dan 30%.
- 8) Terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 20% dan salep gentamisin.
- 9) Terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 30% dan salep gentamisin.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Ruang lingkup penelitian

Ruang lingkup penelitian ini adalah ilmu farmakologi, ilmu herbal dan ilmu bedah.

4.2 Tempat dan waktu penelitian

4.2.1 Tempat penelitian

- 1) Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang
- 2) Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Wahid Hasyim Semarang
- 3) Laboratorium Patologi Anatomi RS Islam Agung Semarang

4.2.2 Waktu penelitian

Penelitian dilakukan selama bulan Juli-November 2019.

4.3 Jenis dan rancangan penelitian

Jenis penelitian ini adalah dengan menggunakan desain penelitian *true experimental*, dengan rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design*.

4.4 Populasi dan sampel

4.4.1 Populasi

Populasi penelitian yang digunakan adalah tikus jantan galur Wistar.

4.4.2 Sampel

Sampel penelitian menggunakan hewan coba sebanyak 30 ekor.

4.4.2.1 Kriteria inklusi

- Tikus jantan galur Wistar

- Berat tubuh 150-250 gram
- Bergerak aktif
- Belum pernah digunakan untuk penelitian

4.4.2.2 Kriteria eksklusi

- Tampak sakit (tampak tidak aktif, feses cair, terdapat benjolan) selama masa adaptasi 7 hari
- Terinfeksi selama masa perlakuan berlangsung
- Mati selama masa perlakuan berlangsung

4.4.3 Cara sampling

Cara sampling pada penelitian ini menggunakan metode randomisasi sederhana (*simple random sampling*).

4.4.4 Besar sampel

Perhitungan besar sampel pada penelitian ini menggunakan rumus Federer, yaitu :

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

t adalah jumlah kelompok dan n adalah jumlah sampel. Pada penelitian ini akan dibagi menjadi 5 kelompok, sehingga banyak sampel yang dibutuhkan adalah sebagai berikut:

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

$$(5-1) (n-1) \geq 15$$

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

$$4n-4 \geq 15$$

$$n \geq 4.75$$

$$n \geq 5$$

Rumus besar sampel untukantisipasi kemungkinan sampel terpilih mengalami *drop out* :

$$\begin{aligned} n' &= (n/1-f) \\ &= (5/1-0.1) \\ &= (5/0.9) \\ &= 5.56 = 6 \\ &= 6-5 = 1 \text{ ekor} \end{aligned}$$

Keterangan :

n' = besar sampel koreksi

n = besar sampel awal

f = perkiraan proporsi *drop out*, kira-kira 10% ($f=0,1$)

Setelah dimasukan kedalam rumus replikasi federer, dilanjutkan dengan rumus *Resource Equation Method*, sehingga dibutuhkan 25 ekor tikus untuk penelitian ini dan ditambahkan dengan jumlah sampel cadangan sebanyak 10% dari total sampel sehingga setiap kelompok ditambahkan 1 ekor tikus dan didapatkan total sampel tikus sejumlah 30 tikus.²⁴

4.5 Variabel penelitian

4.5.1 Variabel bebas

Ekstrak buah mengkudu 10%, 20% dan 30%.

4.5.2 Variabel terikat

Jumlah kolagen.

4.6 Definisi operasional

No	Variabel	Unit	Skala
1.	Ekstrak buah mengkudu Buah mengkudu kering dibuat ekstrak dengan pelarut etanol 96% secara maserasi, lalu dibuat salep basis hidrokarbon (vaselin albumin dan adaplene) dengan konsentrasi ekstrak buah mengkudu 10%, 20% dan 30%. Salep ekstrak buah mengkudu dioleskan sebanyak \pm 0,5 gram ke luka insisi hewan coba 2 kali/ 24 jam selama 7 hari menggunakan sendok tanduk untuk pengoleskan.	Gram	Numerik
2.	Jumlah kolagen Jumlah kolagen dihitung melalui pengamatan pada biopsi jaringan kulit tikus dengan pewarnaan <i>Sirrius Red</i> , sehingga serat kolagen tampak berwarna merah muda. Pengamatan menggunakan mikroskop Olympus dengan pembesaran 40x lalu dihitung menggunakan <i>software image-J</i> .	Persen	Numerik

4.7 Cara pengumpulan data

4.7.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kertas cokelat, kassa steril, masker, lap, kapas, plester, *handscoon*, alkohol 70%, alkohol swab, lidocain ampul, *aquabidest*, sterofom, kloroform, formalin 10% dan etanol 96%.

4.7.2 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang tikus, sekam, tempat minum tikus, tempat makan tikus, gunting rambut, bisturi no. 15, bisturi no. 20, pinset cirurgis, gunting anatomis, sendok tanduk, mangkok aluminium,

gunting plester, spuit 1 cc, jarum no. 27, toples kloroform, toples ekstraksi, pot salep, jangkar ukur, pensil dan kotak plastik.

4.7.3 Jenis data

Jenis data pada penelitian ini adalah data primer yaitu data diperoleh langsung oleh peneliti secara langsung dari sumber datanya.

4.7.4 Cara kerja

1. Persiapan

Persiapan bahan buah mengkudu dan adaptasi hewan coba tikus jantan galur Wistar selama 7 hari.

2. Pembuatan ekstrak

Buah mengkudu dengan karakteristik kulit berwarna putih kekuningan dan dagingnya keras dipilih sebanyak 500 g, lalu dibersihkan, dipotong-potong dan dikeringkan pada suhu 50⁰C selama 8 jam atau lebih hingga kandungan airnya 2%, kemudian dihaluskan dengan blender.²⁵ Maserasi ekstrak dilakukan dengan 5000 ml pelarut etanol 96%, kemudian didiamkan selama 3 hari, dan diaduk selama 10 menit setiap hari. Lakukan penyaringan, kemudian lakukan pengentalan ekstrak dengan *waterbath* pada suhu kurang dari 60⁰C dan dan diaduk hingga mengental dan didapatkan ekstrak buah mengkudu.

3. Pembuatan salep

Formula standard dasar basis salep sebagai berikut:

R/ Adeps lanae 15 g

Vaselin albimin 85 g

M f salep 100 g

Campurkan dengan cara diaduk hingga homogen antara basisi krim dengan ekstrak mengkudu dan dibuat sediaan 50 gram. Komposisi krim dapat dilihat sebagai berikut:

Tabel 4.1. Derajat komposisi ekstrak buah mengkudu dengan basisnya

Komposisi ekstrak buah mengkudu	Berat ekstrak buah mengkudu (gram)	Berat vaselin albumin (gram)	Berat adaplene (gram)
10%	5	38,25	6,75
20%	10	34	6
30%	15	29,75	5,75

4. Pembuatan luka insisi

Luka insisi berlokasi pada punggung tikus. Persiapan sebelum perlakuan meliputi mencukur rambut pada punggung tikus dengan gunting cukur atau bisturi, kemudian dibersihkan dengan alkohol 70%. Sebelum perlakuan luka insisi dilakukan anastesi infiltrasi lidocain sebanyak 0,2 cc pada daerah yang akan dilakukan perlakuan insisi. Desinfektan dengan alkohol swab kemudian lakukan insisi pada area yang sudah ditentukan dengan *scalpel* dengan bisturi. Luka insisi diukur menggunakan jangka mistar dengan panjang 3 cm dan dengan kedalaman \pm 0,5 cm atau hingga subcutis. Apabila terdapat perdarahan bisa dibersihkan dengan *aquabidest*.

5. Pengelompokkan tikus dan perlakuan pengobatan

Hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus jantan galur Wistar dengan luka insisi yang sama :

K0. Kontrol negatif (diberikan salep basis krim)

P1. Pemberian salep ekstrak buah mengkudu 10%

P2. Pemberian salep ekstrak buah mengkudu 20%

P3. Pemberian salep ekstrak buah mengkudu 30%

K1. Kontrol positif (diberikan salep gentamisin)

Pemberian salep pada luka sebanyak 2 kali sehari setiap pagi dan sore menggunakan sendok tanduk yang langsung dioleskan pada area luka insisi. Kemudian luka ditutup dengan kassa dan diplester. Penempatan tikus didalam setiap kandang berjumlah 1 ekor tikus jantan galur Wistar.

6. Pengamatan penelitian

Seluruh kelompok hewan coba akan diterminasi pada hari ke-7. Penelitian kemudian dilakukan di laboratorium patologi anatomi di RS Islam Sultan Agung, Semarang.

I. Pembuatan preparat histologi

Pembuatan sediaan histologi dibagi menjadi empat tahapan yaitu tahap fiksasi, dehidrasi, *clearing* dan *embedding*. Tahap fiksasi dilakukan untuk mencegah kerusakan pada jaringan, menghentikan proses metabolisme, mengawetkan komponen sitologi dan histologi, mengeraskan materi yang lunak agar jaringan dapat diwarnai. Kulit hasil biopsi direndam dalam formalin 10% selama 24 jam kemudian dilakukan *trimming* pada jaringan yang diambil. Tahap dehidrasi dilakukan dengan cara merendam jaringan yang menggunakan larutan etanol secara bertingkat 30%, 70%, 90%, 96% dan 100%

masing-masing 2 kali selama 2 jam. Proses dehidrasi berjalan dalam kondisi teragitasi pada suhu 4⁰C. Tahap penjernihan (*clearing*) ini dengan memasukan jaringan ke dalam *clearing agent* yaitu *xylol I* selama 20 menit dan *xylol II* selama 30 menit. Tahap *embedding* diawali dengan proses infiltrasi sebanyak 2 kali yaitu dengan parafin murni (*histoplast*) cair dimasukkan dalam inkubator bersuhu 58-60⁰C dan jaringan ditanam ke dalam parafin cair sampai memadat.waktu yang dibutuhkan selama satu hari. Setelah selesai proses diatas, jaringan di insisi dengan mikrotom pada ketebalan $\pm 5\mu\text{m}$. Sediaan disimpan dalam inkubator pada 38-40⁰C selama 24 jam.²⁶

II. Pewarnaan kolagen dengan *Sirius red*

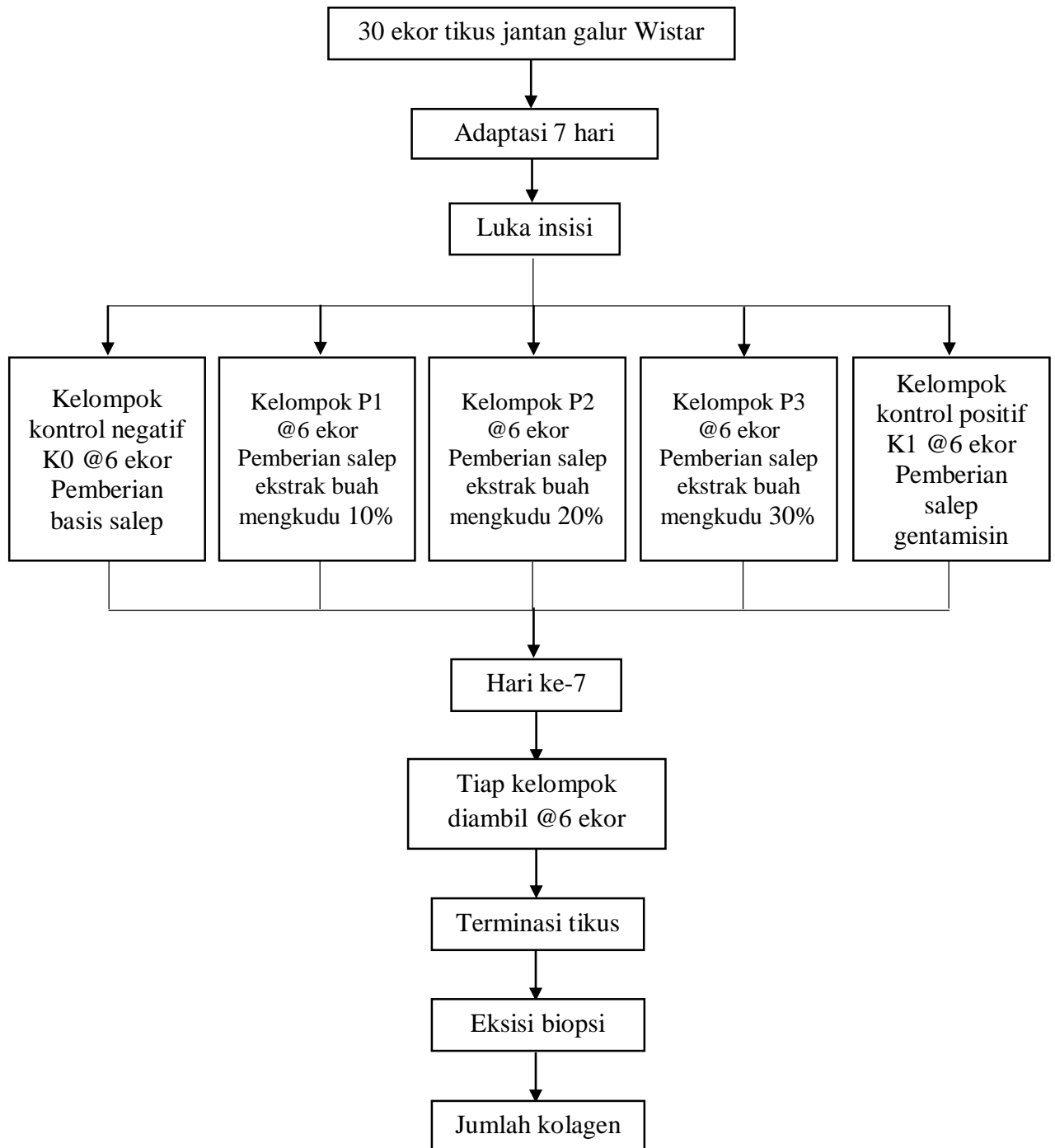
Sebelum dilakukan pengecatan, pada preparat dilakukan deparafinisasi dan rehidrasi meliputi perendaman dengan larutan *xylene* 2 kali selama 5 menit, etanol 100% selama 2 menit, etanol 96% selama 2 kali 2 menit, etanol 70% selama 2 menit, dan *aquadest* selama 2 menit. Selanjutnya dilakukan pewarnaan inti sel dengan hemaktosili gill selama 10 menit dan dicuci dengan air mengalir selama 10 menit. Dilakukan pewarnaan dengan *picro Sirius red* selama 1 jam yang bertujuan memberikan pewarnaan mendekati seimbang. Tahap selanjutnya dilakukan pencucian dengan air asam sebanyak 2 kali. Air yang berlebihan selanjutnya dihilangkan secara fisik dengan digoyangkan perlahan. Dehidrasi dalam etanol 70%

selama 10 detik, etanol 96% selama 2 kali 10 detik, etanol 100% selama 10 detik dan *xylene* 2 kali 2 menit, keringkan selama 2 jam dalam suhu ruang, lalu *mounting* pada medium berbasis *xylene*. Pengamatan hasil jumlah kolagen dilakukan dengan metode analisis digital dengan perbesaran 40x. Perhitungan jumlah ekspresi kolagen menggunakan piranti lunak *Adobe Photoshop CS3* dan *Image J*. Jaringan kolagen yang tampak berwarna merah terang dan jaringan selain warna merah disingkirkan lalu dihapus. Ekspresi kolagen dihitung sebagai persentase area piksel kolagen yang berwarna merah dibandingkan dengan piksel seluruh jaringan.²⁷

7. Lama perlakuan

Lama perlakuan terhadap hewan coba selama 14 hari, terdiri atas 7 hari pertama untuk waktu adaptasi hewan coba didalam kandang dan 7 hari kedua adalah waktu pelaksanaan perlakuan terhadap hewan coba.

4.8 Alur Penelitian



Gambar 4.1. Alur penelitian

4.9 Analisis data

Analisis data pada penelitian ini menggunakan piranti lunak SPSS *for windows* dan kemudian dinyatakan dalam rerata \pm simpang baku (*mean \pm SD*). Kemudian diuji normalitasnya dengan *Shapiro-Wilk* dan homogenitasnya dengan *Levene*. Hasil yang didapatkan pada uji normalitas yaitu didapatkan hasil bermakna $p > 0,05$ dan uji homogenitas didapatkan hasil homogen $p > 0,05$ maka dilanjutkan dengan uji *independent t-test* untuk masing-masing data.

4.10 Etika penelitian

Ethical clearance penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang dengan nomor 01/EC/H/FK-UNDIP/I/2020. Perlakuan terhadap tikus menggunakan prinsip etis terhadap hewan meliputi *replacement*, *reduction* dan *refinement*. Penelitian dilakukan pada tikus dibanding pemberian luka insisi kepada manusia sebagai implementasi prinsip etik yaitu *replacement*. *Reduction*, yaitu dengan menggunakan hewan coba dengan jumlah yang minimal, menggunakan rumus federer didapatkan tiap kelompok berjumlah ≥ 5 sampel dan digunakan 5 sampel, lalu untukantisipasi *drop out* menggunakan rumus *research equation method* didapatkan jumlah kelompok koreksi adalah 6 sampel, dengan tambahan 1 sampel tiap kelompok. *Refinement*, yaitu mengurangi penderitaan hewan coba dengan memberi makan 2 kali sehari, membersihkan kandang secara berkala, menyediakan minum pada kandang serta memberikan anestesi lokal dengan injeksi lidocain 2cc sebelum perlakuan

luka insisi dan terminasi dengan agen anestetik berupa kloroform sebelum pengambilan jaringan.

HALAMAN INI TIDAK TERSEDIA

BAB V & VI

DAPAT DIAKSES MELALUI

UPT PERPUSTAKAAN UNWAHAS

BAB VII

SIMPULAN DAN SARAN

6.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

1. Tidak terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian basis salep dan dosis salep ekstrak buah mengkudu 10%.
2. Terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian basis salep dan dosis salep ekstrak buah mengkudu 20%.
3. Terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian basis salep dan dosis salep ekstrak buah mengkudu 30%.
4. Terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 10% dan 20%.
5. Terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 10% dan 30%.
6. Terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 10% dan salep gentamisin.
7. Tidak terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 20% dan 30%.
8. Tidak terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 20% dan salep gentamisin.

9. Tidak terdapat perbedaan jumlah kolagen sesudah pemberian dosis salep ekstrak buah mengkudu 30% dan salep gentamisin.

6.2 Saran

Saran untuk penelitian ini dan penelitian selanjutnya :

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui jumlah kolagen setelah perlakuan ekstrak buah mengkudu pada hari ke-14 ketika maturasi luka lebih sempurna untuk mengetahui peningkatan jumlah kolagen dibanding hari ke-7.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui kemampuan masing-masing zat aktif yang terkandung dalam ekstrak buah mengkudu yang lebih spesifik berpengaruh terhadap penyembuhan luka insisi dan meningkatkan jumlah kolagen.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sjamsuhidayat, R. De Jong, W. Buku Ajar Ilmu Bedah. Jakarta:EGC. 2007: 95-6
2. Kumar V. Abbas A.K. Aster J.C. Robbins Basic Pathology Ninth Edition. Philadelphia: Elsevier. 2013: 287
3. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Laporan Nasional Riskesdas 2018. Jakarta (Indonesia): Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2019: 250,254
4. Song, HS et al. The Effect of Caffeic Acid on Wound Healing in Skin-incised Mice. Korean J Physiol Pharmacol[Internet]. 2008[cited 2019 Apr 24]; 12(6): 343-7.
5. Henry M.M, Thompson J.N. Clinical Surgery Third Edition. London: Saunders Elsevier; 2012: 95-101
6. Cavanaugh D.L, Berry J, Yarboro S.R, Dahnert L.E, Better Prophylaxis Against Surgical Site Infection with Local as Well as Systemic Antibiotics. J Bone Joint Surg Am. 2009[cited 2019 Jun 25];91(8):1907-12
7. Fahie M.A, Shettko D. Evidence-Based Wound Management: A Systematic Review of Therapeutic Agents to Enhance Granulation and Epithelialization. Vet Clin Small Anim. 2007[cited 2019 Jun 25]: 37(3):559–577
8. Ali M. Kenganora M, Manjula N . Health Benefits of *Morinda citrifolia* (Noni): A Review. Pharmacogn J. 2016[cited 2019 Apr 24]: 8(4):321-331.
9. Sabirin I.P.R, Maskoen A.M, Hernowo B.S. Peran Ekstrak Etanol Topikal Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) pada Penyembuhan Luka Ditinjau dari Imunoekspresi CD34 dan Kolagen pada Tikus Galur Wistar. MKB. 2013: 45(4):227-32
10. West B.J. The Influence of *Morinda citrifolia* (Noni) Fruit Juice on Collagen Deposition in the Skin: A Minireview. Journal of Biosciences and Medicines. 2018: 6: 4-5
11. Innaccone P.M. Jacob H.J. Rats![Internet]. 2009: 2-4
12. Alexandru I. Experimental use of animals in research spa. Balneo-Research Journal. 2011: 2(2):65.
13. Sulistiowati N.A. Pengaruh Sari Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Terhadap Kadar Gula Darah Penderita Diabetes Mellitus Tipe II. Karya Tulis Ilmiah. Jurusan Ilmu Kesehatan Masyarakat Fakultas Ilmu Keolahragaan Universitas Negeri Semarang. 2009: 1-2
14. Febrianti F.Y.W. Daya Antiinflamasi air Perasan Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) pada Mencit Jantan. Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta. 2002: 1-3
15. Grossman S.C, Porth C.M. Porth's Pathophysiology Concepts Of Altered Health States Ninth Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2014: 321-2

16. Rowan M.P. et.al. Burn wound healing and treatment: review and advancements. *Crit Care*. 2015: 19(243)1-2
17. Karp G. *Cell and Molecular Biology Concepts and Experiments* 7th edition. United States: Wiley; 2013: 238-240
18. Hochstein A.O, Bhatia A. *Collagen: Its Role in Wound Healing*. c2014: 103-4
19. Rangaraj A, Harding K, Leaper D. Role of collagen in wound management. *Wound UK [Internet]*. 2011;7(2): 54
20. Nelson S.C. *Morinda citrifolia L. Species Profiles for Pacific Island Agroforestry*. 2003: 1-8.
21. Johnson M. *Laboratory Mice and Rats. MATER METHOD*. 2012; 2: 113.
22. Carere C. Maestri D. *Animal Personalities: Behavior, Physiology, and Evolution*. Chicago: University of Chicago Press; 2013: 463-4
23. E. Fougera. Label: Gentamicin Sulfate. Fougera Pharmaceuticals Inc; 2014: 1-4
24. Charan J. Kantharia N. D. How to Calculate Sample Size in Animal Studies. *Journal of Pharmacotherapeutics*. 2013. 4(4): 5
25. Sholehah, DN. Pengukuran Skopoletin Pada Beberapa Tingkat Kematangan Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn) Dengan Metode KLT Densitometri. *Jurnal Agrovigor*. 2010. 3 (1) : 7
26. Clifton N. Slaoui M. Fiette L. *Histopathology Procedure: From Tissue Sampling to Histopathological Evaluation*. *Method in Molecular Biology*. 2011; 691, 69-82.
27. Lattouf et. al. Picosirius Red Staining: A Useful Tool To Appraise Collagen Networks In Normal And Pathological Tissues. *Journal of Histochemistry*. 2014; 62(10) 751-8.
28. Stepcevic T, et al. Effect of different flavonoids on collagen synthesis in human fibroblasts. *Plant Foods Hum Nutr*. 2006: 27-32
29. Bayerl C. Beta-carotene in dermatology: Does it help?. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat*. 2008(4): 160-4