

**EFEKTIVITAS EMULSI GEL MINYAK BUAH MERAH
(*Pandanus Conoideus* Lamk.) TERHADAP KEPADATAN
KOLAGEN PADA PENYEMBUHAN LUKA INSISI TIKUS
(*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Oleh:

MAWAR YULI MUKTISARI

19930083



PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2023

**EFEKTIVITAS EMULSI GEL MINYAK BUAH MERAH
(*Pandanus Conoideus* Lamk.) TERHADAP KEPADATAN
KOLAGEN PADA PENYEMBUHAN LUKA INSISI TIKUS
(*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Diajukan Kepada :

Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam

Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2023

**EFEKTIVITAS EMULSI GEL MINYAK BUAH MERAH
(*Pandanus Conoideus* Lamk.) TERHADAP
KEPADATAN KOLAGEN PADA PENYEMBUHAN
LUKA INSISI TIKUS (*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Oleh :
MAWAR YULI MUKTISARI
NIM. 19930083

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji :
Tanggal 8 Juni 2023

Dosen Pembimbing 1



apt. Mayu Rahmayanti, S.Farm., M.Sc.
NIP. 19920531 20191120 2 256

Dosen Pembimbing 2



Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep., NS., M.Kep.
NIP. 19850617 200912 2 005

Mengetahui,

Ketua Program Studi Farmasi



apt. Abdul Hakim, M.P.L., M.Farm
NIP. 18761214 200912 1 002

HALAMAN PENGESAHAN
EFEKTIVITAS EMULSI GEL MINYAK BUAH MERAH
(*Pandanus Conoideus* Lamk.) TERHADAP KEPADATAN
KOLAGEN PADA PENYEMBUHAN LUKA INSISI TIKUS
(*Rattus norvegicus*)

SKRIPSI

Oleh :
MAWAR YULI MUKTISARI
NIM. 19930083

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi Dan Dinyatakan Diterima
Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi
(S.Farm)

Tanggal 20 Juni 2023

Ketua Penguji : **Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep.,**
NS.,M.Kep.
NIP. 19850617 200912 2 005

(.....)

Anggota Penguji : 1. **apt. Mayu Rahmayanti, S.Farm., M.Sc.**
NIP. 19920531 20191120 2 256

(.....)

2. **apt. Hj. Alifia Putri Febriyanti, S.Farm.,**
M.Farm.Klin
NIP. 19850201 201503 2 004

(.....)

3. **Abdul Wafi, M.Si**
NIP. 19880808 20160801 1 082

(.....)

Mengetahui,

Ketua Program Studi Farmasi



Abdul Hakim, M.Pl., M.Farm
NIP. 18761214 200912 1 002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Mawar Yuli Muktisari

NIM : 19930083

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Judul Skripsi : Efektivitas Emulsi Gel Minyak Buah Merah (*Pandanus Conoideus* Lamk.)
Terhadap Kepadatan Kolagen Pada Penyembuhan Luka Insisi Tikus (*Rattus norvegicus*)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil ide proyek (Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep.,NS.,M.Kep.) bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran dari orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan dan pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka.

Malang, 20 Juni 2023

Yang membuat pernyataan



Mawar Yuli Muktisari

NIM. 19930083

MOTTO

Sungguh ada banyak hal di dunia ini yang bisa jadi kita susah payah menggapainya, memaksa ingin memilikinya, ternyata kuncinya dekat sekali; cukup dilepaskan, maka dia datang sendiri. Ada banyak masalah di dunia ini yang bisa jadi kita mati-matian menyelesaikannya, susah sekali jalan keluarnya, ternyata cukup diselesaikan dengan ketulusan, dan jalan keluar masalah itu hadir seketika

(Tere Liye)

Ini belum separuhnya, biasa saja kamu tak apa

(Baskara)

LEMBAR PERSEMBAHAN

Segala puji bagi Allah SWT. Kita memuji, meminta pertolongan, dan memohon ampun kepada-Nya. Rasa syukur atas nikmat-Mu yang telah memberikan kekuatan dan kemudahan dalam setiap langkah. Sholawat serta salam selalu tercurah kepada Rasulullah SAW yang telah memberikan syafa'at dan menuntun ke jalan yang benar yakni jalan yang di Ridhoi Allah SWT. Dengan segala kerendahan hati, kupersembahkan karya yang sederhana ini untuk orang-orang yang saya cintai dan sayangi. Teruntuk kedua orangtua saya Bapak Mardi Utama dan Ibu Suwarni yang selalu memberikan keikhlasan doa, dukungan, kasih sayang, kekuatan, serta semangat yang luar biasa sehingga saya dapat menyelesaikan studi ini dengan baik. Terimakasih kepada kakak saya Pratama Adi Marwa yang juga memberikan doa dan dukungan agar saya tidak mudah putus asa dalam menggapai impian yang dicita-citakan. Kepada dosen pembimbing tugas akhir saya Ibu apt. Mayu Rahmayanti, S.Farm., M.Sc., Ibu Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep., NS., M.Kep., Ibu Hj.Alifia Putri Febriyanti, S.Farm., M.Farm., Klin., dan Bapak Abdul Wafi, M.Si yang telah membimbing dengan penuh kesabaran, memberikan banyak pengalaman, serta ilmu dan waktu yang sangat berharga dalam memberikan masukan. Terimakasih kepada Amar Farrichil Ayyubi yang tak henti memberikan semangat, menjadi penenang dan penerang dalam setiap langkah, dan turut membantu dalam banyak aspek pada perjuangan saya menuntaskan perkuliahan ini. Kepada sahabatku Safa'atun Nikmah dan Aprillia Angely Putri Dirgantara saya ucapkan terimakasih banyak karena telah menjadi teman dalam berbagi kisah selama masa perkuliahan. Kepada teman-teman sekelompok penelitian saya ucapkan terimakasih atas kerjasamanya dalam melakukan penelitian bersama. Terimakasih kepada teman-teman COFACTOR yang memberikan banyak sekali warna selama menempuh masa perkuliahan. Semoga selalu diberikan kesuksesan dan kebahagiaan. Serta kepada seluruh pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, terimakasih telah membantu dalam bentuk doa, dukungan, serta semangat sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb.

Puji syukur penulis haturkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Shalawat serta salam senantiasa tercurah kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW yang telah membimbing kita ke jalan yang benar, yaitu jalan yang diridhai Allah SWT.

Penulis sadar bahwa penulisan skripsi ini tidak akan terwujud tanpa bantuan, pengarahan, dan motivasi dari berbagai pihak. Untuk itu, dengan segala kerendahan hati penulis menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya, serta penghargaan yang tak terhingga kepada :

1. Prof. Dr. M. Zainuddin, M.A., selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati P.W, M.Kes., Sp.Rad (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm., selaku Ketua Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. apt. Mayu Rahmayanti, S.Farm., M.Sc. dan Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep., Ns., M.Kep. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan arahan, bimbingan, dan motivasi kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
5. Segenap civitas akademika Program Studi Farmasi, terutama seluruh dosen, terimakasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
6. Orangtua tercinta yang senantiasa memberikan doa dan restunya kepada penulis dalam menuntut ilmu serta memberikan semangat tiada putus dalam menyelesaikan skripsi ini.
7. Semua rekan-rekan farmasi yang selalu memberikan motivasi, semangat dan nasihat kepada penulis.
8. Serta semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik secara materiil maupun moril.
Penulis menyadari adanya kekurangan dan keterbatasan dalam penulisan skripsi ini dan penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Aamiin Ya Rabbal Alamin.

Wassalamualaikum Wr.Wb

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	iv
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
ABSTRAK	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	9
1.3. Tujuan Penelitian.....	9
1.4. Manfaat Penelitian.....	10
1.4.1. Manfaat Akademik	10
1.4.2. Manfaat Praktis	11
1.5. Batasan Masalah.....	11
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	12
2.1. Luka (Wound)	12
2.1.1 Definisi Luka	12
2.1.2 Klasifikasi dan Mekanisme Terjadinya Luka	12
2.1.3 Stadium Luka.....	14
2.1.4 Proses Penyembuhan Luka.....	15
2.1.5 Fase Penyembuhan Luka	15
2.1.6 Faktor yang Mempengaruhi Proses Penyembuhan Luka	20
2.2. Kolagen.....	21
2.2.1 Sintesis Kolagen	22
2.2.2 Metode Pengamatan Kepadatan Kolagen.....	24
2.3. Buah Merah (Pandanus conoideus Lamk.).....	25
2.3.1 Taksonomi Buah Merah (Pandanus conoideus Lamk.).....	25
2.3.2 Kandungan pada Minyak Buah Merah (Pandanus conoideus Lamk.)	26
2.4. Emulsi Gel.....	30
2.5. Povidone Iodine 10%	30

2.6. Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	31
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	34
3.1. Kerangka Konseptual	34
3.1.1 Uraian Kerangka Konseptual.....	34
3.2. Hipotesis Penelitian.....	37
BAB IV METODE PENELITIAN	38
4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian	38
4.2. Waktu dan Tempat Penelitian	38
4.3. Populasi dan Sampel	39
4.3.1 Populasi Penelitian	39
4.3.2 Sampel Penelitian.	39
4.4. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	41
4.4.1. Variabel Penelitian	41
4.4.2. Definisi Operasional	41
4.5. Alat dan Bahan	44
4.5.1. Alat	44
4.5.2. Bahan	45
4.6. Prosedur Penelitian.....	45
4.6.1. Pengurusan Etik Penelitian.....	45
4.6.2. Pembuatan Sediaan Tiap Perlakuan	46
4.6.3. Aklimatisasi Hewan Coba	47
4.6.4. Randomisasi Hewan Coba.....	48
4.6.5. Perlakuan Insisi.....	48
4.6.6. Pemberian Sediaan	48
4.6.7. Pengorbanan Hewan Coba dan Eksisi Biopsi.....	49
4.6.8. Preparasi Sampel	49
4.6.9. Pengamatan Kepadatan Kolagen secara Histopatologi	50
4.7. Analisis Data	51
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	54
5.1 Hasil Uji Evaluasi Fisik Sediaan Emulgel Minyak Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lamk.).....	54
5.2 Hasil Uji Efektivitas Emulsi Gel Minyak Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lamk.) terhadap Kepadatan Kolagen	59
5.3 Pemanfaatan Minyak Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lamk.) dalam Islam	73
BAB VI PENUTUP	76

6.1 Kesimpulan.....	76
6.2 Saran	77
LAMPIRAN.....	86

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Morfologi Serabut Kolagen	22
Gambar 2. 2 Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lamk.).....	26
Gambar 2. 3 Morfologi Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>).....	31
Gambar 3. 1 Bagan Kerangka Konseptual.....	34
Gambar 5. 1 Histopatologi Kolagen pada Tiap Kelompok Perlakuan.....	65
Gambar 5. 2 Grafik Histogram Rerata Persen Area Kolagen.....	65

DAFTAR TABEL

Tabel 4. 1 Formulasi Emulgel MBM (<i>Pandanus conoideus</i> Lamk.).....	46
Tabel 5. 1 Hasil Uji Evaluasi Sediaan Fisik Emulgel MBM.....	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. COA Minyak Buah Merah	87
Lampiran 2. Kandungan Minyak Buah Merah	94
Lampiran 3. Hasil Uji Kode Etik	95
Lampiran 4. Langkah Analisis Kepadatan Kolagen menggunakan Software ImageJ	96
Lampiran 5. Data Hasil Persentase Kepadatan Kolagen.....	102
Lampiran 6. Data Analisis Statistik Menggunakan SPSS.....	103
Lampiran 7. Dokumentasi Pembuatan Basis Karbomer	108
Lampiran 8 Dokumentasi Pembuatan Emulsi (Fase Air dan Fase Minyak) Minyak Buah Merah.....	110
Lampiran 9. Dokumentasi Pembuatan Emulgel Minyak Buah Merah	113
Lampiran 10. Perlakuan Pembuatan Luka Insisi pada Tikus Galur Wistar (Rattus norvegicus).....	115
Lampiran 11. Euthanasia dan Eksisi Biopsi.....	116
Lampiran 12. Metode Pewarnaan HE	118

DAFTAR SINGKATAN

A/M	= Air dalam minyak
b/v	= Berat per volume
CSWD	= <i>Conservative Sharp Wound Debridement</i>
ECM	= <i>Extracelllular Matrix</i>
EGF	= <i>Epidermal Growth Factor</i>
FGF	= <i>Fibroblast Growth Factor</i>
GAG	= <i>Glikosaminoglikan</i>
GP IIb	= <i>Glycoprotein IIb</i>
GP IIb3	= <i>Glycoprotein IIb3</i>
GP IIIa	= <i>Glycoprotein IIIa</i>
HE	= <i>Hematoxyllin-Eosin</i>
KEPK-BPPK	= Komisi Etik Penelitian Kesehatan dan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
M/A	= Minyak dalam air
MBM	= Minyak Buah Merah
m-RNA	= <i>Messenger Ribonukleat Acid</i>
PDGF	= <i>Platelet Derived Growth Factor</i>
PMN	= <i>Polymorphonuclear</i>
REK	= Retikulum Endoplasma Kasar
RNA	= <i>Ribonukleat Acid</i>
ROS	= <i>Reactive Oxygen Species</i>
SPSS	= <i>Statistical Package for The Social Sciences</i>
TGF- β	= <i>Transforming Growth Factor Beta</i>
TIME	= <i>Tissue management, infection or inflammation control, moisture balance, edge of wound</i>
TIMP	= <i>Tissue Inhibitor of Metalloproteinase</i>
TNF	= <i>Tumor Necrosis Factor</i>
α -karoten	= Alfa karoten
α -TCP	= Alfa tokoferol
α -tokoferol	= Alfa tokoferol
β -karoten,	= Beta karoten
β -kriptosantin,	= Beta kriptosantin

ABSTRAK

Muktisari, Mawar Yuli. 2023. Efektivitas Emulsi Gel Minyak Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) Terhadap Kepadatan Kolagen Pada Penyembuhan Luka Insisi Tikus (*Rattus Norvegicus*). Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I : apt. Mayu Rahmayanti, S.Farm., M.Sc. Pembimbing II: Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep., NS., M.Kep.

Minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) merupakan salah satu tumbuhan yang dapat digunakan untuk mempercepat penyembuhan luka. Kandungan senyawa tokoferol, karotenoid, asam oleat, asam linoleat, dan asam linolenat dalam minyak buah merah memiliki aktivitas terhadap proses penyembuhan luka insisi. Pada penelitian ini, minyak buah merah diformulasikan dalam bentuk emulgel karena dapat meningkatkan stabilitas dan penetrasi sediaan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya aktivitas emulgel minyak buah merah terhadap kepadatan kolagen pada penyembuhan luka insisi dan mengetahui dosis optimal emulgel minyak buah merah terhadap kepadatan kolagen pada penyembuhan luka insisi. Jenis penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* dengan rancangan penelitian *post test only control group design* yang terdiri dari 6 kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol negatif yang diberi basis gel (K-), kelompok kontrol positif diberikan salep *povidone iodine 10%* (K+), serta kelompok perlakuan yang terdiri dari P1 yang diberi minyak buah merah murni, serta P2, P3, dan P4 yang masing-masing diberikan emulgel minyak buah merah dengan konsentrasi 5% b/v, 10% b/v, dan 15% b/v. Parameter yang diamati yaitu persentase area kepadatan kolagen menggunakan *software imageJ*. Analisis statistika dilakukan menggunakan uji *One Way ANOVA* dengan nilai signifikan $P = 0,000$ dan dilanjutkan dengan uji LSD. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa minyak buah merah murni dan emulgel minyak buah merah mampu meningkatkan kepadatan kolagen dengan hasil persen area pada kelompok P1, P2, P3, dan P4 masing-masing 64,000%; 67,000 %; 69,000%; dan 72,090%. Hasil tersebut lebih tinggi dibandingkan kepadatan kolagen pada K- (59,750%) dan K+ (60,774%). Kepadatan kolagen paling tinggi ditunjukkan pada kelompok P4 dengan persentase 72,090%. Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa emulgel minyak buah merah konsentrasi 5% b/v, 10% b/v, dan 15% b/v memiliki aktivitas terhadap peningkatan kepadatan kolagen pada penyembuhan luka insisi tikus dengan dosis optimal ditunjukkan pada emulgel minyak buah merah konsentrasi 15% b/v.

Kata kunci : minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.), luka insisi, kepadatan kolagen, emulgel

ABSTRACT

Muktisari, Mawar Yuli. 2023. Efficiency of Red Fruit Oil Emulsion Gel (*Pandanus conoideus* Lamk.) Collagen Density in the Healing of Rat Inside Wounds (*Rattus Norvegicus*). The script. Faculty of Medicine and Health Sciences, State Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang. Directory I is apt. S.Farm, M.Sc. by Mayu Rahmayanti Director: Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep., NS, M.KEP.

Red fruit oil (*Pandanus conoideus* Lamk.) is one of the plants that can be used to accelerate wound healing. The content of compounds of tocoferol, carotenoids, oleic acids, linoleic acid, and linolenic acid in red fruit oil has activity against the healing process of incision wounds. In this study, red fruit oil was formulated in the form of an *emulgel* because it can improve the stability and penetration of the preparation. The aim of this study is to find out the activity of the red fruit oil emulgator against collagen density on incision wound healing and to know the optimal dose of red fruits oil *emulgel* against collageen density in incision injury healing. This type of study is a true experimental study with a post-test only control group design research plan consisting of 6 treatment groups namely negative control groups given gel-based (K-), positive control group given povidone iodine ointment 10% (K+), as well as treatment group comprising P1 given pure red fruit oil, and P2, P3, and P4 each given emulgated red fruits oil with a concentration of 5% b/v, 10% b /v, and 15% b / v. The observed parameter is the percentage area of collagen density using imageJ software. The statistical analysis was carried out using the one-way ANOVA test with a significant value of P = 0,000 and continued with the LSD test. The results of this study showed that the emulgate of red fruit oil was able to increase the production of collagen in the healing process of incision wounds. Based on the results obtained, it can be concluded that the *emulgel* of red fruit oil has an activity against increased collagen density in the healing of mice incision wounds shown in the concentration group of 5%, 10%, and 15%. The optimal dose concentration of red fruit oil emulgel against increased collagen density on incision wound healing is shown on the red fruits oil emulsion with a concentration 15% b/v.

Keywords : red fruit oil (*Pandanus conoideus* Lamk.), insection wounds, collagen density, *emulgel*

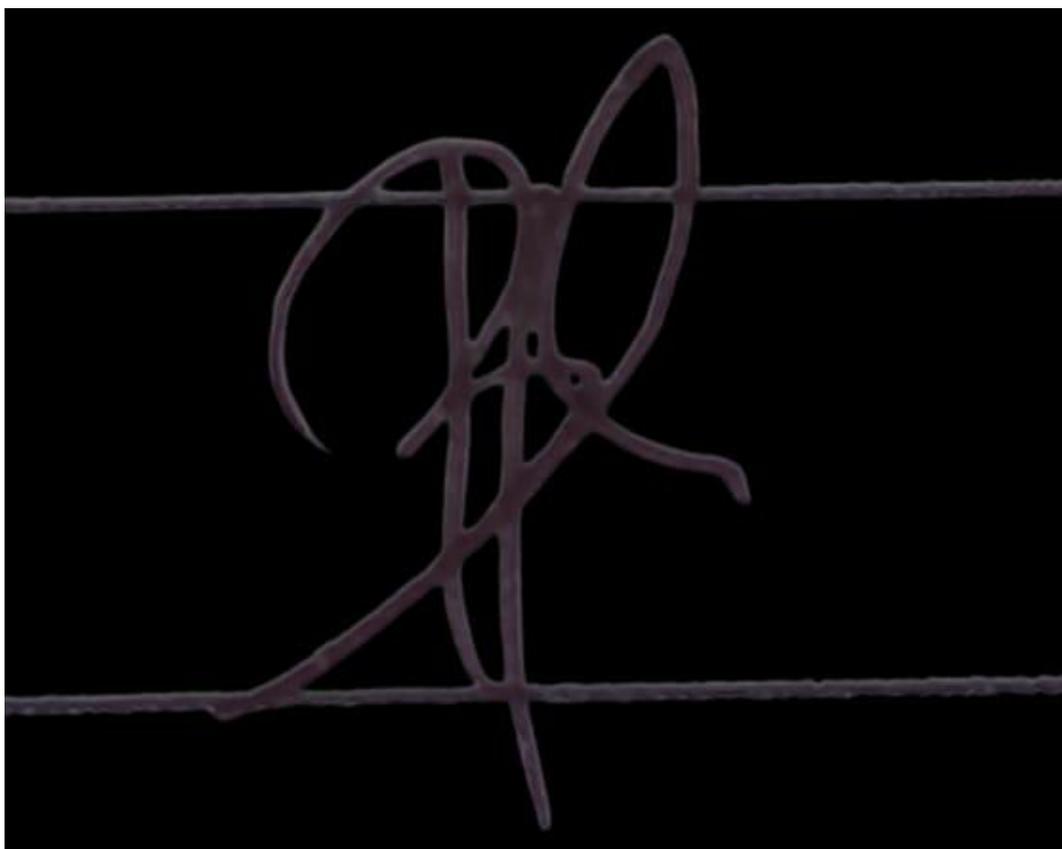
مستخلص البحث

موكتيساري، ماوار يولي. ٢٠٢٣. فعالية مستحلب الجل من زيت الفاكهة الحمراء (*Pandanus conoideus* Lamk.) على كثافة الكولاجين في التئام الشق الشرجي للجرذ البني (*Rattus norvegicus*). البحث الجامعي. قسم الصيدلة، كلية الطب والعلوم الصحية بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف الأول: مايو رحمانتي، الماجستير. المشرف الثاني: ريا رمضاني دوي أتماجا، الماجستير.

زيت الفاكهة الحمراء (*Pandanus conoideus* Lamk.) هو أحد النباتات التي يمكن استخدامها لتسريع التئام الجروح. محتوى توكوفيرول، كاروتينات، حمض الأوليك، حمض اللينوليك، وحمض اللينولينيك في زيت الفاكهة الأحمر له نشاط على عملية التئام الشق الشرجي. في هذا البحث، تمت صياغة زيت الفاكهة الأحمر على شكل مستحلب، لأنه يمكن أن يزيد من ثبات واختراق المستحضر. كان الهدف من هذا البحث هو معرفة نشاط مستحلب زيت الفاكهة الحمراء على كثافة الكولاجين في التئام الشق الشرجي ومعرفة الجرعة المثلى من مستحلب زيت الفاكهة الحمراء على كثافة الكولاجين في التئام بالشق الشرجي. هذا البحث من نوع الأبحاث بدراسة تجريبية حقيقية مع تصميم مجموعة التحكم بالاختبار البعدي، تتكون من ٦ مجموعات علاجية؛ وهي مجموعة التحكم السلبية تعطى قاعدة الجل (K-)، ومجموعة التحكم الإيجابية تعطى مرهم بوفيدون اليود ١٠% (K+)، ومجموعة العلاج التي تتكون من P1 وهي تعطى زيت الفاكهة الحمراء النقية، و P2، P3، و P4 اللاتي يعطى كل منها مستحلب زيت الفاكهة الأحمر بتركيز ٥% b/v، ١٠% b/v، و ١٥% b/v. المعلمة التي لوحظت هي النسبة المئوية لمنطقة كثافة الكولاجين باستخدام برنامج *imageJ*. تم إجراء التحليل الإحصائي باستخدام اختبار *One Way ANOVA* بدرجة الأهمية ف = ٠.٠٠٠٠. ثم قامت باختبار LSD. أظهرت نتائج هذا البحث أن مستحلب زيت الفاكهة الحمراء قادر على زيادة إنتاج الكولاجين في عملية التئام الشق الشرجي. بناء على النتائج التي تم الحصول عليها، يمكن الاستنتاج منها أن مستحلب زيت الفاكهة الأحمر له نشاط في زيادة كثافة الكولاجين في التئام الشق الشرجي للجذر البني كما هو موضح في مجموعات التركيز بنسبة ٥% و ١٠% و ١٥%. تم عرض تركيز الجرعة المثلى من مستحلب زيت الفاكهة الحمراء في زيادة كثافة الكولاجين في التئام الشق الشرجي هو تركيز ١٥% b/v.

الرئيسية:

الكلمات



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Luka dapat didefinisikan yakni suatu keadaan yang mana terdapat jaringan tubuh yang mengalami kerusakan akibat adanya cedera. Hal tersebut dapat disebabkan oleh adanya goresan benda tajam, gigitan, zat kimia, sengatan listrik, dan lain- lain. Luka pada kulit merupakan suatu proses kerusakan secara morfologi pada jaringan kulit atau jaringan lain pada kulit yang lebih dalam dimana kulit memiliki fungsi utama sebagai barrier pelindung dari lingkungan (Cristina *et al*, 2016).

Secara umum, luka diklasifikasikan menjadi tiga jenis, yaitu luka berdasarkan penyebabnya, berdasarkan ada atau tidaknya jaringan yang hilang, serta luka berdasarkan derajat kontaminasi. Jenis luka berdasarkan penyebabnya yaitu berupa luka sayat (luka insisi), luka lecet, luka tusuk, luka robek, luka bakar, serta luka karena gigitan binatang. Luka berdasarkan ada atau tidaknya jaringan yang hilang yaitu berupa luka ekskoriasi, *skin avulsioon*, dan *skin loss*. Sementara berdasarkan derajat kontaminasinya, luka terbagi menjadi luka bersih, luka bersih tercemar, luka tercemar, serta luka kotor. Sementara tingkat keparahan luka dapat diketahui atau dikelompokkan ke dalam empat stadium luka (Meikahani dan Kriswanto, 2015).

Menurut Aminuddin, dkk (2020), derajat luka dibagi menjadi empat stadium berdasarkan kualitas deskriptifnya. Stadium luka merupakan ukuran luas lapisan kulit dan jaringan yang rusak. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Diaz-herra *et al.*, (2021), luka stadium dua mempunyai persentase paling tinggi yang terjadi pada

tahun 2021 dengan persentase sebesar 43,7% dimana luka stadium dua ditandai dengan rusak atau hilangnya lapisan epidermis hingga lapisan dermis bagian atas (Aminuddin, dkk.,2020).

Salah satu jenis luka yang paling umum terjadi yaitu luka insisi. Menurut Wilantari (2019), luka insisi dapat disebut juga sebagai luka sayat, dimana dapat terjadi dikarenakan lapisan kulit teriris oleh benda atau instrumen tajam, misalnya luka yang terjadi akibat operasi atau pembedahan. Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018, kasus mengenai luka insisi merupakan kasus luka yang banyak terjadi dalam kehidupan sehari-hari, terlebih pada bidang industri dan rumah tangga. Berdasarkan prevalensi cedera nasional di Indonesia, luka insisi mempunyai persentase sebesar 20,1% dimana data tersebut menduduki peringkat ketiga (setelah luka lecet dan luka terkilir) sebagai penyebab luka terbanyak dari prevalensi cedera nasional dengan prevalensi luka insisi tertinggi berada di Provinsi Papua (38,5%). Berdasarkan data tersebut, mekanisme yang benar dalam perawatan luka insisi menjadi aspek penting untuk menunjang penyembuhan dari luka insisi yang terjadi.

Pada proses penyembuhannya, luka mempunyai fase penyembuhan yang berbeda-beda yang mana tergantung stadium luka tersebut. Proses penyembuhan luka dikatakan sebagai suatu proses dinamis dan kompleks dengan lingkungan yang perubahannya dipengaruhi oleh perubahan kesehatan individu. Secara otomatis, tubuh manusia akan melakukan suatu respon fisiologis yang terjadi ketika ada bagian tubuh yang mengalami luka. Kulit berperan dalam merespon penyembuhan dengan cara beregenerasi untuk mengembalikan struktur dan fungsi

jaringan yang rusak tersebut. Ketepatan dalam penyembuhan luka diperlukan untuk memenuhi tujuan utama dari manajemen perawatan luka, yakni memulihkan fungsi dari struktur anatomi dan keadaan fungsional kulit akibat luka yang ditimbulkan. Kondisi luka yang tidak ditangani dengan tepat, akan menimbulkan berbagai infeksi pada kulit karena sel yang terbuka sangat rentan terpapar oleh bakteri, sehingga diperlukan suatu sediaan yang dapat menunjang penyembuhan dari luka untuk menghindari efek sampingnya. Proses penyembuhan luka dipengaruhi oleh beberapa faktor endogen pada tubuh manusia seperti usia, tingkat imunitas, kondisi metabolik, intensitas nutrisi, serta pengaruh penggunaan obat-obatan. Selain itu, terdapat berbagai faktor histopatologis yang menunjang proses dan mekanisme penyembuhan luka. Faktor histopatologis tersebut seperti fibroblas, jumlah kolagen, ketebalan epitel, jumlah sel darah putih, dan lain-lain. Salah satu agen terpenting yang berperan dalam proses penyembuhan luka adalah kolagen. (Bernard,2007).

Dalam pengamatannya, kepadatan kolagen dapat diidentifikasi dengan cara melihat adanya serabut kolagen. Serabut kolagen terdapat pada tendon, ligamen, kulit, kornea, tulang rawan, dan pembuluh darah yang ditandai dengan serabut berwarna putih, berukuran besar, bersifat kuat, dan tidak elastis. Produksi kolagen dipicu oleh naiknya kadar *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β) dimana hal tersebut dapat meningkatkan mekanisme proliferasi fibroblas sehingga jumlah fibroblas juga meningkat. Fibroblas ini mempunyai fungsi dalam pembentukan kolagen serta matriks ekstraseluler sehingga akan meningkatkan sintesis kolagen matriks ekstraseluler yang mempercepat sintesis jaringan ikat dan pembuluh darah

mikroskopis pada permukaan luka. Oleh karena itu, semakin cepat sintesis kolagen terjadi, semakin cepat pula luka menutup dan sembuh (Idola Perdana, dkk, 2019).

Penutupan pada luka pada hakikatnya dapat terjadi secara alami. Namun, luka terbuka akibat benda tajam mempunyai potensi yang besar terhadap paparan bakteri yang kemungkinan terburuknya dapat menyebabkan cacat jangka panjang hingga kematian. Untuk itu, diperlukan suatu zat atau agen yang dapat meningkatkan atau mempercepat proses penutupan tersebut (Ramadhani, dkk, 2020). Dalam upaya penyembuhan luka, pemakaian *povidone iodine* merupakan alternatif umum yang saat ini digunakan oleh masyarakat sebagai lini pertama penanganan luka. *Povidone iodine* dipilih sebagai sediaan antiseptik yang berfungsi dalam membersihkan daerah luka dari paparan bakteri yang aktivitasnya dapat menghambat metabolisme enzim bakteri sehingga mencegah multiplikasi bakteri serta melemahkan bakteri. Hal itulah yang nantinya dapat membuat sel-sel sekitar luka cepat beregenerasi karena tidak adanya gangguan dari bakteri penghambat, sehingga mempercepat penyembuhan luka (Rodhianto, dkk, 2015).

Di samping kelebihan yang ada, penggunaan *povidone iodine* sebagai sediaan untuk penanganan luka mempunyai beberapa kelemahan dari segi farmakologinya. Berdasarkan penelitian Rahmawati (2014), dari data yang diambil di RSUD Gambiran Kediri, penggunaan *povidone iodine* sebagai perawatan luka dapat menimbulkan iritasi serta membentuk jaringan parut secara berlebihan. Selain itu, *povidone iodine* juga dapat menghambat pembentukan fibroblas dimana fibroblas berperan penting pada proses sintesis kolagen yang menunjang penyembuhan luka.

Dari kasus tersebut, kekurangan yang ditimbulkan oleh sediaan berbahan aktif kimia membuat ketertarikan masyarakat beralih pada sediaan berbahan dasar herbal yang berasal dari ekstrak tanaman. Berdasarkan data dari Riset Kesehatan Dasar 2010, prevalensi penduduk Indonesia yang menggunakan obat tradisional berbahan dasar tanaman sebesar 59,12%. Pemilihan bahan alam sebagai bahan pengobatan menjadi salah satu pertimbangan karena senyawa aktif tanaman menawarkan opsi sebagai solusi potensial bagi pengembangan terapi. Tanaman obat diyakini sebagai bahan berharga yang dapat dimanfaatkan dalam pengembangan obat (Li, *et al*, 2012). Berdasarkan laporan yang dikemukakan oleh WHO, negara maju menggunakan tanaman obat sebagai terapi klinis karena obat yang diperoleh dari bahan alam aman untuk digunakan dan mempunyai efek samping yang rendah (Ahmad dkk, 2016).

Tumbuhan obat merupakan salah satu ayat kauniyah Allah SWT, yang tertera dalam Al-Qur'an. Penyebutan mengenai nama-nama tumbuhan serta buah- buahan tersebut bertujuan agar umat manusia dapat memanfaatkan khasiat dari ciptaan Allah SWT dalam ikhtiar untuk mengobati suatu penyakit. Hal tersebut selaras dengan Firman Allah SWT dalam QS. Asy-Syu'ara' ayat 7 yang berbunyi :

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمَا أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya; *“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (QS. Asy- Syu 'ara' : 7).*

Berdasarkan tafsir tafsir imam Ibnu Katsir mengenai ayat di atas, manusia akan mendapat manfaat dari tumbuh-tumbuhan dengan berusaha merenungi dan

mengamati ciptaan Allah SWT di bumi ini. Ayat tersebut juga mempunyai kandungan bahwa semua penyakit berasal dari Allah SWT, oleh karena itu penyakit tersebut dapat disembuhkan hanya dengan izin Allah SWT. Akan tetapi, pencapaian kesembuhan tentunya harus diimbangi dengan ikhtiar yang maksimal.

Buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) dikenal sebagai salah satu makanan tradisional masyarakat Papua, tepatnya di daerah Wamena. Buah ini termasuk dalam keluarga pandan-pandan yang termasuk dalam kelompok tanaman endemik. Buah merah hidup pada kondisi tanah yang lembab dan tumbuh di ketinggian 2000 - 2.300 mdpl. Pada bidang kesehatan, pemanfaatan buah merah terdapat pada minyak yang dihasilkan dimana minyak tersebut dimanfaatkan sebagai obat untuk berbagai penyakit dikarenakan mempunyai kandungan bahan aktif seperti β -karoten, α - tokoferol, α -karoten, β -kriptosantin, serta asam lemak tidak jenuh (asam oleat, linoleat, dan linolenat). Selain itu, kandungan antioksidan pada minyak buah merah dapat mengurangi peradangan dan merangsang regenerasi kulit dimana pembentukan sel baru pada kulit merupakan hal terpenting dalam menunjang penyembuhan luka (Hatai, 2011). Kandungan asam lemak tidak jenuh seperti asam linoleat dan asam linolenat pada minyak buah merah mengandung senyawa antiinflamasi serta antioksidan sebagai makronutrien dalam pembentukan kolagen. Senyawa-senyawa tersebut dapat membantu mengaktifkan sinyal TGF- β yang mempercepat proliferasi fibroblas dimana fibroblas berperan penting dalam proses sintesis kolagen (Idola Perdana dkk, 2019).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, minyak buah merah mempunyai banyak peran dalam dunia kesehatan, salah satunya dalam proses penyembuhan

luka. Secara tradisional, penggunaan minyak buah merah oleh masyarakat didapatkan dari hasil tumbukan buahnya, selanjutnya minyak hasil tumbukan tersebut digosokkan pada kulit yang luka yang mana hal tersebut dinilai kurang efektif dalam penyiapannya. Penelitian ilmiah mengenai khasiat minyak buah merah dalam penyembuhan luka masih sebatas dilakukan pada penanganan luka diabetes dan luka bakar. Penelitian manfaat minyak buah merah dalam penanganan luka insisi belum banyak dilakukan serta sediaan minyak buah merah kebanyakan masih diformulasikan dalam bentuk sediaan salep. Menurut Elmitra (2017), sediaan salep mempunyai kekurangan yakni lengket, dapat meninggalkan noda di pakaian, serta salep berbasis hidrokarbon sulit dibersihkan oleh air sehingga kekurangan-kekurangan tersebut mengganggu kenyamanan pemakaiannya. Oleh karena itu, dibutuhkan sediaan yang lebih praktis dalam penggunaannya, yaitu sediaan dalam bentuk emulgel (Anwar, dkk, 2014).

Emulgel adalah suatu bentuk sediaan semisolid yang diformulasikan dengan mencampurkan basis dan *gelling agent* pada perbandingan tertentu. Dengan demikian, pada sediaan emulgel terdapat sistem emulsi serta sistem gel. Emulgel merupakan sediaan dengan tipe emulsi minyak dalam air (M/A) atau air dalam minyak (A/M) yang dicampurkan dengan basis gel. Sediaan emulgel memberikan beberapa keuntungan pada penggunaannya karena mempunyai tingkat penetrasi yang tinggi sehingga lebih mudah untuk menembus lapisan kulit dimana hal tersebut dapat meningkatkan efek kerja obat dan meningkatkan kenyamanan penggunaannya. Pemakaian emulgel juga dapat mengurangi efek samping yang berkaitan dengan toksisitas sistemik (Brown and Jones, 2015).

Berdasarkan penelitian Anjaswara, *et al* (2018), dipaparkan bahwa minyak buah merah yang diformulasikan dalam sediaan emulgel mempunyai masa penyimpanan yang stabi hingga 21hari. Dalam penelitian tersebut dijelaskan bahwa emulgel minyak buah merah dengan basis *Hydroxypropyl methylcellulose* (HPMC) dan konsentrasi 3%, 5%, dan 10% berpengaruh pada peningkatan durasi penyembuhan luka bakar stadium II tikus galur wistar jantan dimana konsentrasi 10% mempunyai hasil paling baik diantara dua formulasi lainnya. Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Rakhma, dkk (2020), penggunaan HPMC sebagai basis emulgel mempunyai kekurangan yakni membutuhkan konsentrasi bahan yang tinggi untuk pembentukan masa gel. Hal tersebut menyebabkan naiknya viskositas yang dapat mengakibatkan penurunan absorpsi zat aktif (Tanwar dan Jain, 2012).

Alternatif yang digunakan untuk mengatasi kekurangan HPMC sebagai basis sediaan emulgel dapat diganti dengan basis *carbomer*. *Carbomer* sebagai basis memiliki beberapa kelebihan yakni *acceptabel*, dapat bercampur dengan baik dengan berbagai zat aktif, mempunyai penampilan organoleptik yang menarik, serta sifat viskositasnya tinggi apabila digunakan dengan konsentrasi yang rendah. *Carbomer* sebagai basis gel berfungsi untuk meningkatkan viskositas sediaan dengan menjaga kadar air dan membentuk jaringan struktural sehingga sediaan emulgel mempunyai stabilitas yang tinggi (Islam *et al.*, 2004).

Berdasarkan uraian di atas, penggunaan minyak buah merah untuk penyembuhan luka insisi masih dipandang dari segi empiris saja dimana penggunaan minyak buah merah secara tradisional belum diketahui ketepatan dosis dan efektivitasnya. Selain itu, penelitian mengenai formulasi minyak buah merah

dalam bentuk emulgel masih belum banyak diteliti. Oleh karena itu, penelitian ini ditujukan untuk mengetahui bagaimana efektivitas emulsi gel minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) terhadap kepadatan kolagen pada penyembuhan luka insisi tikus (*Rattus norvegicus*).

1.2. Rumusan Masalah

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

1. Bagaimanakah efektivitas pemberian minyak buah merah murni (*Pandanus conoideus* Lamk.) dan emulsi gel minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) dengan variasi konsentrasi 5%, 10%, dan 15% terhadap kepadatan kolagen pada penyembuhan luka insisi tikus (*Rattus norvegicus*)?
2. Bagaimanakah perbandingan efektivitas pemberian minyak buah merah murni (*Pandanus conoideus* Lamk.) dengan emulsi gel minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) variasi konsentrasi 5% b/v, 10% b/v, dan 15% b/v terhadap kepadatan kolagen pada penyembuhan luka insisi tikus (*Rattus norvegicus*)?
3. Berapakah konsentrasi emulgel minyak buah merah yang mempunyai hasil persentase kepadatan kolagen paling tinggi pada penyembuhan luka insisi tikus (*Rattus norvegicus*)?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui efektivitas pemberian minyak buah merah murni (*Pandanus conoideus* Lamk.) dan emulsi gel minyak buah merah

(*Pandanus conoideus* Lamk.) dengan variasi konsentrasi 5%, 10%, dan 15% terhadap kepadatan kolagen pada penyembuhan luka insisi tikus (*Rattus norvegicus*).

2. Untuk mengetahui perbandingan efektivitas pemberian minyak buah merah murni (*Pandanus conoideus* Lamk.) dengan emulsi gel minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) variasi konsentrasi 5% b/v, 10% b/v, dan 15% b/v terhadap kepadatan kolagen pada penyembuhan luka insisi tikus (*Rattus norvegicus*).
3. Untuk mengetahui konsentrasi emulgel minyak buah merah yang mempunyai hasil persentase kepadatan kolagen paling tinggi pada penyembuhan luka insisi tikus (*Rattus norvegicus*).

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Akademik

1) Bagi Ilmu Pengetahuan

Penelitian ini dapat dimanfaatkan sebagai sarana penerapan disiplin keilmuan pada bidang kefarmasian, khususnya dalam bidang pengembangan obat untuk terapi penyembuhan luka.

2) Bagi Peneliti

Penelitian ini dapat meningkatkan wawasan serta pengetahuan penulis dalam pengembangan terapi yang bersumber dari bahan alam.

1.4.2. Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat membantu masyarakat mengetahui potensi senyawa yang berasal dari bahan alam. Hal tersebut dapat digunakan sebagai pilihan terapi penanganan luka yang lebih efektif dan juga sebagai pemanfaatan potensibahan alam Indonesia.

1.5. Batasan Masalah

Batasan masalah yang digunakan pada penelitian ini adalah :

1. Penelitian ini menggunakan minyak buah merah produksi CV Budi Mulya Asihyang dibuat dalam bentuk sediaan emulgel dengan basis carbomer.
2. Sediaan yang digunakan yakni sediaan dengan tiga perbedaan formulasi, yaitu formula 1 (P1) 5% b/v, formula 2 (P2) 10% b/v, dan formula 3 (P3) 15% b/v.
3. Kondisi luka yang diamati pada tikus yakni menggunakan jenis luka insisi derajat dua.
4. Sayatan luka dibuat pada bagian punggung tikus.
5. Pengamatan hanya dilakukan pada faktor histopatologis yakni pada kepadatan kolagen yang diteliti secara mikroskopis menggunakan proses pengecatan Hematoksilin-Eosin.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Luka (*Wound*)

2.1.1 Definisi Luka

Luka merupakan suatu gejala yang sering dialami oleh makhluk hidup, baik dalam rentang keparahan ringan, sedang, maupun akut. Definisi dari luka yakni suatu kerusakan jaringan tubuh atau hilangnya kesatuan pada anatomi jaringan yang disebabkan oleh sebuah trauma dimana trauma tersebut dapat terjadi sebagai akibat dari adanya cedera atau pembedahan. Dalam klasifikasinya, luka dikelompokkan dalam beberapa bagian yakni berdasarkan struktur anatomisnya, proses penyembuhan, sifat, dan durasi penyembuhan. Berdasarkan sifatnya, luka diklasifikasikan sebagai luka kontusio, abrasi, laserasi, insisi (iris), penetrasi, luka terbuka, sepsis, dan puncture. Luka dapat terjadi secara disengaja (luka operasi) maupun tidak disengaja (luka eksidental) sebagai akibat dari goresan benda tajam (Putri Nirma, dkk, 2019).

2.1.2 Klasifikasi dan Mekanisme Terjadinya Luka

Secara umum, luka dapat dikelompokkan berdasarkan sifat kejadian serta lama proses penyembuhan luka itu sendiri. Menurut Brian (2007), berdasarkan sifat kejadiannya luka dibedakan menjadi 7 macam, yakni :

- a) Luka insisi (*incised wounds*), dimana luka ini terjadi karena teriris oleh benda tajam (pembedahan).
- b) Luka lecet (*abraded wound*), terjadi apabila kulit mengalami gesekan dengan benda lain yang tidak tajam.

- c) Luka memar (*contusion wound*), luka yang terjadi apabila terdapat benturan oleh suatu tekanan. Luka memar terjadi pada jaringan lunak yang mengalami bengkak dan perdarahan.
- d) Luka tembus (*penetrating wound*), merupakan luka yang dapat menembus organ tubuh yang biasanya mempunyai diameter kecil pada awal luka, namun lebar pada ujungnya.
- e) Luka gores (*lacerated wound*), ialah luka yang terjadi karena membran kulit bersentuhan dengan benda tajam, namun tidak merobek lapisan epidermis atas.
- f) Luka tusuk (*punctured wound*), merupakan luka yang terjadi karena adanya benda tajam yang masuk ke dalam lapisan kulit dalam dengan diameter yang kecil.
- g) Luka bakar (*combustio*)

Sedangkan berdasarkan lama proses penyembuhannya, luka diklasifikasikan menjadi dua, yaitu :

- a) Luka akut ialah luka yang masa penyembuhannya sesuai dengan waktu proses penyembuhan luka. Contoh dari luka akut yaitu luka akibat operasi, kecelakaan, serta luka bakar. Apabila penanganan pada luka dilakukan dengan benar, luka akan menutup dalam 21 hari dimana luka dengan periode penyembuhan tersebut dapat dikategorikan sebagai luka akut.
- b) Luka kronis merupakan jenis luka yang sulit sembuh serta memiliki jangka waktu penyembuhan yang relatif panjang (lebih dari 21 hari). Contoh dari luka ini yaitu luka karena diabetes, dekubitus (luka tekan), luka akibat pecahnya pembuluh darah, luka *dehiscence*, luka *abses*, dan luka kanker. Ciri utama dari

luka ini yakni terdapat jaringan nekrosis (jaringan mati) berwarna kuning maupun hitam.

2.1.3 Stadium Luka

Menurut Aminuddin, dkk (2020) terdapat empat jenis stadium luka, yaitu :

a) Stadium I

Pada stadium I, luka memiliki ciri-ciri yaitu lapisan epidermis yang masih utuh, tetapi terdapat perubahan warna kemerahan pada area tertentu sebagai akibat adanya pelebaran pembuluh darah (eritema).

b) Stadium II

Pada stadium ini ditandai dengan hilangnya lapisan superfisial dimana terjadi kerusakan pada jaringan epidermis dan dermis bagian atas. Terdapat eritema pada jaringan sekitar yang disertai nyeri dan bengkak.

c) Stadium III

Ditandai dengan hilangnya jaringan hingga pada bagian subkutan. Pada stadium ini terjadi pula *cavity* atau terbentuknya rongga, keluarnya cairan lewat pori-pori dengan intensitas sedang hingga banyak.

d) Stadium IV

Terdapat pengeluaran cairan dengan intensitas sedang hingga banyak seperti pada stadium III, namun pada stadium ini terjadi hilangnya lapisan subkutan dimana terbentuk rongga yang menyertakan tendon, tulang, serta otot.

2.1.4 Proses Penyembuhan Luka

Hasil dari respon suatu organisme terhadap rusaknya jaringan atau organ serta usaha untuk mengembalikan kondisi homeostasis untuk mencapai kestabilan fisiologis jaringan maupun organ pada kulit yang memicu penyusunan kembali (*remodelling*) jaringan kulit disebut sebagai proses penyembuhan luka. Hal tersebut ditandai dengan terbentuknya jaringan epitel yang menutupi luka. Proses ini juga melibatkan aktivitas dari proses fisiologis. Pada dasarnya, penyembuhan pada semua luka mempunyai karakteristik yang sama, namun mempunyai variasi pada lokasi, keparahan, dan luas cedera luka tersebut. Penyembuhan luka juga dipengaruhi oleh kemampuan regenerasi dari sel dan jaringan. Proses ini merupakan proses yang dinamis dan tidak bersifat lokal, namun sangat dipengaruhi oleh faktor endogen seperti usia, jumlah nutrisi, tingkat imunitas, penggunaan obat-obatan, serta kondisi metabolik (Lawrence, 2011).

2.1.5 Fase Penyembuhan Luka

2.1.5.1 Fase Inflamasi

Inflamasi atau peradangan adalah tahap pertama penyembuhan luka. Setelah terjadi cedera, pembuluh darah (vaskular) yang robek akan lekas menyempit sehingga jaringan tromboplastik, terutama jaringan dari subendotel akan terpapar. Kemudian, trombosit tersebut berkumpul dan membentuk inisial sumbat hemostatik sehingga koagulasi dan komplemen dimulai. Jalur koagulasi tersebut meliputi jalur koagulasi intrinsik serta koagulasi ekstrinsik yang akan mengaktivasi protrombin menjadi trombin, yang mengubah fibrinogen menjadi benang fibrin, kemudian dipolimerisasi menjadi bekuan yang stabil (Lorenz *and*

Longaker, 2015).

Fase inflamasi ini bertujuan untuk membangun penghalang untuk mikroorganisme yang menyerang yang dipisah menjadi dua fase, yaitu fase inflamasi awal dan fase inflamasi akhir. Selama fase akhir koagulasi dan segera setelah itu, respon inflamasi awal pun terjadi, inflamasi awal memiliki banyak sekali fungsi, sesaat setelah fase koagulasi selesai fase inflamasi awal memulai peristiwa molekuler yang dimana peristiwa diawali dengan infiltrasi situs luka oleh leukosit yang utamanya adalah neutrofil, proses ini bertujuan agar mencegah infeksi yang terjadi. Neutrofil memulai tugas penting untuk memfagositosis atau menghancurkan serta menghilangkan bakteri, partikel dan jaringan asing yang rusak aktivitas fagositosis ini menjadi sangat penting untuk proses selanjutnya, karena luka akut yang memiliki ketidakseimbangan bakteri tidak akan sembuh (Elnar dan Ailey, 2009).

Dalam waktu 24-36 jam setelah cedera, neutrofil mulai tertarik ke tempat luka dan berbagai agen kemoatraktif seperti *Transforming Growth Factor Beta* (TGF- β), komponen komplemen seperti C3a dan C5a (merupakan polipeptida yang hanya dilepaskan pada area peradangan), dan peptida formilmetionil yang diproduksi oleh bakteri dan produk trombosit. Neutrofil akan melakukan sekresi sitokin pro inflamasi seperti *Interleukin-1 beta* (IL-1 β), *Interleukin-6* (IL-6), dan *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- α). Aktivitas dari neutrofil bertahap terjadi perubahan dalam beberapa hari setelah luka terjadi, setelah semua bakteri yang mencemari luka telah dihilangkan. Setelah melaksanakan tugasnya, neutrofil harus segera dihilangkan pada luka sebelum nantinya berkembang ke fase penyembuhan

yang berikutnya. Sel yang berlebihan akan dibuang dengan ekstrusi ke permukaan luka sebagai slough (slough adalah jaringan mati yang berwarna kuning, slough harus dihilangkan karena bisa menghambat penyembuhan pada luka) dan dengan apoptosis (kematian sel), yang dalam proses ini memungkinkan eliminasi seluruh populasi dari neutrofil tanpa adanya kerusakan jaringan maupun meningkatkan respon inflamasi, sisa-sisa sel dan apoptosis kemudian akan difagositosis oleh makrofag (Elnar dan Ailey, 2009).

Dilanjutkan pada fase inflamasi lanjutan, dimulai dari 48 –72 jam setelah cedera, makrofag akan muncul di luka dan melanjutkan tugasnya untuk fagositosis, sel ini awalnya adalah monosit darah yang mengalami perubahan sesampainya pada luka dan berubah menjadi makrofag jaringan yang selanjutnya akan memasuki luka dengan mediasi *monocyte chemoattractant protein 1* (MCP-1). Makrofag sangat penting dan dibutuhkan dalam proses penyembuhan luka dikarenakan tugasnya yaitu untuk fagositosis bakteri dan juga jaringan mati sehingga menjadi *makrofag efferositosis 2* (M2) yang menjadi penghasil sekresi sitokin anti inflamasi antara lain *Interleukin-13* (IL-13), *Interleukin-4* (IL-4), dan *Interleukin-10* (IL-10). Tujuan dari makrofag melakukan sekresi proteinasi memiliki beberapa tujuan penting dalam penyembuhan luka antara lain untuk mendegradasi ECM, mengeliminasi material asing, memberi rangsangan untuk pergerakan sel, dan mengontrol pergantian dari ECM (Primadina dan Basori, 2019). Apabila tidak terjadi konaminasi pada fase inflamasi maka fase penyembuhan luka akan berlanjut pada fase proliferasi (Aminuddin dkk, 2020).

2.1.5.2 Fase Proliferasi

Ketika cedera pada luka telah berhenti, hemostasis telah tercapai dan respon imun telah berhasil diatur, luka akut akan bergeser pada arah perbaikan jaringan. Fase proliferasi dimulai dengan migrasi fibroblas dan deposisi matriks ekstraseluler yang baru disintesis, yang fungsinya sebagai pengganti jaringan sementara yang terdiri dari fibrin dan fibronektin, di tingkat makroskopis fase ini bisa dilihat sebagai fase pembentukan jaringan granulasi yang melimpah. Dalam fase ini terdapat beberapa proses utama, yaitu (Elnar dan Ailey, 2009):

1) Migrasi fibroblas

Setelah terjadi cedera, miofibroblas dan fibroblas akan dirangsang untuk berkembang biak selama tiga hari pasca cedera. Mereka kemudian akan bermigrasi ke dalam luka, karena ditarik oleh *Transforming Growth Factor-beta* (TGF- β) dan *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF) yang telah dihasilkan pada fase inflamasi dan trombosit. Begitu terjadi luka terjadi perkembangan biakan secara besar besaran dan akan menghasilkan matriks protein hialuronan, fibronektin, proteoglikan tipe 1 dan tipe 3 serta prokolagen. Pada akhir minggu pertama, *Fibroblast Growth Factor* (FGF) berfungsi untuk menginduksifibroblas untuk berproliferasi dan migrasi matriks ekstraseluler yang terakumulasi untuk proses penyembuhan. Setelah tercapai tugas ini, fibroblas yang berlebihan adalah dieliminasi oleh apoptosis (Elnar dan Ailey, 2009).

2) Sintesis kolagen

Kolagen merupakan bagian penting dalam semua fase penyembuhan luka, disintesis oleh fibroblas, kolagen memberikan integritas serta kekuatan untuk semua jaringan serta memainkan peran sebagai kunci, terutama pada bagian fase proliferasi penyembuhan luka dan fase remodeling. Kolagen sebagai dasar untuk pembentukan matriks intraseluler dalam luka, lapisan dermis yang tidak terluka mengandung 80% kolagen tipe 1 dan 25% kolagen tipe 3, sedangkan jaringan granulasi yang luka menjadi 40% kolagen tipe 3 (Elnar dan Ailey, 2009).

3) Angiogenesis dan Pembentukan Jaringan Granulasi

Pembentukan pembuluh darah baru sangat penting dalam penyembuhan luka tepat saat semua fase dalam proses memperbaiki luka. Selain dari menarik neutrofil dan makrofag, banyak faktor angiogenik yang disekresikan selama fase hemostatik menjalankan angiogenesis. Sel endotel responsif terhadap sejumlah faktor angiogenik termasuk FGF, vascular endothelial growth factor (VEGF), PDGF, angiogenin, TGF- α and TGF- β . Keseimbangan akan terjaga oleh faktor inhibitor, seperti angiostatin dan steroid. Agen inhibitor mengaktifkan mitosis dan melepaskan faktor pertumbuhan sel endotel. Pada kondisi hipoksia, molekul disekresikan dari jaringan disekitarnya dan apabila jaringan telah terbentuk sel sel endotelial yang bermigrasi dan proliferasi akan mengalami penurunan dan kelebihan sel akan diapoptosis (Elnar dan Ailey, 2009).

2.1.5.3 Fase Remodelling

Fase *remodelling* atau fase pembentukan jaringan parut merupakan fase dengan periode paling lama pada proses penyembuhan luka. Fase ini dimulai pada hari ke-21 hingga dapat mencapai waktu satu tahun. Pembentukan kolagen mulai menurun dan stabil pada fase ini. Akan tetapi, walaupun jumlah kolagen telah mencapai intensitas yang maksimal, kekuatan tahanan luka hanya akan sebesar 15 % dari kulit normal yang tidak atau belum terkena luka. Proses *remodelling* ini dapat meningkatkan kemampuan tahanan luka secara drastis dimana terjadi pergantian tipe kolagen dari tipe III menjadi kolagen tipe I. Sementara itu, peningkatan kekuatan sel kulit akan terjadi secara signifikan pada minggu ke-3 hingga minggu ke-6 setelah luka. Dalam periode tersebut, kekuatan tahanan luka dapat mencapai 90% dari kekuatan tahanan kulit normal (Wilantari, 2019).

2.1.6 Faktor yang Mempengaruhi Proses Penyembuhan Luka

Terdapat banyak faktor yang mempengaruhi proses penyembuhan luka menurut Morrison, (2012) yaitu :

- a. Faktor intrinsik dapat meliputi faktor patofisiologi umum serta faktor fisiologis normal. Faktor patofisiologi umum tersebut meliputi malnutrisi, gangguan kardiovaskulaer, penurunan daya tahan terhadap infeksi, serta gangguan metabolik, dan endokrin. Sementara faktor fisiologis merupakan faktor intrinsik yang berkaitan dengan usia dan kondisi lokal yang mengakibatkan kerusakan pada tempat luka, misalnya terjadinya infeksi dengan benda asing, dehidrasi, eksudat yang berlebihan, pengelupasan jaringan, trauma kambuhan, pasokan darah yang buruk, hipoksia lokal, edema, penurunan suhu luka, serta

adanya hasil metabolik yang berlebihan.

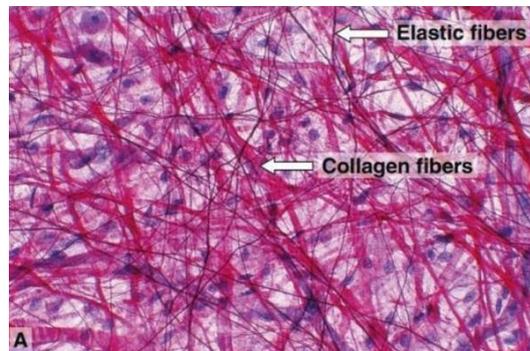
b. Faktor Ekstrinsik

Faktor ini merupakan faktor yang meliputi ketidaksesuaian dalam penatalaksanaan luka, misalnya penggunaan bahan perawatan yang tidak sesuai, ketidaktepatan pengkajian luka, dan teknik penggantian balutan yang ceroboh.

2.2. Kolagen

Kolagen merupakan salah satu komponen utama pada pembentukan jaringan ikat serta merupakan pembentuk 25 % dari protein mamalia. Terdapat 19 tipe kolagen yang tersusun dari 30 rantai polipeptida yang berlainan. Tipe kolagen tersebut diklasifikasikan lagi menjadi beberapa kelompok yang didasarkan pada pembentukan strukturnya. Sebagian besar kolagen yang terdapat pada kulit orang dewasa yakni adalah kolagen tipe I. Namun, pada siklus pembentukannya, kolagen yang terbentuk pada awal fase granulasi adalah kolagen tipe III, yang nantinya digantikan oleh kolagen tipe I. Molekul kolagen memiliki tipe *triple helix*, dimana molekul tersebut tersusun dari tiga rantai polipeptida, yang disebut dengan rantai *alpha* (α). Tiap-tiap rantai α akan terpilin menjadi bentuk helix dominan kiri yang pada setiap putarannya terdapat tiga buah residu yang kemudian ketiga rantai α tersebut berputar menjadi rantai *superhelix* dominan kanan (Safithri, dkk, 2019).

Ciri khas jaringan kolagen yakni ditemukannya residu glisin di tiap posisi ketiga dari bagian *triple helix* rantai α . Pada jaringan kolagen, terdapat dua asam amino yang diapit oleh hidrosiprolin atau hidrosilisin serta terdapat gugus glukosa pada *helix* yang melekat pada residu hidrosilisin. Oleh karena itu, kolagen dapat didefinisikan pula sebagai jaringan glikoprotein.



Gambar 2. 1 Morfologi Serabut Kolagen (Safithri dkk, 2019)

2.2.1 Sintesis Kolagen

Sintesis kolagen merupakan proses pembentukan kolagen yang dirangsang oleh faktor pertumbuhan dan sitokin dimana faktor pertumbuhan tersebut disekresi oleh lekosit dan fibroblas (TGF- β , TNF, dan PDGF). Proses produksi kolagen fibriler pada fibroblas (intraseluler) akan menghasilkan prokolagen serta prekursor kolagen. Sementara produksi kolagen secara ekstraseluler melibatkan pengaktifasian enzim pada membran plasma (Ross, *et al*, 2013).

Hasil akhir dari sekresi kolagen beserta degradasinya yakni adalah jaringan parut yang dapat dikategorikan ke dalam berbagai bentuk seperti hipertrofik, keloid, atrofik, hipertrofik, dan jaringan kontraktur. Jaringan parut hipertrofik merupakan lesiterangkat yang terlokalisasi pada lokasi luka sebagai akibat adanya kolagen yang berlebihan dimana jaringan ini ditandai dengan warnanya yang kemerahan, nodular, tekstur yang timbul, dan terkadang terasa gatal dan nyeri. (Sukasah, 2017).

Produk akhir dari sekresi kolagen yang lainnya adalah keloid yakni merupakanlesi timbul sebagai akibat dari berlebihnya produksi kolagen, namun mempunyai ciri khas yang berbeda dari jaringan parut hipertrofik. Jaringan keloid dapat tumbuh melewati batas luka secara meluas serta menginvasi membran kulit

di sekitarnya. Keloid ini akan timbul dan menebal dalam kurun waktu bertahun-tahun. Sementara itu, jaringan parut atrofik, merupakan hasil indentasi pada membran kulit di sekitarnya dimana bekas vaksinasi cacar merupakan salah satu jenis dari jaringan parut atrofik tersebut (Sukasah, 2017).

Widened scars atau bekas luka merupakan gejala yang muncul pada saat luka mengalami peregangan yang berlebih sebagai akibat dari penegangan kulit saat proses penyembuhan luka. Awalnya, jaringan parut akan terlihat normal, namun kemudian akan melebar dalam waktu dua sampai tiga minggu setelah terjadinya luka. Bekas luka umumnya berwarna pucat, berbentuk datar, bertekstur lunak, serta tidak memiliki gejala. Sementara kontraktur merupakan pemendekan dari jaringan parut yang bersifat permanen dimana dapat mengganggu aktivitas normal sel kulit (Sukasah, 2017).

2.2.1.1 Sintesis Kolagen Intraseluler

Sintesis intraseluler berlangsung berdasarkan informasi dari m-RNA (*messenger RNA*). Rantai polipeptida diproduksi oleh poliribosom RER (*Rough Endoplasmic Reticulum*) atau yang disebut sebagai REK (Retikulum Endoplasma Kasar). Hasil sintesis tersebut dikeluarkan ke badan RER. Modifikasi pasca-translasi rantai polipeptida terjadi di tangki REK dan aparatus Golgi, termasuk pembelahan peptida sinyal, hidroksilasi prolin serta lisin, penambahan gugus glukosa ke residu hidroksilisin, pembentukan heliks rangkap tiga, dan pembentukan intra- rantai dan ikatan hidrogen antar rantai sebagai struktur molekul serta stabilisasi interaksi polipeptida. Seluruh proses mengarah pada ekskresi prokolagen dari sel melalui mikrotubulus. Vitamin C (asam askrobat) diperlukan untuk

merangsang enzim prolil hidroksilase dan juga lisil hidroksilase. Tanpa adanya proses ini, tidak ada ikatan hidrogen yang akan terjadi. Ini menjelaskan mengapa luka tidak sembuh ketika terjadi kekurangan vitamin C (Ross *et al.*, 2013).

2.2.1.2 Sintesis Kolagen Ekstraseluler

Matriks ekstraseluler merupakan protein berserat yang terkait dengan sel polisakarida. Matriks ekstraseluler mengandung komponen utama yaitu protein jaringan seperti kolagen, fibronektin, dan glikosaminoglikan, yang mengikat protein untuk membentuk proteoglikan. Dalam proses ini, prokolagen dikonversi menjadi molekul kolagen oleh enzim prokolagen peptidase. Fusi molekul kolagen ini membentuk fibril kolagen akhir yang mana memicu fibroblas untuk menyusun kolagen dan mengikatnya secara kovalen (Ross *et al.*, 2013).

2.2.2 Metode Pengamatan Kepadatan Kolagen

Dalam pengamatannya, penilaian dari serabut kolagen dinilai dari kepadatannya. Penilaian kepadatan ini dapat dilakukan secara subjektif maupun objektif. Penilaian subjektif menitikberatkan pada pengamatan histopatologis serabut kolagen yang terpampang pada mikroskop. Nilai dari penelitian secara subjektif ini menggunakan rasio dari 0-4 dimana rasio 0 merupakan rasio minimal apabila tidak ditemukan adanya serabut kolagen dalam preparat, sementara rasio 4 merupakan rasiomaksimal yaitu terdapatnya serabut kolagen yang sangat banyak (Irani dan Widyarini, 2014). Namun, pengamatan kepadatan kolagen secara subjektif akan menimbulkan hasil yang kurang tepat dan rawan terjadi kerancuan validasi data. Untuk itu, agar menghasilkan data yang seragam, akurat, dan cepat, maka metode pengamatan berbasis aplikasi menjadi alternatif yang baik dalam

mengatasi kelemahan tersebut.

Metode *image processing* sudah banyak dilakukan pada pengembangan teknologi terutama sebagai metode pengkalkulasian suatu area tertentu. Kelebihan lain dari metode *image processing* ini adalah terbebas dari bias subjektif, lelah atau keragaman kemampuan yang menyebabkan berbeda-beda acuan pengukuran. Selain sebagai *image processing*, aplikasi *Image J* merupakan aplikasi yang dapat digunakan dalam pengukuran gambar pada mikroskop yang dapat menganalisis suatu pengukuran pada area yang diinginkan. Hasil pengukuran berupa prosentase dari area yang diamati kepadatan kolagennya (Iqbal, dkk, 2021)

2.3. Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.)

2.3.1 Taksonomi Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.)

Buah Merah (Gambar 1) merupakan tumbuhan yang termasuk dalam keluarga pandan-pandan. Tanaman yang mempunyai nama latin *Pandanus conoideus* Lamk. ini berasal dari Pulau Papua dan terdapat di daerah dataran rendah dekat pantai hingga dataran tinggi. Tumbuhan ini dapat ditemukan pada lereng pegunungan Jayawijaya pada ketinggian 2.500 mdpl. Buah merah merupakan tanaman berkayu yang tumbuh bercabang dan mencapai lima cabang. Daun buah merah berbentuk pita berduri kecil di tepinya dan tingginya mencapai 15 meter. Akarnya berupa akargantung dengan posisi akar berada di ketinggian satu meter dari pangkal batang. Buah merah muncul saat tanaman berumur 3 tahun sejak ditanam. Bentuk buah merah yakni memanjang lonjong atau agak persegi dengan panjang 30-120 cm dengan diameter 10-25 cm dimana penampakan kulitnya menyerupai buah nangka. Warna dari buah tentunya didominasi oleh warna merah,

tetapi ada juga yang berwarna merah kecokelatan dan kuning. (Budi dan Paimin, 2015).



Gambar 2. 2 Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) (Wawo *et al*, 2019)

Kedudukan buah merah pada taksonomi tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut(Lembaga Ilmiah Penelitian Nasional, 2007):

Ordo : Pandanales

Famili : Pandanaceae

Genus : *Pandanus*

Spesies : *Pandanus conoideus* Lamk.

2.3.2 Kandungan pada Minyak Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.)

2.3.2.1 Beta Karoten (β Carotene)

Beta karoten dikenal sebagai senyawa dengan pigmen organik berwarna oranye, kuning, ataupun merah oranye dimana terkandung dalam tumbuhan yang berfotosintesis, tumbuhan ganggang, serta beberapa jenis tumbuhan jamur dan juga bakteri. Beta karoten bersifat larut dalam lemak, namun tidak larut dalam air, serta dapat dengan mudahnya mengalami kerusakan akibat sifatnya yang oksidatif pada suhu tinggi. Beta karoten memiliki kandungan antioksidan yang tinggi, dimana antioksidan dalam pengertian biologis dikenal sebagai senyawa yang dapat menonaktifkan dan mencegah serangan *Reactive Oxygen Species* (ROS) serta

radikal bebas. Mekanisme antioksidan dalam melawan radikal bebas yaitu dengan cara meningkatkan reaksi kimia serta meningkatkan proses metabolisme yang terjadi di dalam tubuh (Kusbandari dan Susanti, 2017).

Aktivitas antioksidan yang terdapat pada beta karoten memiliki manfaat yang tinggi dalam dunia kesehatan. Kandungan senyawa antioksidan dapat menangkal radikal bebas dimana radikal bebas didefinisikan sebagai suatu molekul yang sulit teroksidasi, sehingga apabila terjadi ikatan antara molekul bebas dengan molekul tubuh akan terbentuk molekul baru perusak sel tubuh. Dalam kasus luka terbuka, molekul bebas atau radikal bebas ini dapat dengan mudah masuk dan berikatan dengan sel yang terpapar akibat lapisan pelindung kulit robek. Aktivitas antioksidan yang terdapat pada beta karoten dalam menunjang penyembuhan luka yaitu mempercepat pembentukan angiogenesis serta regenerasi epidermis untuk mempercepat penyembuhan dimana angiogenesis merupakan proses pembentukan vaskuler baru untuk suplai oksigen dan nutrisi bagi perkembangan sel (Ramadhian dan Widiastini, 2018).

2.3.2.2 Alfa Tokoferol (α -TCP)

Tokoferol merupakan salah satu golongan vitamin E yang berasal dari tumbuhan dimana senyawa ini paling sering dijumpai dalam sistem sirkulasi. Alfa tokoferol (α -TCP) merupakan salah satu senyawa tokoferol yang mudah diserap oleh tubuh manusia. Tokoferol adalah bentuk vitamin E yang berfungsi sebagai agen antioksidan pencegah penyakit degeneratif. Aktivitas antioksidan dari vitamin E ini berperan pada regulasi sinyal seluler, ekspresi gen, proliferasi sel, serta mendorong radikal peroksil lipid dengan menginduksi hidrogen pada *Reactive*

Oxygen Species (ROS). Alfa-tokoferol juga berfungsi pada mekanisme homeostasis sel dan ekspresi gen (Harlen, dkk, 2017).

α -Tokoferol juga mempunyai aktivitas sebagai antioksidan yang mana antioksidan merupakan aktivitas yang sangat menunjang penyembuhan luka. Pada proses penyembuhan luka, α -tokoferol mengambil peran dalam proses proliferasi sel, dimana proses ini merupakan proses pembentukan vaskular baru yang diperkuat oleh jaringan ikat pada kulit. α -tokoferol pada proses proliferasi menunjang terjadinya homeostatis sel karena kandungan antioksidan pada α -tokoferol yang mampu mempercepat pembentukan pembuluh darah, akan menunjang pembekuan darah sehingga infeksi pada luka dapat dihentikan (Harlen, dkk, 2017).

2.3.2.3 Asam Oleat (Oleic Acid)

Asam oleat merupakan jenis asam lemak omega-9 yang ditemukan secara alami pada lemak dan minyak, baik secara nabati maupun hewani. Asam oleat termasuk dalam asam lemak tak jenuh tunggal dan termasuk sebagai lemak baik (lemak sehat) dan umumnya tidak berbau serta tidak berwarna. Asam oleat dapat menunjang penyembuhan luka karena bersifat sebagai antiradang dan antioksidan.

Aktivitas antiradang yang dihasilkan oleh asam oleat berperan penting dalam proses awal terjadinya luka, yakni proses inflamasi. Pada proses inflamasi, lapisan yang terbuka menyebabkan kulit tidak terhidrasi sehingga kerusakan sel sehingga akan terasa sangat nyeri. Kemampuan asam oleat dalam antiinflamasi ini akan melembabkan area sekitar luka sehingga kulit akan terhidrasi kembali dan proses perbaikan sel akan terjadi lebih cepat, sehingga luka akan cepat tertutup

(Earlia, dkk, 2019).

2.3.2.4 Asam Linoleat dan Asam Linolenat

Asam linoleat dan asam linolenat adalah asam lemak tidak jenuh berantai panjang yang tergolong sebagai asam lemak esensial. Pada dasarnya, asam lemak mempunyai peran antiinflamasi pada saat terjadinya tak luka. Lemak jenuh dapat disebut sebagai lemak baik dimana salah satu hasil akhir dari lemak tak jenuh adalah asam linoleat dan asam linolenat. Kedua senyawa ini berfungsi sebagai macronutrient yang berperan dalam pembentukan kolagen. Peningkatan produksi kolagen secara efisien bermanfaat untuk menyembuhkan luka di kulit karena kolagen dapat meminimalkan intensitas jaringan parut dan memberikan kekuatan pada jaringan ikat (ligamen). Asam linoleat dan asam linolenat merupakan asam lemak tak jenuh yang mempunyai peran sinergis dalam peningkatan kemotaksi dari leukosit *polymorphonuclear* (PMN) pada saat terjadinya kerusakan jaringan. Asam linoleat merupakan mediator pro-inflamatori kuat yang mengakibatkan akumulasi dari makrofag dan leukosit (Lestari dan Kusumaningrum, 2021).

2.3.2.5 Beta Kriptoxantin (β -kriptoxantin)

Beta kriptoxantin merupakan salah satu dari 10 prekursor vitamin A. Kandungan ini merupakan jenis senyawa karotenoid dimana berperan dalam menunjang homeostatis tubuh manusia. Pada proses penyembuhan luka, beta kriptoxantin memiliki aktivitas antioksidan untuk membantu melawan infeksi, dan membantu mengendalikan respons peradangan sehingga tidak terjadi inflamasi secara berlebihan (Merdekawati dan Susanto, 2009).

2.4. Emulsi Gel

Sediaan emulgel didefinisikan sebagai sediaan emulsi minyak dalam air (M/A) maupun air dalam minyak (A/M) yang diformulasikan berdasarkan pencampuran basis dan bahan pembentuk gel (*gelling agent*). Kelebihan emulgel salah satunya yakni sebagai penghantar bahan hidrofobik yang tidak dapat menyatu dalam basis gel secara langsung. Emulgel membantu bahan aktif yang bersifat hidrofobik menyatu ke dalam fase minyak, lalu membuat globul minyak terdispersi dalam fase air sehingga dapat disebut tipe emulsi minyak dalam air dimana emulsi ini akhirnya dapat dicampurkan ke dalam basis gel. Sediaan gel yang paling stabil secara fisikokimia adalah sediaan gel dengan basis karbomer (karbopol) (Yani dkk, 2016).

Gelling agent adalah komponen penting yang berpengaruh besar pada stabilitas fisik sediaan gel. Sifat fisik tersebut antara lain daya sebar, viskositas, organoleptis, dan pH. Sementara stabilitas yang dimaksud yakni perubahan viskositas gel, perubahan pH, serta sineresis. *Carbomer* mempunyai kelebihan yaitu mempunyai sifat stabilitas dan kompatibilitas yang tinggi, sehingga penggunaannya dalam sediaan emulgel sebagai *gelling agent* akan mengoptimasi sediaan emulgel dalam menemukan sifat fisik dan stabilitas sediaan (karbomer (Yani, dkk, 2016).

2.5. Povidone Iodine 10%

Povidone iodine merupakan sediaan antiseptik yang umum digunakan oleh masyarakat sebagai lini pertama dalam penanganan dan perawatan luka. Kemampuan povidone iodine 10% sebagai antiseptik dibuktikan dengan mekanismenya yang dapat memusnahkan bakteri penyebab infeksi serta dapat membunuh mikroorganisme, jamur, maupun spora. Mekanisme antimikroba pada

povidone iodine 10% yaitu dapat mengoksidasi enzim tirosin yang berperan dalam respirasi sel. Mekanisme lainnya yaitu dapat meracuni atau mengganggu terbentuknya protein pada mikroorganisme akibat adanya iodinasi asam amino yang mengakibatkan hancurnya mikroorganisme tersebut. Namun, povidone iodine 10% mempunyai beberapa kekurangan yakni menimbulkan perubahan warna pada kulit sebagai akibat dari zat warna yang terkandung di dalamnya. Selain itu, penggunaan povidone iodine 10% pada kulit yang sensitif dapat menyebabkan iritasi, rasa terbakar, serta terdapatnya reaksi toksisitas. Povidone iodine 10% juga dapat menghambat perkembangan sel fibroblas yang mana sel ini berperan penting dalam pembentukan fibrinogen untuk penutupan luka (Dayanti *et al.*, 2021).

2.6. Tikus (*Rattus norvegicus*)



Gambar 2. 3 Morfologi Tikus (*Rattus norvegicus*) (Hervista, 2017)

Tikus mempunyai anatomi, fisiologi, serta genetik yang mirip dengan manusia (Nugroho, 2018). Klasifikasi tikus dalam tingkat taksonominya yaitu :

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Class : Mamalia

Ordo: Rodentia

Famili : Muridae

Genus: Rattus

Species: *norvegicus*

Rattus norvegicus merupakan hewan menyusui (kelas mamalia) yang mempunyai peranan penting dalam kehidupan manusia, baik bersifat menguntungkan maupun merugikan. Sifat menguntungkan terutama dalam hal penggunaannya sebagai hewan percobaan di laboratorium. Sifat merugikan yaitu dalam hal posisinya sebagai hama pada komoditas pertanian, hewan pengganggu, serta penyebar dan penular (vector) dari beberapa penyakit pada manusia (Priyambodo, 2007). *Rattus norvegicus* sebagai hewan omnivora (pemakan segala) yang biasanya mau mengkonsumsi semua makanan yang dapat dimakan manusia. Kebutuhan pakan bagi seekor tikus setiap harinya kurang lebih sebanyak 10% dari bobot tubuhnya, jika pakan tersebut berupa pakan kering. Hal ini dapat pula ditingkatkan sampai 15% dari bobot tubuhnya jika pakan yang dikonsumsi berupa pakan basah. Kebutuhan minum seekor tikus setiap hari kira-kira 15-30 ml air. Jumlah ini dapat berkurang jika pakan yang dikonsumsi sudah mengandung banyak air (Priyambodo, 2007). Tingkat konsumsi dipengaruhi oleh temperatur kandang kelembaban, kesehatan dan kualitas makanan itu sendiri. karakteristik tikus yaitu : (1) tidak memiliki kantung empedu (gall blader), (2) tidak dapat memuntahkan kembali isi perutnya, (3) tidak pernah berhenti tumbuh, namun kecepatannya akan menurun setelah berumur 100 hari (Sudrajat, 2008).

Hewan laboratorium atau hewan percobaan adalah hewan yang sengaja dipelihara dan ditanakkan untuk dipakai sebagai hewan model guna mempelajari dan mengembangkan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratorium. Tikus termasuk hewan mamalia, oleh sebab itu dampaknya terhadap suatu perlakuan mungkin tidak jauh berbeda dibanding

dengan mamalia lainnya Selain itu, penggunaan tikus sebagai hewan percobaan juga didasarkan atas pertimbangan ekonomis dan kemampuan hidup tikus hanya 2-3 tahun dengan lama reproduksi 1 tahun. Kelompok tikus laboratorium pertamamula dikembangkan di Amerika Serikat antara tahun 1877 dan 1893. Keunggulan tikus putih dibandingkan tikus liar antara lain lebih cepat dewasa, tidak memperlihatkan perkawinan musiman, dan umumnya lebih cepat berkembang biak. Kelebihan lainnya sebagai hewan laboratorium adalah sangat mudah ditangani, dapat ditinggal sendirian dalam kandang asal dapat mendengar suara tikus lain dan berukuran cukup besar sehingga memudahkan pengamatan. Secara umum, berat badan tikus laboratorium lebih ringan dibandingkan berat badan tikus liar. Biasanya pada umur empat minggu beratnya 35-40 g, dan berat dewasa rata-rata 200-250 g, tetapi bervariasi tergantung pada galur. Galur Sprague Dawley merupakan galur yang paling besar diantara galur yang lain.

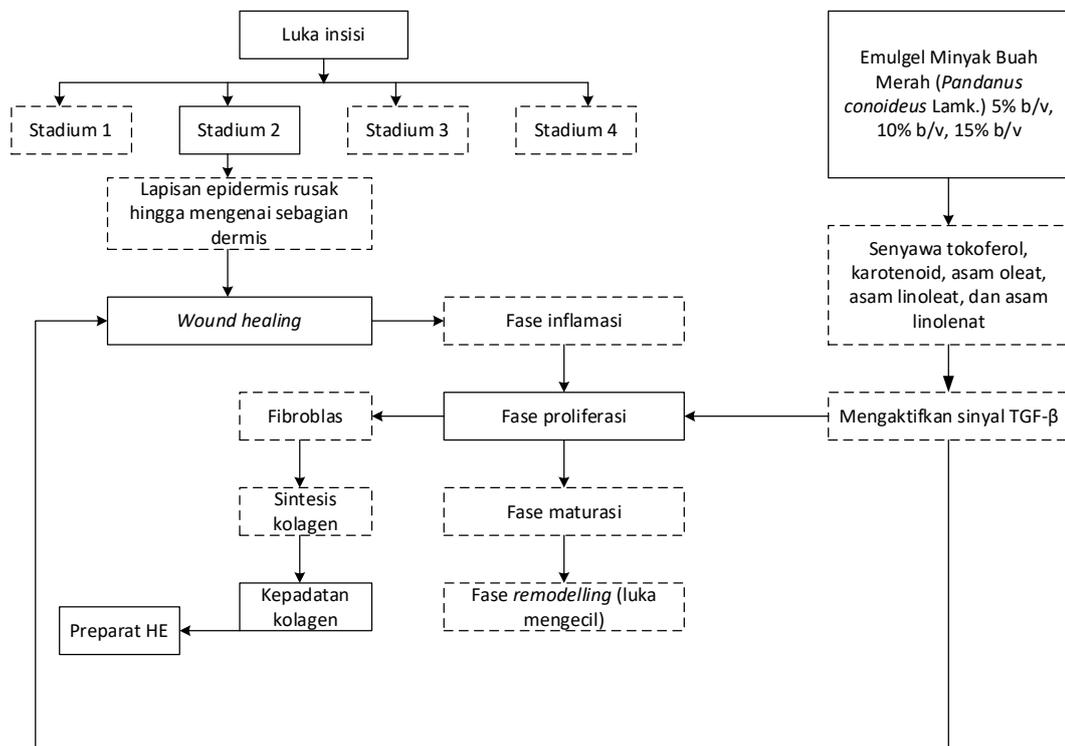
Penggunaan hewan sebagai model dalam penelitian biomedik sangat penting (Hewitt et al., 1989). Percobaan secara langsung kepada manusia dinilai tidak etis karena berisiko mengancam kesehatan, mengakibatkan gangguan fisik maupun psikis, hingga dapat mengakibatkan kematian (Fitria, 2009). Oleh karena itu, harus dipilih model hewan yang mampu merepresentasikan fisiologis manusia dengan baik.

Menurut Koolhaas (2010), tikus species *Rattus norvegicus* Galur Wistar adalah salah satu hewan laboratorium yang paling sering digunakan dalam penelitian praklinik. Tikus Wistar pertama kali dikembangkan pada tahun 1906 di Wistar Institute dan menjadi hewan model praklinik yang ideal hingga kini (Fitria, 2009).

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1. Kerangka Konseptual



Keterangan

Diteliti :

Tidak diteliti :

Mempengaruhi : →

Gambar 3. 1 Bagan Kerangka Konseptual

3.1.1 Uraian Kerangka Konseptual

Luka insisi merupakan jenis luka yang sangat umum terjadi dengan etiologi yang sangat sederhana, yakni terjadi akibat irisan benda tajam. Luka insisi memiliki tiga tingkatan derajat luka. Pada penelitian ini, luka insisi yang diamati

yakni luka insisi dengan derajat dua, dimana ditandai dengan hilang atau rusaknya jaringan kulit pada lapisan epidermis hingga lapisan epidermis atas.

Pada proses penyembuhan luka, terdapat beberapa fase yang terjadi dimana dapat diklasifikasikan secara sederhana, yakni fase inflamasi, fase proliferasi, serta fase *remodelling* atau fase maturasi. Pada penelitian ini, diamati proses perkembangan penyembuhan luka pada fase proliferasi dimana di fase ini makrofag menstimulasi pelepasan faktor-faktor penunjang penyembuhan luka seperti epitelisasi, angiogenesis, fibroblas, dan kolagen.

Minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) merupakan sediaan/agen yang telah dipercaya secara empiris oleh masyarakat Papua dapat menunjang proses penyembuhan luka. Minyak buah merah mempunyai kandungan berupa asam linoleat dan linolenat yang termasuk dalam golongan dari asam lemak tidak jenuh. Lemak tak jenuh dapat disebut sebagai lemak baik yang berfungsi sebagai macronutrient yang berperan dalam pembentukan kolagen. Peningkatan produksi kolagen secara efisien bermanfaat untuk menyembuhkan luka di kulit karena kolagen dapat meminimalkan jaringan parut serta memberikan kekuatan pada jaringan ikat (ligamen). Kedua asam lemak tersebut (asam linoleat dan asam linolenat) termasuk dalam golongan asam lemak tak jenuh yang memiliki peran sinergis dalam peningkatan kemotaksi dari leukosit *polymorphonuclear* (PMN) setelah terjadinya kerusakan jaringan. Asam linoleat berperan sebagai mediator pro-inflamatori kuat yang menyebabkan akumulasi dari leukosit serta makrofag (Lestari dan Kusumaningrum, 2021).

Minyak buah merah juga mengandung senyawa seperti antioksidan yang dapat mengaktifkan sinyal TGF- β . Naiknya kadar TGF- β tersebut akan memicu peningkatan proses proliferasi fibroblas yang berpengaruh pada banyaknya jumlah fibroblas. Pada proses penyembuhan luka, fibroblas sendiri berperan dalam pembentukan kolagen serta matriks ekstraseluler. Peningkatan fibroblas juga meningkatkan proses sintesis kolagen sehingga luka lebih cepat sembuh (Idola Perdana, dkk, 2019). Pengamatan kepadatan kolagen yang berada pada fase proliferasi tersebut dapat diamati dengan aplikasi *Image J 1.52 V* dimana sampel terlebih dahulu akan dipreparasi menggunakan metode *Hematoxilyn Eosin (HE)*.

Minyak buah merah diformulasikan menjadi bentuk sediaan emulsi gel yang mana sediaan tersebut mempunyai banyak keuntungan, yakni mempunyai nilai viskositas dan daya lekat tinggi sehingga tidak mudah luruh pada permukaan kulit. Selain itu, sediaan emulgel mempunyai sifat tiksotropik (sifat alir yang baik) sehingga akan merata bila dioles, tidak menimbulkan bekas, mudah tercuci oleh air, memberikan *cooling sensation* (sensasi dingin), dapat berpenetrasi lebih baik dari krim, dapat segera mencair apabila berpenetrasi dengan kulit dan membentuk satu lapisan, serta mempunyai absorpsi yang lebih baik daripada sediaan krim sehingga lebih disukai secara kosmetika (Rosida, dkk, 2018).

3.2. Hipotesis Penelitian

H0 : Pemberian emulgel minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) basis gel carbomer dengan konsentrasi 5%, 10%, 15 %b/v tidak berpengaruh terhadap kepadatan kolagen pada proses penyembuhan luka insisi tikus (*Rattus norvegicus*)

H1 : Pemberian emulgel minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) basis gel carbomer dengan konsentrasi 5%, 10%, 15 % b/v berpengaruh terhadap kepadatan kolagen pada proses penyembuhan luka insisi tikus (*Rattus norvegicus*)

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan yaitu berupa *True Experimental* skala laboratorium dengan metode penelitian *Post Test Only Control Group Design*, yang mana dilakukan intervensi terlebih dahulu kepada variabel, kemudian dilakukan pengukuran atau *post test*. Pada penelitian ini, terdapat kelompok perlakuan dan kelompok kontrol yang sebelumnya telah dilakukan proses randomisasi. Metode tersebut dilakukan untuk mengetahui korelasi antara sebab dan akibat, dengan cara memberikan suatu perlakuan pada hewan coba sebagai subjek penelitian, lalu melihat efek yang dihasilkan dari perlakuan tersebut (Notoadmodjo, 2012).

4.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan November 2022 - Februari 2023. Tempat pelaksanaan penelitian yaitu :

1. Laboratorium Hewan Coba, Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang untuk tempat aklimatisasi dan perlakuan pada tikus.
2. Klinik Hartono Medika, Jl. Muharto, No.4, Jodipan, Kecamatan Blimbing, Kota Malang sebagai tempat preparasi sampel
3. Laboratorium Botani Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan (FKIK) Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang untuk tempat pengamatan histopatologi jumlah kolagen pada tikus.

4.3. Populasi dan Sampel

4.3.1 Populasi Penelitian

Definisi umum mengenai populasi dalam penelitian yaitu keseluruhan objek yang hendak diteliti. Pada penelitian ini, tikus merupakan populasi yang digunakan dengan spesifikasi tikus (*Rattus norvegicus*) balb/c berjenis kelamin jantan. Tikus balb/c dipilih karena tikus sendiri merupakan hewan yang paling umum digunakan pada penelitian laboratorium yang menggunakan hewan coba. Pemilihan tikus sebagai hewan coba memiliki banyak kelebihan, diantaranya memiliki siklus hidup yang pendek, jumlah anak yang banyak tiap kelahiran, sifat yang bervariasi dan mudah dalam penanganannya (Moriwaki, 1994).

Pemilihan tikus jantan dalam penelitian ini ditujukan dengan alasan untuk meminimalisir terjadinya perbedaan atau kegagalan hasil penelitian. Tikus betina sangat rentan terpapar oleh zat toksik karena mudah mengalami perubahan hormonal pada masa-masa estrus, hamil, serta masa menyusui yang mana kondisi tersebut sangat mempengaruhi keadaan psikologi dari tikus. Perbedaan hormon tersebut tentunya akan menimbulkan perbedaan reaksi biologis dan perbedaan respon terapi di dalam sel tikus yang diberi sediaan emulgel minyak buah merah dimana akan berpengaruh pula terhadap hasil akhir penelitian (CancerHelps, 2014).

4.3.2 Sampel Penelitian.

4.3.2.1 Sampel Emulgel

Sampel emulgel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu emulgel minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) dengan basis *carbomer* dan

memakai tiga variasi konsentrasi yaitu 5% b/v, 10% b/v, dan 15% b/v. Minyak buah merah yang digunakan yakni minyak buah merah produksi CV Budi Mulya Asih, Papua.

4.3.2.2 Sampel Hewan Coba

Jumlah sampel hewan coba dapat diketahui menggunakan rumus Federrer (1991) dimana (t) merupakan jumlah kelompok perlakuan serta (n) didefinisikan sebagai jumlah subjek untuk setiap kelompok perlakuan. Perhitungan jumlah sampel dalam penelitian ini ialah sebagai berikut :

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

$$(6-1)(n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, maka jumlah tikus pada tiap kelompok perlakuan yakni sebanyak 4 ekor. Kelompok perlakuan pada penelitian ini yaitu sebanyak 6 kelompok perlakuan, dimana tiap kelompok perlakuan ditambah 1 tikus sebagai cadangan apabila terjadi kematian, sehingga total tikus yang digunakan secara keseluruhan yaitu sebanyak 30 ekor. Selanjutnya, skrining hewan coba dilakukan dengan kriteria di bawah ini :

A. Kriteria Inklusi

1. Tikus balb/c jantan
2. Berat badan 20-30 gram
3. Umur 3-4 bulan
4. Tikus dalam keadaan sehat

B. Kriteria Eksklusi

1. Sakit dan tidak aktif
2. Mempunyai cacat fisik

4.4. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.4.1. Variabel Penelitian

a. Variabel bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah emulgel minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) dengan variasi konsentrasi 5% b/v, 10%, b/v, dan 15% b/v.

b. Variabel terikat

Variabel tergantung pada penelitian ini yaitu kepadatan kolagen.

c. Variabel kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini adalah berat tikus, jenis kelamin tikus, kondisi kandang, jenis makanan dan minuman, frekuensi pemberian pakan, dan kelembaban.

4.4.2. Definisi Operasional

a. Minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.)

Minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) yang digunakan pada penelitian ini menggunakan minyak buah merah produksi CV Budi Mulya Asih, Papua. Minyak buah merah murni diberikan dua kali sehari pada tikus (pagi dan sore) pada pukul 06.00 WIB dan 18.00 WIB secara topikal dengan cara dioleskan pada kulit tikus jantan Balb/c yang telah dilakukan insisi dalam kelompok perlakuan 4 (P1) selama 14 hari berturut-turut.

b. Emulgel minyak buah merah

Pada penelitian ini minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) yang digunakan diperoleh dari produksi CV Budi Mulia Asih dari Papua. Terdapat tiga kelompok emulgel yang digunakan, yakni emulgel yang mengandung ekstrak minyak buah merah dengan variasi 5% b/v, 10% b/v, dan 15% b/v. Emulgel minyak buah merah ini diberikan dua kali sehari pada tikus (pagi dan sore) pada pukul 06.00 WIB dan 18.00 WIB secara topikal dengan cara dioleskan pada kulit tikus jantan Balb/c yang telah dilakukan insisi dalam kelompok perlakuan 1,2,3 selama 14 hari berturut-turut.

c. *Povidone iodine 10%*

Sediaan larutan *povidone iodine 10%* dimanfaatkan sebagai kelompok kontrol pada penelitian pengobatan luka ini. *Povidone iodine 10%* diberikan dua kali sehari pada tikus (pagi dan sore) pada pukul 06.00 WIB dan 18.00 WIB secara topikal dengan cara dioleskan pada kulit tikus jantan Balb/c yang telah dilakukan insisi dalam kelompok kontrol positif (K+) selama 14 hari berturut-turut.

d. Basis emulgel

Pemberian basis emulgel dilakukan sebanyak dua kali sehari pada tikus (pagi dan sore) pada pukul 06.00 WIB dan 18.00 WIB secara topikal dengan cara dioleskan pada kulit tikus jantan Balb/c yang telah dilakukan insisi dalam kelompok kontrol negatif (K-) selama 14 hari berturut-turut.

e. Kepadatan kolagen

Kolagen merupakan komponen utama yang menyusun ECM (*extracellular*

matrix). Pada preparasinya, digunakan metode pewarnaan *Hematoxilyn Eosin*, dimana hasil dari pewarnaan ini akan membuat kolagen berwarna merah muda karena sifat kolagen yang agak asidofil, sehingga dengan pewarnaan rutin (HE) akan memberikan tampilan berwarna merah muda (Hatta, 2016). Kepadatan kolagen pada enam kelompok perlakuan diamati secara histopatologis menggunakan aplikasi *Image J 1.52V* dengan hasil akhir data berupa persentase area (Putri dan Sakinah, 2020).

f. Berat dan jenis tikus

Tikus (*Rattus norvegicus*) yang digunakan pada penelitian ini yakni tikus dengan jenis kelamin jantan dengan berat 20-30 gram. Tikus jantan dipilih karena menghindari kehamilan dan perbedaan hormon, serta berat 20-30 gram dipilih karena berat tersebut dirasa ideal dalam masa pertumbuhan tikus (tidak terlalu kecil dan tidak terlalu besar). Tikus dibagi ke dalam 6 kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol (K), kontrol positif (K+), kontrol negatif (K-), serta kelompok perlakuan yakni P1, P2, P3, dan P4.

g. Kandang

Terdapat dua macam kandang yang digunakan dalam penelitian ini, yakni kandang yang digunakan untuk aklimatisasi dan kandang yang digunakan untuk perlakuan. Kandang untuk aklimatisasi berupa bak berbahan plastik ukuran 40 x 30 x 18 dengan penutup dari kawat. Kandang diberi alas sekam serbuk gergaji untuk memberikan kehangatan bagi tikus (*Rattus norvegicus*). Setiap kandang digunakan untuk aklimatisasi 5 ekor tikus. Sedangkan kandang yang digunakan untuk perlakuan berupa wadah jaring persegi panjang dengan

bahan plastik ukuran 27 x 18 x 13 cm. Setiap wadah digunakan untuk 2 ekor tikus. Kandang diberikan alas berupa *under patch*. Kandang diletakkan pada tempat yang memiliki kelembaban normal dan suhu ruang.

h. Pakan

Pemberian pakan dilakukan setiap satu kali sekali pada pagi hari pukul 06.00 WIB. Pakan diberikan sebanyak satu mug (sesuai wadah yang telah disediakan). Jenis pakan yang diberikan yakni berupa BR.

i. Minuman

Pemberian minuman pada tikus dilakukan secara *ad libitum* atau diberikan secara tidak terbatas agar tidak terjadi dehidrasi. Botol minum diisi ulang dengan air yang baru apabila sudah habis. Air minum yang digunakan adalah air minum mineral bermerk *Cleo*.

4.5. Alat dan Bahan

4.5.1. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini mencakup alat alat yang akan dibagi dalam dua kegiatan yaitu alat untuk pemeliharaan dan alat untuk perlakuan pada hewan coba. Alat yang dibutuhkan untuk pemeliharaan yakni kandang untuk pemeliharaan tikus, sekam serbuk gergaji, tempat makan plastik merk *Lion star*, botol air minum merk *Little Friend*, dan timbangan gram merk *Helles*. Sementara alat yang digunakan untuk perlakuan dan pengamatan pada hewan coba antara lain mikroskop *Olympus cx23*, aplikasi *Image J 1.52V*, aplikasi SPSS versi 25.0, kamera digital merk *Canon EOS 600D*, spuit injeksi terumo 1 ml, penggaris merk *butterfly*,

dry patch merk *medical*, kasa steril merk *HEXA Husada*, plaster merk *Hansaplast*, pencukur rambut *Gillete*, pisau bedah (*scapel*), silet *Gillete*, gunting bedah merk *ABN*, pinset (*ABN*), jarum pentul, kaca preparat, sarung tangan *Nitrile*, dan masker *Sensi Mask*.

4.5.2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini diklasifikasikan menjadi tiga bagian, yaitu bahan untuk aklimatisasi, bahan untuk perlakuan insisi, serta bahan untuk pembuatan preparat (preparasi). Bahan yang digunakan pada proses aklimatisasi atau pemeliharaan hewan coba yaitu tikus balb/c jantan, pakan tikus, dan air mineral merk *Cleo*. Bahan untuk perlakuan insisi pada hewan coba yaitu meliputi normal Saline 0,9%, ketamine cair dan xylazine, salep povidon iodine 10%, dan sediaan emulgel minyak buah merah dengan variasi konsentrasi sebanyak 5% b/v, 10% b/v, dan 15% b/v. Sementara bahan untuk preparasi yakni *xylol*, alkohol 96%, *aquadest*, cat hematoksilin, HCl, dan cat eosin.

4.6. Prosedur Penelitian

4.6.1. Pengurusan Etik Penelitian

Berdasarkan Badan Litbangkes Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, pengurusan etik penelitian atau juga disebut sebagai *ethical clearence* merupakan langkah utama yang sangat penting dalam melakukan penelitian yang menggunakan makhluk hidup sebagai subjek penelitiannya. Pengajuan *ethical clearence* diajukan kepada Komisi Etik Penelitian Badan Litbangkes (KEPK-BPPK) dan menunggu penilaian atas protokol penelitian oleh KEPK-BPPK. *Ethical*

clearence telah diajukan pada KEPK Poltekes Kemenkes Malang (Lampiran 3).

4.6.2. Pembuatan Sediaan Tiap Perlakuan

Pada penelitian ini, dibuat 3 macam sediaan yakni sediaan basis gel (K-), sediaan minyak buah merah murni (P1), dan sediaan emulgel MBM. Sediaan emulgel pada penelitian ini menggunakan minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) sebagai bahan aktif. Sediaan emulgel minyak buah merah diklasifikasikan menjadi tiga formulasi dengan perbedaan konsentrasi bahan aktifnya yakni 5% b/v (P2), 10% b/v (P3), dan 15% b/v (P4). Selanjutnya, sediaan emulgel diformulasikan bersama *carbomer* sebagai basis yang mempunyai keuntungan yakni nilai iritatifnya yang rendah serta dapat digunakan sebagai agen pengental yang menghasilkan gel bening (Melisa, 2013). Sediaan emulgel selanjutnya dilakukan uji evaluasi meliputi uji organoleptik, uji pH, uji daya sebar, dan uji daya lekat untuk menghasilkan sediaan emulgel yang baik. Adapun formulasi yang digunakan dalam penelitian ini ditunjukkan pada tabel berikut :

Tabel 4. 1 Formulasi Sediaan Tiap Perlakuan

Bahan	Fungsi	Formula % b/v				
		K-	P1	P2	P3	P4
Minyak Buah Merah	Bahan aktif	-	100	5	10	15
Karbomer (carbopol 940)	Basis gel	1	-	1	1	1
TEA	Alkalizer	1	-	1	1	1
Propilen Glikol	Enhancer	-	-	10	10	10
Span 80	Emulsifier	-	-	0,467	0,467	0,467

Bahan	Fungsi	Formula % b/v				
		K-	P1	P2	P3	P4
Tween 80	Emulsifier	-	-	4,532	4,532	4,532
Metil Paraben (Nipagin)	Pengawet	-	-	0,18	0,18	0,18
Propil paraben (Nipasol)	Pengawet	-	-	0,0-2	0,02	0,02
BHT	Antioksidan	-	-	0,02	0,02	0,02
Aquadest	Basis Gel	Add 100 ml	-	40	40	40
	Emulsi			37,78	32,78	27,78

4.6.3. Aklimatisasi Hewan Coba

Menurut Hasanah (2015), aklimatisasi merupakan pemeliharaan hewan coba dengan tujuan adaptasi pada lingkungan baru. Pada prosedur ini, apabila terdapat hewan coba yang mati, sakit, atau $BB > 10\%$, maka hewan coba akan dikeluarkandari anggota sampel penelitian. Aklimatisasi dilakukan selama 7 hari di laboratorium Hewan Coba, Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Tikus (*Rattus norvegicus*) ditempatkan ke dalam kandang berupa bak berbahan plastik ukuran 40 x 30 x 18 cm dengan penutup dari kawat. Kandang diberi alas sekam serbuk gergaji untuk memberikan kehangatan bagi tikus (*Rattus norvegicus*) serta kandang diletakkan pada ruangan dengan suhu dan kelembaban normal. Setiap kandang digunakan untuk aklimatisasi 6 ekor tikus. Untuk menunjang nutrisi pada tikus, pakan diberikan dengan frekuensi pemberian satu kali sehari di pagi hari, dimana pakan yang digunakan berupa BR. Sedangkan minum diberikan

menggunakan metode *ad libitum* (tidak terbatas) agar tidak terjadi dehidrasi. Botol minum diisi ulang dengan air yang baru apabila sudah habis. Air minum yang digunakan adalah air minum mineral bermerk *Cleo*.

4.6.4. Randomisasi Hewan Coba

Pada penelitian ini, randomisasi atau pengelompokan hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) dibagi ke dalam enam kelompok perlakuan. Keenam kelompok tersebut yaitu kelompok kontrol positif (K+), kontrol negatif (K-), kelompok P1, kelompok P2, kelompok P3, dan kelompok P4. Masing-masing kelompok berjumlah 5 ekor tikus.

4.6.5. Perlakuan Insisi

Perlakuan insisi dapat disebut pula sebagai pembuatan luka. Pada penelitian ini, tikus dianestesi terlebih dahulu menggunakan kombinasi dari *ketamine* dan *xylazine* secara intramuskular dengan dosis 1 : 1. Selanjutnya, bulu pada bagian punggung dicukur menggunakan alat pencukur yang kemudian area yang akan dibuat luka diberi tanda menggunakan spidol. Langkah selanjutnya, dibuat luka insisisepanjang 4 cm dengan kedalaman 0,2 cm menggunakan pisau *scalpel* (pisau bedah) (lampiran 10).

4.6.6. Pemberian Sediaan

Setelah dilakukan insisi, kemudian diberikan sediaan emulgel minyak buah merah pada masing-masing kelompok perlakuan dengan rincian sebagai berikut :

1. Kontrol negatif (K-) luka insisi diberi basis emulsi gel (carbomer)
2. Kontrol positif (K+) luka insisi diberi *Povidone iodine* 10% v/v

3. (P1) luka insisi diberikan minyak buah merah murni
4. (P2) luka insisi diberi emulsi gel minyak buah merah 5% b/v
5. (P3) luka insisi diberi emulsi gel minyak buah merah 10% b/v
6. (P4) luka insisi diberi emulsi gel minyak buah merah 15% b/v

Sediaan emulgel diberikan pada luka yang ada di punggung tikus sebanyak 1 FTU atau 0,5 gram agar dapat menutupi permukaan luka dengan sempurna dan menyerap ke dalam pusat luka. Hal tersebut dilakukan selama 14 hari dengan frekuensi pemberian sebanyak 2 kali sehari yang diberikan pada waktu pagi dan sore hari.

4.6.7. Pengorbanan Hewan Coba dan Eksisi Biopsi

Setelah 14 hari, selanjutnya akan dilakukan eksisi biopsi pada tikus. Namun, sebelum dilakukan eksisi biopsi, seluruh tikus dikorbankan terlebih dahulu untuk diambil bagian yang akan diamati secara histopatologis. *Euthanasia* dilakukan dengan menggunakan teknik dislokasi pada leher tikus. Selanjutnya, dibuat eksisi biopsi dengan ukuran 4cm pada masing-masing tikus yang melintasi garis irisan dengan kedalaman hingga subkutis yakni 0,2 cm (lampiran 10). Kemudian, seluruh jaringan eksisi dimasukkan ke dalam larutan formalin 10%, kemudian dibuat blok parafin dan dilakukan pewarnaan dengan metode HE (*Hematoxylin Eosin*) dengan langkah preparasi pada lampiran 12.

4.6.8. Preparasi Sampel

Setelah dilakukan eksisi biopsi, kemudian dilakukan preparasi sampel menggunakan metode HE (*Hematoxylin Eosin*). Prosedur pewarnaan HE yakni pertama diparafinisasi preparat yang telah kering dalam *xylol* sebanyak 3 kali

(masing-masing selama 10-15 menit). Kemudian, dimasukkan ke dalam alkohol 96% sebanyak 2 kali (masing-masing selama 5 menit). Setelah itu, dicuci dengan airmengalir sampai alkohol hilang. Dimasukkan sampel ke dalam cat hematoxilin selama 7-10 menit dan dicuci dengan air mengalir sampai tidak luntur.

Kemudian, dicelupkan sampel ke dalam HCl sebanyak 2 kali celup untuk dilakukan pewarnaan kembali. Setelah itu, dicuci kembali dengan air mengalir dan direndam di dalam air sebentar sampai warna menjadi biru. Dimasukkan sampel ke dalam cat eosin selama 3-5 menit lalu dicuci dengan air mengalir lagi. Selanjutnya, sampel dicelupkan ke dalam larutan alkohol. Ditekan preparat dengan kertas, lap dengan kapas. Langkah terakhir, preparat dimasukkan ke dalam xylol, lalu ditekan kembali preparat dengan kertas dan dilakukan *mounting* untuk menghubungkan antarsampel dengan kaca penutup.

4.6.9. Pengamatan Kepadatan Kolagen secara Histopatologi

Kepadatan kolagen diamati menggunakan mikroskop *Olympus* yang dilengkapi dengan *optilab* perbesaran 400x pada lima lapang pandang (Cahaya dkk, 2020). Pada preparasinya, digunakan metode pewarnaan *Hematoxilyn Eosin*, dimana hasil dari pewarnaan ini akan membuat kolagen berwarna merah muda karena sifat kolagen yang agak asidofil, sehingga dengan pewarnaan HE akan memberikan tampilan berwarna merah muda (Hatta, 2016). Pengamatan dilakukan pada enam kelompok perlakuan diamati secara histopatologis dengan aplikasi *Image J 1.52V* dimana menggunakan metode HSB (lampiran 4) dengan hasil akhir data berupa persentase area (Putri dan Sakinah, 2020).

4.7. Analisis Data

Pengolahan dari data yang akan didapatkan pada penelitian ini menggunakan dua jenis analisis, yakni analisis kualitatif dan analisis deskriptif analitik. Analisis kualitatif digunakan untuk pengolahan data dari hasil uji evaluasi sediaan emulgel dimana hasil yang diperoleh akan dibandingkan dengan standar hasil uji sediaan emulgel yang baik. Selanjutnya, analisis deskriptif analitik digunakan untuk menalisis data hasil kepadatan kolagen pada 6 kelompok perlakuan yang hasilnya akan disajikan dalam bentuk angka (numerik). Data yang disajikan berupa kepadatan kolagen yang akan diambil menggunakan aplikasi *Image J 1.52V*. Aplikasi ini merupakan aplikasi yang dapat digunakan dalam pengukuran gambar pada mikroskop dimana dapat menganalisis suatu pengukuran pada area yang diinginkan. Hasil pengukuran berupa prosentase dari area yang diamati kepadatan kolagennya (Iqbal, dkk, 2021).

Selanjutnya, dilakukan analisis data secara statistik dimana analisa statistik ini digunakan untuk mengolah data yang diperoleh menggunakan program pengolahan data bivariat. Analisis bivariat merupakan metode yang dipakai untuk mengetahui hubungan antara variabel bebas dengan variabel tergantung menggunakan analisis uji statistik. Pada penelitian ini, dilakukan uji data dengan aplikasi SPSS 25.0 yang mana SPSS (*Statistical Package for The Social Sciences*) adalah aplikasi yang biasa digunakan untuk mengolah data statistik dari hasil penelitian yang telah dilakukan (Wiyono, 2011).

4.7.1. Uji Normalitas dan Homogenitas

Tujuan uji normalitas yakni untuk menganalisa apakah sebuah data terdistribusi mengikuti atau mendekati distribusi normal atau tidak. Menurut Santoso (2010), data yang baik memiliki pola distribusi normal tanpa ada kecondongan pada salah satu sisi. Pengujian dilakukan dengan uji *Shapiro-Wilk* dikarenakan sampel berjumlah kurang dari 50. Distribusi normal baku nantinya akan ditransformasikan ke dalam bentuk alpha (α). Apabila nilai α di atas 0,05, maka telah memenuhi nilai normalitas. Namun apabila sebaliknya, maka belum memenuhi uji normalitas. Proses selanjutnya yaitu dilakukan uji homogenitas menggunakan *Levene's test* untuk menganalisis apakah data penelitian memiliki keragaman yang identik. Syarat untuk memenuhi uji homogenitas ini dapat dicapai apabila nilai yang didapat di atas 0,05.

4.7.2. Uji Parametrik

Uji parametrik bertujuan untuk menguji perbedaan kepadatan kolagen melalui pengamatan histologi pada luka insisi tikus yang telah diberi emulgel minyak buah merah dengan tiga variasi konsentrasi. Uji ini merupakan opsi utama pada pengolahan data secara kuantitatif selama uji normalitas dan uji homogenitas terpenuhi. Pada penelitian ini, uji parametrik menggunakan uji *One Way Anova* yang merupakan analisis untuk membandingkan lebih dari dua rata-rata atau lebih dari dua variabel. Tujuan analisis ini untuk menguji kemampuan generalisasi dari data sampel yang dianggap mewakili populasi. Kemudian, dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Fisher's LSD* yaitu suatu prosedur lanjutan untuk mengetahui perlakuan mana yang berbeda secara signifikan. Jika data tidak menghasilkan distribusi normal dan

tidak homogen, maka dapat menggunakan uji *Kruskal Wallis* serta dilanjutkan dengan *Post Hoc Mann-Whitney* (Wiyono, 2011).

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian mengenai pemberian emulgel minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) terhadap luka insisi tikus wistar galur putih (*Rattus norvegicus*) dimana penelitian ini bersifat *true experimental* dengan tujuan mengetahui adanya aktivitas emulgel minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) terhadap peningkatan kepadatan kolagen. Emulgel minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) yang digunakan mempunyai konsentrasi 5%, 10%, dan 15%. Terdapat beberapa tahapan dalam melakukan penelitian ini yaitu pembuatan emulgel minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) serta uji efektivitas emulgel minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) terhadap peningkatan kepadatan kolagen pada penyembuhan luka insisi tikus wistar galur putih (*Rattus norvegicus*).

5.1 Hasil Uji Evaluasi Fisik Sediaan Emulgel Minyak Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.)

Emulgel merupakan salah satu sediaan topikal yang dibuat dengan cara mencampurkan emulsi dan gel secara bersamaan (Sreevidya, 2015). Pada penelitian ini, minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) digunakan sebagai bahan aktif pembuatan emulgel. Minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) yang digunakan diproduksi oleh CV Budi Mulya Asih, Jayapura, Papua dengan berbagai komponen atau zat aktif yang terkandung di dalamnya (lampiran 2) dimana kandungan tersebut berfungsi sebagai agen penyembuhan luka.

Dalam proses pembuatan sediaan emulgel minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.), dilakukan uji evaluasi fisik sediaan untuk menentukan kelayakan sediaan farmasi sesuai syarat sediaan topikal yang baik. Penelitian ini menitik beratkan dalam perbedaan sifat fisik emulgel yang dihasilkan dengan variasi konsentrasi MBM yang digunakan. Evaluasi yang dilakukan pada sifat fisiknya pada penelitian ini yaitu uji organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar dan daya lekat. Hasil dari uji evaluasi emulgel minyak buah merah ditunjukkan pada tabel berikut :

Tabel 5. 1 Hasil Uji Evaluasi Sediaan Fisik Emulgel MBM

No.	Uji Evaluasi	Standar Hasil Uji	Hasil			Ket.
			P2	P3	P4	
1	Organoleptik	Bau khas MBM, warna oranye kemerahan	Bau khas MBM, warna oranye kemerahan	Bau khas MBM, warna oranye kemerahan	Bau khas MBM, warna oranye kemerahan	Memenuhi
2	Uji homogenitas	Tidak ada butiran kasar, tidak membentuk gumpalan (Kharisma, 2020)	Tidak ada butiran kasar, tidak membentuk gumpalan	Tidak ada butiran kasar, tidak membentuk gumpalan	Tidak ada butiran kasar, tidak membentuk gumpalan	Memenuhi
3	Uji pH	4,5-6,5 (SNI No.06-2588) 4,5-6,5 (Kharisma dan Safitri, 2020) 4,2-6,5 (Dewi dkk, 2018)	5,82	5,71	5,49	Memenuhi
4	Uji daya sebar	5,54-6,08 cm (SNI) 5-7 cm (Pratasik, 2019)	5,81 cm	5,72 cm	5,36 cm	Memenuhi
5	Uji daya lekat	Lebih dari 1 detik (Suhesti, 2021)	4,08 detik	4,10 detik	4,17 detik	Memenuhi

Menurut Farmakope Indonesia Edisi VI (2020), uji organoleptis merupakan uji evaluasi pada sediaan yang dititikberatkan pada warna, bentuk, dan bau sediaan. Hasil uji organoleptis menunjukkan bahwa P2, P3 dan P4 semua berbau khas MBM. Warna dari P2, P3 dan P4 berwarna oranye kemerahan dimana warna sediaan pada P4 mempunyai hasil yang lebih merah dibandingkan P2 dan P3. Hal tersebut selaras dengan teori peningkatan konsentrasi pada sediaan dimana MBM mempunyai warna merah yang sangat pekat. Namun, perbedaan warna yang dihasilkan oleh P2, P3, dan P4 tidak terlihat secara signifikan. Hal tersebut dikarenakan basis gel yang digunakan adalah Carbopol 940 dimana basis carbopol 940 akan menghasilkan gel yang sangat jernih sehingga penambahan konsentrasi emulgel tidak menghasilkan perbedaan warna secara signifikan (Agustina, 2013).

Uji homogenitas dilakukan untuk mengetahui tingkat homogenitas pada sediaan gel yang telah di buat. Pengujian dapat dilihat berdasarkan tidak ada butiran kasar atau bahan yang tidak tercampur rata dan membentuk gumpalan (Kharisma, 2020). Emulgel yang tercampur dengan baik dapat memenuhi syarat sediaan obat yang baik dimana sediaan topikal yang homogen akan memberikan rasa nyaman saat diaplikasikan ke kulit. Namun apabila sediaan topikal tidak homogen yang mana mengandung partikel asing, partikel kasar atau tidak tercampurnya bahan aktif dengan eksipien, maka akan menurunkan kualitas sediaan topikal (Auliasari dkk, 2018). Pada uji ini menunjukkan bahwa emulgel P2, P3, dan P4 semuanya homogen dimana ketiga formulasi tersebut menunjukkan bahwa bahan aktif maupun bahan eksipien bercampur dengan baik, tidak adanya gumpalan, tidak ada partikel asing dan minim udara yang terjebak pada sediaan dilihat dari bawah

cahaya. Hasil yang baik uji homogenitas ini didukung dengan adanya pencampuran yang baik antara basis gel dengan eksipien lainnya. Pencampuran antara keseluruhan bahan dihomogenkan dengan *homogenizer* ditentukan berdasarkan besarnya kecepatan dan waktu pengadukan yang tepat. Pada penelitian ini, digunakan kecepatan homogenizer sebesar 6000 rpm selama 2 menit dimana hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Amar dkk (2021) bahwa kecepatan pengadukan sebesar 6000 rpm dengan waktu homogenasi yang tepat dapat menghasilkan sediaan yang homogen. Selain itu, carbopol 940 mempunyai viskositas yang cukup sebagai basis gel (Tsabitah dkk, 2020). Penambahan TEA ke dalam basis gel sebagai *alkalizing agent* dapat menetralkan keasaman Carbopol 940 serta dapat membentuk basis gel jernih dan kental. TEA akan mengionisasi Carbopol 940, menghasilkan muatan negatif sepanjang struktur backbone polimer sehingga menghasilkan adanya tolakan elektrostatis. Akibat adanya tolakan elektrostatis tersebut terbentuklah struktur tiga dimensi diperpanjang yang membentuk adanya massa gel yang padat dan homogen (Tsabitah dkk, 2020).

Pada hasil uji pH yang dilakukan terhadap emulgel MBM yang ditunjukkan oleh tabel 5.1 memperlihatkan hasil uji yang baik. Standar pada hasil uji pH sediaan emulgel menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) No. 06-2588 yakni berada pada rentang 4,5-6,5, penelitian yang dilakukan Dewi dkk (2018) yaitu pada rentang 4,2-6,5, dan juga penelitian Kharisma dan Safitri (2020) dalam rentang 4,5-6,5. Berdasarkan hasil data yang didapatkan, pengukuran pH ketiga formula tersebut masih memenuhi syarat uji pH pada evaluasi sediaan fisik emulgel. Pengujian pH sediaan penting untuk dilakukan karena nilai pH yang terlalu rendah akan merusak

barrier kulit dan iritatif terhadap kulit, sementara pH yang terlalu tinggi dapat membuat kulit menjadi kering (Husnani dkk, 2016). Pada hasil evaluasi uji pH, didapatkan pH P4 memiliki pH paling rendah dibandingkan P2 dan P3 karena penambahan konsentrasi MBM dapat menurunkan pH emulgel dikarenakan MBM memiliki pH asam yaitu 5,24 (Febrina dkk, 2007).

Pada ketiga formulasi MBM, didapatkan hasil uji daya sebar yang menunjukkan bahwa ketiga formulasi tersebut memenuhi syarat daya sebar yang baik untuk sediaan semi solid. Uji daya sebar merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan kecepatan penyebaran sediaan topikal pada kulit saat dioleskan (Saryanti dkk, 2019). Besarnya daya sebar suatu sediaan topikal dimana baiknya nilai daya sebar suatu sediaan berbanding lurus dengan mudahnya sediaan tersebut untuk diaplikasikan ke kulit. Adanya variasi konsentrasi MBM akan memberikan variasi pada tingkat viskositas suatu sediaan dimana semakin banyak minyak MBM yang digunakan, maka akan semakin tinggi viskositasnya sehingga daya sebar menjadi semakin rendah (Saryanti dkk, 2019). Pada hasil uji daya sebar P2 mempunyai hasil paling tinggi dibandingkan dengan P3 dan P4 dimana konsentrasi MBM paling besar pada P4 menyebabkan daya sebar sediaan yang dihasilkan semakin kecil.

Sementara itu, pada hasil uji daya lekat emulgel MBM yang ditunjukkan tabel 5.1 mempunyai hasil yang baik dimana Semua formula (P2, P3 dan P4) emulgel MBM tetap masuk pada rentang persyaratan daya lekat sediaan topikal yang baik yaitu lebih dari 1 detik yang mana menandakan bahwa emulgel MBM P2, P3, dan P4 mempunyai daya lekat yang baik untuk sediaan topikal. Uji daya lekat ini

mempunyai tujuan untuk untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan oleh gel untuk melekat pada kulit. Semakin lama gel yang melekat pada kulit maka semakin banyak zat aktif yang berdifusi ke dalam kulit, sehingga semakin efektif dalam penggunaannya (Hastuty dkk, 2018). Tidak ada persyaratan khusus mengenai daya lekat sediaan semisolid, namun sebaiknya daya lekat sediaan semisolid adalah lebih dari 1 detik (Suhesti, 2021). Adanya variasi pada hasil daya lekat emulgel MBM disebabkan karena variasi konsentrasi minyak MBM yang digunakan. Pada P4 dengan konsentrasi minyak paling tinggi (15%) mempunyai konsistensi yang lebih kental, sehingga memberikan daya lekat yang lebih lama dibandingkan dengan P2 (5%) dan P3 (10%). Pada kondisi ini berlaku suatu keadaan di mana semakin kental konsistensi suatu sediaan, semakin kecil daya sebarannya, maka daya lekatnya akan semakin lama (Nofriyanti dkk., 2020).

5.2 Hasil Uji Efektivitas Emulsi Gel Minyak Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) terhadap Kepadatan Kolagen

Penelitian ini memanfaatkan minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) sebagai zat aktif yang diformulasikan dalam bentuk sediaan emulgel. Senyawa aktif pada minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) yang berperan sebagai agen penyembuh luka yaitu tokoferol, karotenoid, asam oleat, asam linoleat, dan asam linolenat. Pemberian emulgel (*Pandanus conoideus* Lamk.) sebagai pengobatan luka insisi bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas terhadap kepadatan kolagen yang terbentuk. Uji aktivitas pada penelitian ini dilakukan terhadap hewan coba tikus wistar galur putih (*Rattus norvegicus*). Desain penelitian dilakukan berdasarkan rumus replikasi *Federer* dimana menurut Irmawartini dan Nurhaedah

(2017), rumus tersebut digunakan untuk menganalisis keterkaitan antara variabel melalui penelitian eksperimental di laboratorium. Adapun hasil jumlah sampel setelah dilakukan perhitungan menggunakan rumus *Federer* didapatkan sebanyak 25 ekor tikus (*Rattus norvegicus*).

Luka insisi dibuat pada area punggung tikus (*Rattus norvegicus*) yang sudah dicukur terlebih dahulu dan telah dioles alkohol swab. Penggunaan alkohol swab bertujuan sebagai antiseptik untuk menghindari kontaminasi oleh bakteri (Laksono dkk, 2020). Pembuatan luka insisi dilakukan dengan menyayat area punggung tikus sepanjang 4 cm dan kedalaman 0,2 cm menggunakan pisau bedah untuk menyayat area punggung serta jangka sorong untuk mengukur kedalaman sayatan agar pembuatan luka insisi pada sampel lebih presisi dan homogen. Sebelum luka sayat dibuat, terlebih dahulu tikus (*Rattus norvegicus*) dianestesi secara intramuskular menggunakan kombinasi ketamine dan xylazine dengan perbandingan dosis yakni 1:1. Dosis tersebut merupakan dosis kombinasi yang tepat dan sesuai untuk tindakan anestesi pada tikus dikarenakan aman dan sinergis dengan efek analgesik dan relaksasi otot (Dharmayuda, 2012).

Terapi pemberian sediaan dilakukan sebanyak 1 FTU (0,5 g) dengan frekuensi pemberian 2 kali sehari sesuai kelompok perlakuan dimana pemberian sediaan dilakukan selama 14 hari. Pada penelitian ini terdapat 6 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok berjumlah 5 ekor tikus dimana terdiri atas kontrol positif yang diberi salep *povidone iodine* 10%, kontrol negatif diberikan basis gel, kelompok P1 diberikan minyak buah merah murni, serta P2, P3, dan P4 diberikan emulgel minyak buah merah dengan konsentrasi 5% b/v, 10% b/v, dan

15% b/v. Adapun variasi dosis yang digunakan bertujuan untuk mengetahui dosis optimal dari emulgel minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) yang dapat mempercepat proses penyembuhan luka yang dalam hal ini adalah faktor endogen kepadatan kolagen.

Aktivitas emulgel minyak buah merah terhadap persentase kepadatan kolagen tikus (*Rattus norvegicus*) dapat diamati dari hasil preparat histopatologi yang telah dilakukan menggunakan pewarnaan *hematoksin-eosin* (HE). Pewarnaan *hematoksin-eosin* (HE) didasarkan pada prinsip sifat asam basa dari larutan yang kemudian akan berikatan dengan komponen atau jaringan yang mempunyai kecenderungan terhadap asam maupun basa sehingga terjadilah ikatan antara molekul zat warna dengan komponen jaringan (Khristian dan Inderiati, 2017). Apabila diwarnai dengan hematoksin dan eosin, serat kolagen akan tampak sebagai berkas serat berwarna merah, panjang, dan bergelombang (Gartner dan Hiatt, 2007). Pengamatan dilakukan dengan mikroskop trinokuler pada perbesaran 400x dengan 5 lapang pandang. Pengukuran kepadatan kolagen menggunakan *software ImageJ 1.52V* berdasarkan *Hue Saturation Brightness* (HSB) (Putri dan Sakinah, 2020). Penggunaan *Hue Saturation Brightness* (HSB) pada *software ImageJ* bertujuan untuk memfilter area yang perlu diukur. Pemfilteran dicapai dengan menetapkan batas minimum dan maksimum dengan batas semua area yang difilter ditampilkan dalam latar warna depan (merah) dan area yang tidak difilter sebagai latar warna belakang (hitam keabu-abuan) (Mezei *et al.*, 2011). Adapun hasil yang didapatkan berupa persentase area dari kepadatan kolagen yang terbentuk (area dengan warna depan merah) (Putri dan Sakinah, 2020).

Data hasil kepadatan kolagen diolah menggunakan aplikasi *Software Statistical Program for Social Science* (SPSS) versi 25 for windows yang diinterpretasikan dalam bentuk persentase area kepadatan kolagen. Pada penelitian ini, uji normalitas *Saphiro Wilk* digunakan karena sampel berjumlah kurang dari 50. Parameter dari uji normalitas ini adalah data dikatakan normal apabila $p\text{-value} > 0,05$ (Setyawan, 2021). Hasil dari uji normalitas didapatkan berdasarkan tabel berikut :

Tabel 5. 2 Hasil Uji Normalitas

Treatment Group	P-Value Shapiro-Wilk	Annotation
K-	0,222	Normal
K+	0,288	
P1	0,334	
P2	0,767	
P3	0,554	
P4	0,282	

Berdasarkan data hasil uji normalitas yang dihasilkan menunjukkan bahwa $p\text{-value}$ dari masing-masing kelompok yakni 0,222 (K-); 0,288 (K+); 0,334 (P1); 0,767 (P2); 0,554 (P3); dan 0,282 (P4) dimana seluruh kelompok menunjukkan $p\text{-value} > 0,05$. Hal tersebut menginterpretasikan bahwa data yang didapatkan telah terdistribusi dengan normal dan data dapat diolah dengan pengujian homogenitas *Levene Test*.

Uji homogenitas dilakukan untuk memperlihatkan varian data dari sampel mempunyai nilai data yang homogen atau tidak. Data yang homogen akan memperlihatkan bahwa sampel yang dimiliki mempunyai karakteristik yang

seragam atau tidak (Sari, 2019). Data dapat dikatakan homogen apabila mempunyai nilai P (Sig.) > 0.05 (Nuryadi, T. D., & Astuti, 2017). Hasil dari uji homogenitas yakni sebagai berikut :

Tabel 5. 3 Hasil Uji Homogenitas

Treatment Group	P-Value Levene's Test	Annotation
K-	0,482	Homogeneous
K+		
P1		
P2		
P3		
P4		

Pada penelitian ini, data dari setiap kelompok mempunyai hasil uji homogenitas dengan p -value $> 0,05$ (lampiran 6) dimana hasil tersebut memperlihatkan bahwa data mempunyai variansi yang sama. Dari hasil uji normalitas dan homogenitas yang memiliki hasil data normal dan homogen, maka dapat digunakan uji *One Way ANOVA* sebagai uji beda.

One Way ANOVA merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui perbedaan rata-rata dari dua kelompok sampel atau lebih yang tidak berpasangan (Masturoh dan Anggita, 2018). Analisis data tipe *One Way ANOVA* digunakan pada penelitian yang mempunyai satu perlakuan tiap kelompok. Varian dari sampel dapat dikatakan identik atau tidak berbeda signifikan apabila mempunyai nilai P (Sig.) > 0.05 sehingga H_0 diterima. Namun, apabila mempunyai nilai P (Sig.) < 0.05 maka varian dari sampel tidak identik atau berbeda signifikan sehingga H_0 ditolak (Purnomo, H dan Syamsul, 2017). Hasil uji *One Way ANOVA* ditunjukkan pada

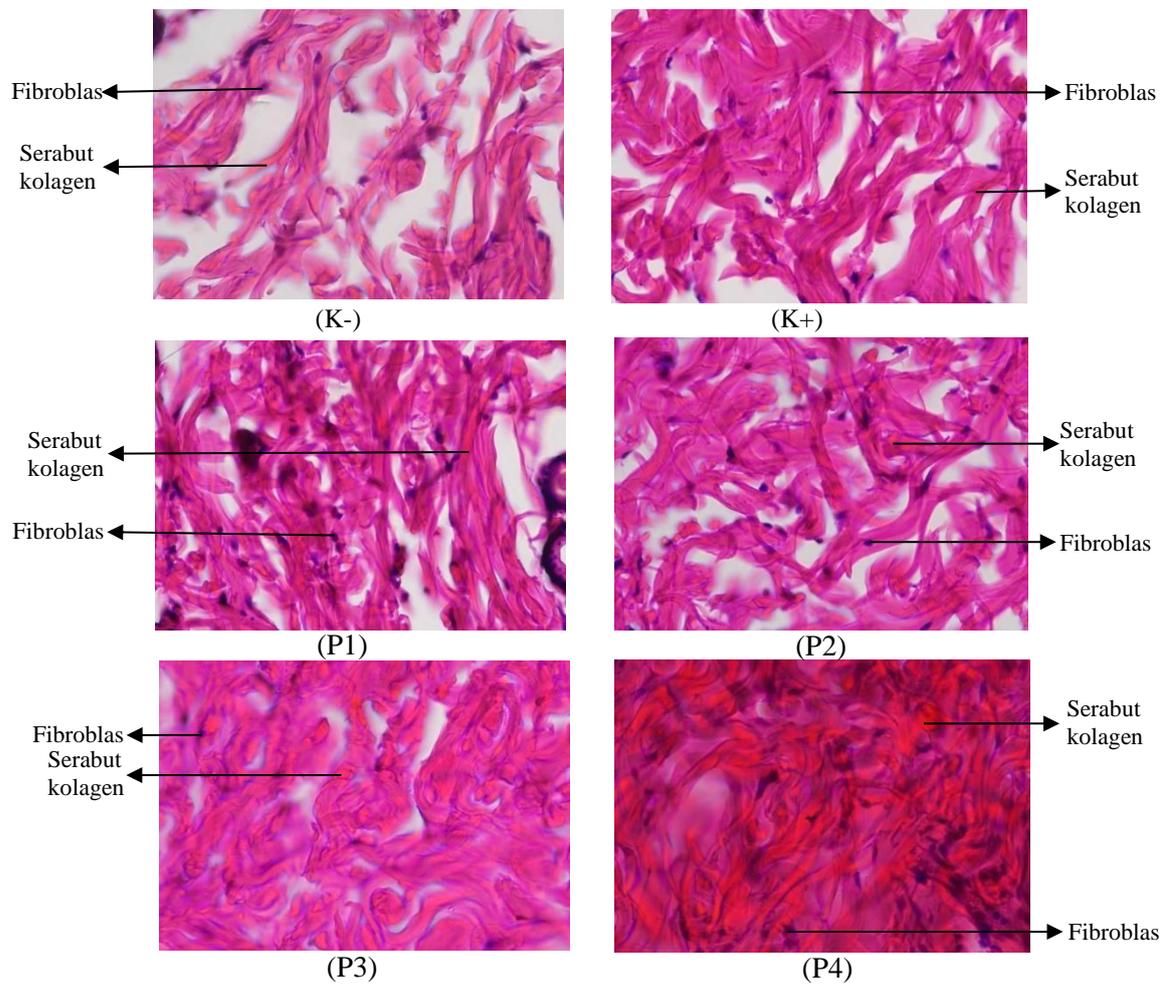
tabel 5.4 berikut :

Tabel 5. 4 Hasil Uji *One Way ANOVA*

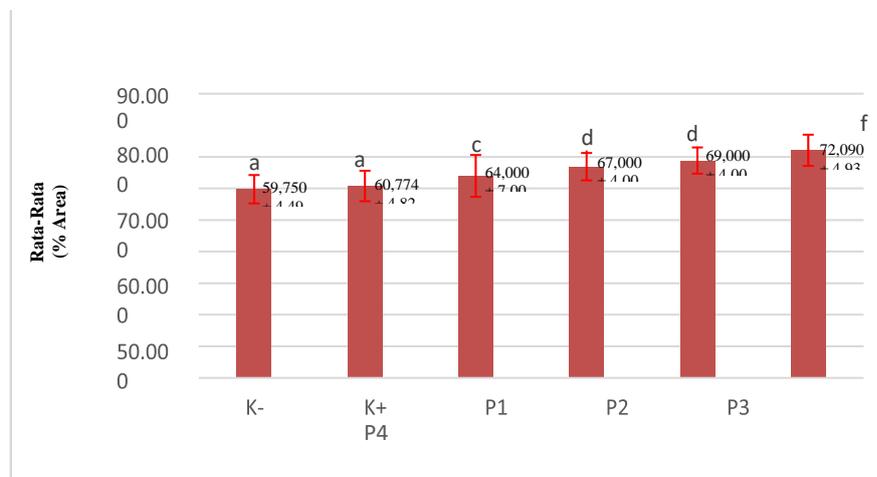
Treatment Group	<i>P-Value One Way ANOVA</i>	Annotation
K-	0,000	Significantly different
K+		
P1		
P2		
P3		
P4		

Dari tabel 5.4 di atas, didapatkan nilai signifikansi *p-value* dari seluruh kelompok sebesar 0,000. Hal tersebut dapat diartikan bahwa H_0 ditolak dan H_1 dapat diterima atau terjadi perbedaan yang signifikan ($P < 0.05$) terhadap kepadatan kolagen antara kelompok kontrol positif, kelompok negatif, dan kelompok perlakuan dengan konsentrasi 5%, 15%, dan 15%. Ketika H_0 ditolak, dapat dilakukan analisis lanjutan untuk mengetahui perbedaan setiap kelompok perlakuan yakni menggunakan analisis *Post Hoc Least Difference Significant (LSD)*.

Uji *Post Hoc Least Difference Significant (LSD)* merupakan prosedur lanjutan dengan membandingkan perbedaan secara signifikan pada kelompok perlakuan yang diamati (Montgomry, 2013). Kelompok perlakuan dapat dikatakan identik apabila nilai $P > 0.05$ sehingga H_0 dapat diterima. Namun apabila nilai $P < 0.05$, maka terdapat perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan, sehingga H_0 ditolak (Purnomo, H dan Syamsul, 2017). Adapun hasil kepadatan kolagen secara histopatologi serta hasil uji statistik ditunjukkan pada tabel dan gambar berikut :



Gambar 5. 1 Histopatologi Kolagen pada Tiap Kelompok Perlakuan



Keterangan : notasi huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok

Gambar 5. 2 Grafik Histogram Rerata Persen Area Kolagen

Dari hasil data yang didapatkan pada gambar 5.1 dan 5.2, menunjukkan sebaran kepadatan kolagen pada setiap kelompok perlakuan. Pada hasil uji histopatologi (gambar 5.1) kelompok kontrol negatif (K-) memiliki kepadatan kolagen yang paling sedikit diantara kelompok yang lainnya dimana terdapat banyak fibroblas yang ditandai dengan warna biru keunguan serta sedikitnya serabut kolagen yang terbentuk (Khristian dan Inderiati, 2017). Hal ini menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif (K-) masih berada dalam fase proliferasi awal yang ditandai dengan banyaknya fibroblas dimana fibroblas merupakan salah satu jaringan granulasi. Salah satu kondisi dimana penyembuhan luka masih dalam tahap awal proliferasi adalah belum terjadi penurunan jaringan granulasi yakni fibroblas (Previanda dkk, 2021). Sementara pada kelompok kontrol positif (K+) dan kelompok perlakuan (P1, P2, P3, dan P4) lebih mengalami percepatan penyembuhan yang ditandai dengan banyaknya serabut kolagen dimana kelompok tersebut telah mencapai fase proliferasi akhir. Hal tersebut menunjukkan bahwa telah terjadi penurunan jaringan granulasi dan proses penyembuhan luka mencapai fase akhir proliferasi (Previanda dkk, 2021). Rendahnya kepadatan kolagen pada kontrol negatif (K-) juga ditunjukkan pada hasil rerata persen area (gambar 5.2) bahwa kelompok kontrol negatif (K-) memiliki rerata persen area paling rendah diantara kelompok yang lain.

Sesuai definisinya, luka sendiri merupakan suatu kerusakan integritas kulit atau terjadinya diskontinuitas pada suatu jaringan (Saputro, 2014). Tujuan utama pengobatan luka yaitu mengembalikan fungsi dan bentuk jaringan kulit kembali normal dengan komplikasi lokal yang seminimal mungkin (Masir dkk, 2012).

Penyembuhan luka terjadi dalam beberapa tahapan yaitu inflamasi, proliferasi, serta maturasi (Wijaya, 2018). Proses penyembuhan pada luka sebenarnya dapat terjadi secara alami. Pada saat terjadinya luka, kulit akan mengalami kerusakan membran sel yang nantinya kerusakan tersebut akan menstimulasi terjadinya metabolisme achrahidonat acid. Metabolisme achrahidonat acid pada jalur sikloosigenase menyebabkan pengeluaran mediator inflamasi yaitu prostaglandin. Dengan dikeluarkannya prostaglandin, maka proses inflamasi pada kulit yang mengalami luka akan terjadi (Suharto dan Etika, 2019). Akan tetapi, untuk menunjang aktivitas fisik yang dilakukan, manusia membutuhkan keadaan fisik yang prima dengan tidak adanya rasa sakit yang dirasakan. Untuk itu, proses reduktivitas rasa sakit pada inflamasi luka menjadi hal yang penting dalam menunjang kesembuhan dan kenyamanan penderitanya. Rasa sakit tersebut dapat dikurangi dengan adanya aktivitas zat aktif yang berfungsi untuk mempercepat terlewatnya fase inflamasi sehingga mempercepat proses kolagenisasi, pembentukan benang fibrin, dan juga pembentukan jaringan-jaringan penutup luka. Namun, ketiadaan kandungan zat aktif pada kelompok negatif (K-) menjadikan proses pembentukan jaringan baru termasuk proses kolagenisasi tersebut menjadi lebih lama dan menghasilkan persentase area kolagen yang lebih sedikit.

Sementara itu, pada kelompok kontrol positif (K+) yang diberi salep *povidone iodine 10%* memiliki penampakan serabut kolagen yang lebih banyak serta rata-rata persen area yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif (K-). Namun, berdasarkan rerata kepadatan kolagen dan hasil uji Post Hoc LSD antara kelompok kontrol negatif (K-) dan kelompok positif (K+) tidak

menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Hal tersebut dikarenakan peran *povidone iodine 10%* dalam penyembuhan luka bersifat sebagai antiseptik yang dapat membunuh bakteri gram positif dan gram negatif (termasuk resisten antibiotik), jamur atau ragi, virus, serta protozoa sehingga penggunaan *povidone iodine 10%* pada pengobatan luka memang dapat meningkatkan kepadatan kolagen karena proses inflamasi terlewati lebih awal, namun peningkatan kolagen tersebut terjadi secara lambat karena tidak ada zat aktif untuk memicu proses kolagenisasi dalam jumlah yang besar (Rachmanita dkk, 2019). Hal tersebut juga dibuktikan dari data hasil penelitian yang dilakukan oleh Rahmawati (2014) yang berjudul Perbedaan Efek Perawatan Luka Menggunakan Gerusan Daun Petai Cina (*Leucaena glauca, Benth*) Dan *Povidone Iodine 10 %* dalam Mempercepat Penyembuhan Luka Bersih Pada marmut (*Cavia porcellus*) menunjukkan bahwa perawatan luka menggunakan gerusan daun petai cina dan *povidone iodine 10%* menunjukkan bahwa gerusan daun petai cina 30 gram mempunyai lama penyembuhan yang lebih cepat dibandingkan dengan luka insisi yang diberikan *povidone iodine 10%*. Hal tersebut disebabkan karena pada daun petai cina mengandung zat aktif saponin sebagai aktivitas antiinflamasi dan antioksidan untuk mendukung proses kolagenisasi sehingga mempercepat penyembuhan luka. Berbeda dengan *povidone iodine 10%* yang hanya mempunyai aktivitas antibakteri saja.

Pada kelompok perlakuan yang diberikan minyak buah merah murni (P1) dan emulgel minyak buah merah baik pada perlakuan 2 (P2), perlakuan 3 (P3), dan perlakuan 4 (P4) terjadi perbedaan hasil persentase kepadatan kolagen yang lebih

besar dibandingkan dengan kelompok positif (K+). Aktivitas antibakteri yang ada pada povidone iodine 10% tidak memicu proses sintesis kolagen dalam jumlah besar dimana povidone iodine juga mempunyai efek negatif yakni dapat menghambat pertumbuhan fibroblas sehingga dapat menurunkan sintesis kolagen (Cahya dkk, 2020). Selain itu, pada penelitian Nurdiantini dkk (2017) menyatakan bahwa penggunaan povidone iodine 10% terhadap luka sayatan menghasilkan penyembuhan yang lebih lama dengan meninggalkan bekas luka karena povidone iodine 10% memiliki efek samping bersifat iritatif. Proses penyembuhan luka insisi menggunakan bahan aktif minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) juga efektif karena adanya kandungan asam lemak yang terkandung yaitu asam oleat, asam linoleat, dan asam linolenat. Asam oleat dapat mempercepat fase inflamasi yang bekerja dengan cara mengeliminasi patogen sehingga dapat mencegah rusaknya jaringan yang semakin luas (Sales-campos et al, 2012). Asam oleat juga mampu berperan dalam menginduksi *Transforming Growth Factor-beta 3* (TGF- β 3) untuk memproduksi kolagen tipe 3 (Beam et al, 2015). Kolagen memegang peranan penting pada tiap tahapan proses penyembuhan luka karena mampu memperbaiki jaringan yang rusak atau hilang (Gunawan dkk, 2019).

Asam linoleat merupakan omega 6 yang bekerja sebagai prekursor asam arakidonat dengan efek metabolik dan memproduksi prostaglandin, tromboksan, dan leukotiren. Zat tersebut bertindak sebagai mediator inflamasi yang dapat mempercepat terjadinya proses inflamasi (Mendes & Jara, 2020). Prostaglandin tidak hanya mempunyai kemampuan untuk mempercepat inflamasi, namun juga berpotensi secara terapeutik untuk meregenerasi jaringan makrofag (Zhang *et al.*,

2018). Tromboksen yang terbentuk menyebabkan vasokontraksi dan agregasi platelet sehingga terjadi pembekuan darah. Sementara leukotrien berfungsi menarik neutrofil untuk menuju area luka secara infiltrasi untuk melakukan fagositosis dari senyawa asing yang masuk (Mendes & Jara, 2020)

Berdasarkan hasil uji *Post Hoc Least Difference Significant* (LSD) pada lampiran 6, dapat dijelaskan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ($p\text{-value} < 0.05$) antar kelompok perlakuan. Perbedaan yang signifikan terletak antara hasil rata-rata kelompok P1 (minyak buah merah murni) dengan kelompok perlakuan yang diberikan emulgel (P2, P3, dan P4). Hal tersebut dapat diartikan bahwa pemberian emulgel minyak buah merah dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15% memiliki aktivitas terhadap peningkatan kepadatan kolagen pada penyembuhan luka insisi yang lebih cepat. Persentase kepadatan kolagen pada kelompok perlakuan 1 (P1) yang diberikan minyak buah merah murni mempunyai rata-rata paling rendah dibandingkan kelompok perlakuan lainnya dikarenakan kandungan minyak yang tinggi akan menghambat penetrasi zat aktif pada kulit (Novia, 2009). Minyak buah merah merupakan senyawa yang bersifat nonpolar. Sementara, luka insisi stadium 2 merupakan luka yang terjadi dengan rusaknya lapisan epidermis hingga dermis bagian atas. Kulit mempunyai beberapa lapisan dengan sifat kepolaran yang berbeda. Pada bagian epidermis kulit terdapat banyak kandungan lipid yang merupakan senyawa hidrofilik atau bersifat nonpolar. Semakin dalam lapisan kulit, kandungan lipid semakin sedikit dan semakin tinggi sifat kepolarannya (Rahmadhani dkk, 2023). Minyak buah merah yang bersifat nonpolar hanya dapat menembus lapisan kulit yang bersifat nonpolar yakni lapisan stratum

korneum dan epidermis atas dan sulit untuk berpenetrasi pada lapisan dermis yang menjadi pusat infeksi pada luka stadium 2.

Sementara itu, pada kelompok perlakuan yang diberikan emulgel MBM konsentrasi 5% b/v, 10% b/v, dan 15% b/v (P2, P3, P4) memiliki hasil kepadatan kolagen yang lebih tinggi dikarenakan sediaan emulgel dapat berpenetrasi dengan baik di kulit yang mana hal tersebut didukung dengan adanya eksipien atau bahan tambahan yang diformulasikan dalam emulgel MBM. Tujuan ditambahkan eksipien ke dalam formulasi sediaan emulgel bertujuan untuk melengkapi kekurangan dari minyak buah merah itu sendiri dimana peran eksipien dapat melindungi zat aktif, meningkatkan stabilitas dari zat aktif, dan meningkatkan keamanan serta efektifitas dari sediaan itu sendiri (Putri dan Husni, 2017). Pada formulasi sediaan emulgel MBM ini, digunakan propilen glikol sebagai *enhancer* yang mana *enhancer* atau peningkat penetrasi merupakan bahan yang dapat meningkatkan permeabilitas kulit ataupun mengurangi impermeabilitas di kulit. Bahan peningkat penetrasi tidak memiliki efek terapi, namun dapat meningkatkan daya transport obat ke dalam kulit sehingga kandungan zat aktif dapat dihantarkan dengan baik dan bekerja di pusat luka (Rahmawati dkk., 2017).

Minyak buah merah juga mudah mengalami permasalahan pada tingkat stabilitasnya dimana kandungan asam lemak jenuh yang terdapat di minyak buah merah mudah bereaksi dengan oksigen sehingga menyebabkan peningkatan perkembangan *off flavour* (ketengikan) dan hilangnya komponen bioaktif di dalamnya (Sarungallo dkk, 2018). Hal tersebut dapat menyebabkan penurunan aktivitas zat aktif dari minyak buah merah sehingga penggunaan minyak buah

merah murni pada P1 dalam penyembuhan luka insisi menunjukkan hasil kepadatan kolagen yang rendah dibandingkan kelompok perlakuan yang telah diformulasikan ke dalam emulgel (P2, P3, P4). Pada emulgel MBM ditambahkan bahan eksipien berupa metil paraben dan propil paraben sebagai pengawet dan juga BHT sebagai agen antioksidan untuk meningkatkan stabilitas dari sediaan emulgel MBM sehingga kandungan zat aktif tidak mengalami kerusakan dan dapat bekerja secara efektif.

Berdasarkan hasil uji *Post Hoc* LSD pada grafik histogram 5.2 juga dapat dianalisis bahwa terjadi perbedaan rata-rata terhadap hasil persen area antar sediaan emulgel MBM pada P2, P3, dan P4 dimana *p-value* antara P2 berbeda signifikan dengan P4, namun kurang berbeda secara signifikan dengan P3. Dari hasil data tersebut dapat diartikan bahwa peningkatan kepadatan kolagen dengan pemberian emulgel minyak buah merah konsentrasi 15% memiliki aktivitas kolagenisasi yang lebih cepat dibandingkan dengan pemberian emulgel minyak buah merah konsentrasi 5% dan 10%. Pada kadar kandungan yang terdapat di CoA dan komposisi MBM (lampiran 1 dan 2) bahwa di tiap 1 ml minyak buah merah terkandung 120ppm karotenoid, 100ppm tokoferol, 35,81 ppm beta karoten, 14,6 ppm β -kriptosantin, 13,68 ppm α -tokoferol, 7,46% asam oleat, 0,08% asam linoleat, serta 0,83% asam linolenat. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin banyak dosis yang digunakan pada emulgel minyak buah merah yang dalam penelitian ini yakni 15% b/v, maka akan semakin banyak zat aktif yang terkandung di dalamnya untuk menunjang proses pembentukan kolagen. Ketepatan pemberian dosis pada proses terapi juga selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Gayatri

(2021) yang menyatakan bahwa penggunaan dosis terapi yang tepat dalam pemberian obat akan memberikan efek terapi yang optimal. Dosis obat yang berlebih dapat menimbulkan efek toksik, sedangkan apabila dosis terlalu kecil atau sedikit maka obat tidak akan memberikan efek terapi (Nuryati, 2017). Selain itu, pengobatan dengan bentuk sediaan emulgel dapat berpengaruh terhadap proses penyembuhan luka dimana bentuk sediaan emulgel dapat meningkatkan stabilitas dan membuatnya menjadi sistem *dual control release* sehingga pelepasan zat aktif pada emulgel akan lebih baik dibandingkan dengan sistem *topical drug delivery* (Ajazuddin *et al.*, 2013).

5.3 Pemanfaatan Minyak Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) dalam Islam

Pemanfaatan minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) selaras dengan upaya atau ikhtiar manusia untuk mencapai kesembuhan dari Allah SWT. Allah SWT akan menyembuhkan penyakit yang dialami oleh setiap hambanya, namun untuk mencapai kesembuhan tersebut tentunya selaras dengan upaya dan ikhtiar yang maksimal. Ketika Rasulullah SAW mengalami luka saat terjadinya perang uhud, dilakukan pengobatan menggunakan daun bardy yang dibakar. Peristiwa tersebut menunjukkan adanya usaha untuk mencapai kesembuhan, dalam hal ini yaitu proses penyembuhan luka. Pemanfaatan tumbuhan yang berpotensi untuk mengatasi masalah kesehatan menunjukkan bukti kekuasaan Allah SWT bahwa tidak ada sesuatu hal yang diciptakan sia-sia atau tanpa mempunyai manfaat. Keberadaan tumbuhan di bumi telah menjadi berkah tersendiri bagi manusia. Dengan kemampuan berpikirnya, tumbuhan dapat menjadi “sesuatu” yang bernilai

lebih dalam segi produktif yang meliputi semua manfaat yang bisa diambil oleh manusia untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku industri seperti bahan baku pada industri obat. Adapun bagian tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat yaitu bagian daun, batang, akar, rimpang, bunga, buah, serta bijinya. Hal tersebut tertera dalam firman Allah SWT dalam surat Adz-Dzariyat (51) ayat 49 :

وَمِنْ كُلِّ شَيْءٍ خَلَقْنَا زَوْجَيْنِ لَعَلَّكُمْ تَذَكَّرُونَ

Artinya : “dan segala sesuatu kami ciptakan berpasang-pasangan supaya kamu mengingat kebesaran” (Q.S Adz-Dzariyat : 49)

Berdasarkan ayat di atas, dalam tafsir imam Ibnu Katsir dijelaskan bahwa semua makhluk hidup memiliki pasangannya, ada langit dan bumi, siang dan malam, keimanan dan kekufuran, kehidupan dan kematian, kebahagiaan dan kesengsaraan, surga dan neraka, bahkan di dunia hewan dan tumbuhan semuanya berpasang-pasangan. Allah SWT menurunkan penyakit terhadap seseorang dengan menciptakan pasangan dari penyakit tersebut, yaitu obat atau penawarnya (Furi, 2016).

Tumbuh-tumbuhan yang diciptakan oleh Allah SWT di bumi ini dapat dimanfaatkan untuk mengobati berbagai macam penyakit, salah satunya yaitu tanaman buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) yang dapat diambil minyaknya untuk alternatif pengobatan pada luka insisi. Maka dari itu, penyembuhan suatu penyakit dapat diperoleh dari pemanfaatan tanaman sebagai obat. Hal tersebut sesuai dengan hadist yang diriwayatkan oleh Imam Abu Hurairah R.A di bawah ini:

حَدَّثَنَا مُحَمَّدُ بْنُ رُمْحٍ وَمُحَمَّدُ بْنُ الْحَارِثِ الْمِصْرِيُّانِ قَالَا حَدَّثَنَا اللَّيْثُ بْنُ سَعْدٍ عَنْ
عُقَيْلٍ عَنْ ابْنِ شِهَابٍ أَخْبَرَنِي أَبُو سَلَمَةَ بْنُ عَبْدِ الرَّحْمَنِ وَسَعِيدُ بْنُ الْمُسَيَّبِ أَنَّ أَبَا
هُرَيْرَةَ أَخْبَرَهُمَا أَنَّهُ سَمِعَ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ يَقُولُ إِنَّ فِي الْحَبَّةِ السَّوْدَاءِ
شِفَاءً مِنْ كُلِّ دَاءٍ إِلَّا السَّامَ وَالسَّامُ الْمَوْتُ وَالْحَبَّةُ السَّوْدَاءُ الشُّونِيزُ

Artinya : Telah menceritakan kepada kami Muhammad bin Rumh dan Muhammad bin Al Harits Al Mushriyan keduanya berkata ; telah menceritakan kepada kami Al Laits bin Sa'd dari 'Uqail dari Ibnu Syihab telah mengabarkan kepadaku Abu Salamah bin Abdurrahman dan Sa'id bin Al Musayyab bahwa Abu Hurairah mengabarkan kepada keduanya, bahwa dia mendengar Rasulullah SAW bersabda : "Sesungguhnya dalam habbatus sauda' (jintan hitam) terdapat obat dari segala jenis penyakit kecuali as saam, dan as saam adalah kematian, dan habbatus sauda' adalah Asy syuni" (HR. Abu Hurairah, R.A).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa emulgel minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) yang mengandung senyawa aktif karotenoid, tokoferol, dan asam lemak tak jenuh (asam oleat, asam linoleat, dan asam linolenat) dapat merangsang peningkatan persen area kepadatan kolagen pada luka insisi tikus, sehingga dapat membantu dan mempercepat proses penyembuhan luka. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, maka emulgel minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) mempunyai peran sebagai salah satu terapi pengobatan dalam penyembuhan luka.

BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Pemberian minyak buah merah murni (*Pandanus conoideus* Lamk.) dan emulgel minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) konsentrasi 5% b/v, 10% b/v, dan 15% b/v dapat meningkatkan kepadatan kolagen pada penyembuhan luka insisi tikus (*Rattus norvegicus*) yang ditunjukkan dengan hasil kepadatan kolagen lebih banyak dibandingkan kelompok kontrol negatif (K-) dan kelompok kontrol positif (K+).
2. Perbandingan efektivitas pemberian emulgel minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) konsentrasi 5% b/v, 10% b/v, dan 15% b/v lebih efektif dibandingkan dengan pemberian minyak buah merah murni (*Pandanus conoideus* Lamk.) yang ditunjukkan dengan hasil kepadatan kolagen kelompok P2, P3, dan P4 lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan kelompok P1.
3. Konsentrasi dosis optimal emulgel minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) terhadap peningkatan kepadatan kolagen pada penyembuhan luka insisi tikus (*Rattus norvegicus*) ditunjukkan pada emulgel minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) dengan konsentrasi 15%.

6.2 Saran

Berdasarkan hasil dan kesimpulan di atas, maka disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk :

1. Menggunakan variasi dosis yang lebih tinggi untuk mengetahui dosis terapi maksimal dan dosis toksik pada pengobatan luka insisi menggunakan emulgel minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.).
2. Menggunakan kal
3. Melakukan penelitian lebih lanjut pada fase lain penyembuhan luka seperti fase inflamasi untuk melihat aktivitas antiinflamasi dari minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.).

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, R., Ahmad, N., Naqvi, A.A., Shehzad, A., and Al Ghamdi. (2016). Role of Traditional Islamic and Arabic Plants in Cancer Therapy. *Journal Tradist Complement Med*, 7(2), 1-10.
- Anik. (2015). *Perawatan luka modern (modern woundcare) terkini dan terlengkap*. Bogor : In Media, 35-39.
- Anjaswara, A., et al. (2018). The Effect of Giving Formulation of Red Fruit Oil Gel Emulsion (*Pandanus Conoideus Lamk*) on Healing Speed of Burns Degree IIA in White Male Rats Wistar Strain (*Rattus Norvegicus L.*). *International Journal of Drug Delivery Technology*, 8 (4), 175-179.
- Anwar S.H., dkk. (2017). Kombinasi Pati Sukun Termodifikasi OSA (*Octenyl Succinic Anhydrate*) dan Lesitin sebagai Penstabil Emulsi Minyak dalam Air. *Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian*, 14 (3), 14-133.
- Arwani, dkk. (2016). Efektivitas Salep Minyak Buah Merah terhadap Proses Penyembuhan Luka Sayatan pada Tikus Galur Wistar Luka Diabetik Stadium II. *Jurnal Litbang Provinsi Jawa Tengah*, 14(2), 133-146.
- Auliasari, N., Akmal, A., Efendi, C., Farmasi Direktorat Kesehatan Angkatan Darat, L., & Gudang Utara No, J. (2018). Formulation and Physical Stability Test of Pomade Contain Olive Oil (*Olea europaea*) Article History. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 9(2), 45–56.
- Beam, J., Botta, A., Ye, J., Soliman, H., Matier, B. J., Forrest, M., Macleod, K. M., & Ghosh, S. (2015). Excess Linoleic Acid Increases Collagen I/ III Ratio and “ Stiffens ” The Heart Muscle Following High Fat Diets. *Journal of Biological Chemistry*, 290(38), 23371–23384.
- Bernard, L. (Chairman Working Group). (2007). Clinical practice guidelines: Management of diabetic foot infections. *Medicine et maladies infectieuses*, 2(37), 14-25.
- Budi, I.M., dan Paimin, F.R. (2015). *Buah Merah*. Jakarta : Penebar Swadaya, 158-159.
- Cahya, R. W., Yudaniayanti, I. S., Wibawati, P. A., Yunita, M. N., Triakoso, N., & Saputro, A. L. (2020). Pengaruh Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap Kepadatan Kolagen dalam Proses Penyembuhan Luka Eksisi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Medik Veteriner*, 3(1), 25.
- Calder, P. C. (2013). Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Inflammatory Processes: Nutrition or Pharmacology. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 75(3), 645–662.

- Cancerhelps. (2014). *Solusi Cerdas Mencegah dan Mengobati Kanker*. Jakarta Selatan : Agro Media Pustaka, 60-61.
- Cristina, Ana *et al.* (2016). Wound Healing : A Literatur Review. *An Bras Dermatology*, (5), 614-620.
- Dayanti, E. W, dkk. (2021). Efektivitas Kitosan Dari Limbah Kulit Udag Terhadap Angiogenesis dalam Penyembuhan Luka Eksisi pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan. *E-journal Faculty of Veterinary Medicine Universitas Airlangga*, 32 (2), 21-28.
- Damaiyanti, D., Hangtuah, U., Hew, W., Hangtuah, U., Wedarti, Y. R., Hangtuah, U., & Emas, T. (2021). Oxidative Stress Biomarkers Modulation of Parotid Gland by Lemuru Fish Oil from Cigarette Smoke- Induced Rat. February. *Buletin Veteriner Hangtuah*, 13(4), 1276.
- Dewi, Arni. (2012). Pembentukan Kolagen dalam Menentukan Kualitas Penyembuhan Luka. *Majalah Biomorfologi*, 25(1), 17-20.
- Dharmayudha. (2010). Comparison Effect of Xylazine-Ketamine Hydrochloride Combination With Tiletamine-Zolazepam Combination To Capillary Refill Time (Crt) and the Mucous Membranes Colour. *Journal of Udayana* 2(1), 21–27.
- Diaz-herrera *et al.* (2021). Multicentre Study of Chronic Wounds Point Prevalence in Primary Health Care in the Southern Metropolitan Area of Barcelona. *Journal of Clinical Medicine*, 10(4), 1-11.
- Diwangkari N., Rahmawati R., Safitri D. (2016). Analisis Keragaman pada Data Hilang dalam Rancangan Kisi Seimbang. *Jurnal Gaussian*, 5(1), 153- 162.
- Earlia N., Sutisna I.F., Icam R.D. (2019). Analysis of Fatty Acids on Pliek-U Oil and Its Pharmacologycal Study by Molecular Docking to Flaggrin as a Drug Candidate in Atropic Dermatitis Treatment. *The Scientific World Journal*, 2(8), 77-80.
- Elmitra. (2017). *Buku Dasar-Dasar Farmasetika dan Sediaan Semi Solid*. Cetakan Pertama. ISBN: 978-602-453-333-5. Depublish : Yogyakarta, 17-20.
- Elnar, T. V, dan Ailey, T. B. (2009). The Wound Healing Process : An Overview of The Cellular and Molecular Mechanisms. *Journal National Library of Medicine*, 37(5), 1528.
- Firdaus, N. Z. & Alda, A. A. & Gunawan, I. S. (2020). Potensi Kandungan Biji Anggur dalam Mempercepat Penyembuhan Luka. *Jurnal Peneitian Perawat profesional*, 2(2), 139–146.
- Firdaus, R. dan Pramono, J.S. (2015). Inovasi Buah Merah (*Pandanus Conoideus*) sebagai Balutan Primer dalam Mempertahankan Kelembaban untuk Mempercepat Penyembuhan Luka Dibetik. *Jurnal Husada Mahakam*, 3(9), 452-522.
- Febrina, E., Gozali, D., & Rusdiana, T. (2007). Formulasi Sediaan Emulsi Buah Merah. *Penelitian Formulasi Sediaan Emulsi Buah Merah*. Yogyakarta : Universitas Gajah Mada, 84-96.
- Gartner, L. P. & Hiatt, J. L. (2007). *Buku Ajar Berwarna Histologi*. Belanda

- : Elsevier, 23-31.
- Gunawan, S. A. & Berata, I. K. & Wirata, I. W. (2019). Histopatologi Kulit pada Kesembuhan Luka Insisi Tikus Putih Pasca Pemberian Extracellular Matrix (ECM) yang Berasal dari Vesica Urinaria Babi. *Indonesia Mediscus Veterinus*, 8(3), 313–324.
- Handayani, L. T. (2016). Studi Meta Analisis Perawatan Luka Kaki Diabetes dengan Modern Dressing. *The Indonesian Journal of Health Science*, 6(2), 149–159.
- Hastuty, H. S. B., Purba, P. N., & Nurfadillah, E. (2018). Uji Stabilitas Fisik Formulasi Sediaan Gel Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) dengan Gelling Agent CMC-Na terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 230840. *Gema Kesehatan*, 10(1), 22–27.
- Harlen, W. C., Mughtadi, T. R., Palupi N. S. (2017). Bioavaibilitas α -Tokoferol Minuman Emulsi Minyak Sawit dalam Plasma Darah dan Hati Tikus (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Agritech*, 37 (3), 352-361.
- Hasanah, Annisa. (2015). Efek Jus Bawang Bombay (*Allum cepa* Linn.) terhadap Motilitas Spermatozoa Tikus yang Diinduksi Streptozotocin. *Jurnal Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Malang*, 11(2), 92- 102.
- Hatai, M. H., Yoshitomi T., Nishigaki, dan M Gao. (2011). *Efek Hambat dan Mekanisme Buah Merah (Pandanus conoideus) Minyak di Melanogenesis*. Jepang : Farmasi Conference Shizuoka, Pertemuan Buah Merah pada 15 Mei 2011.
- Hatta, Hastuti Triani. (2016). *Bahan Ajar Histologi Jarigan Ikat I*. Universitas Hasanudin : Makassar.
- Hervista, M. (2017). *Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (Carica papaya L.) terhadap Folikulogenesis Pada Ovarium Tikus (Mus musculus L.)*. Skripsi. Tidak Diterbitkan. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Lampung : Bandar Lampung.
- Husein, S. G., Sundalian, M., & Husna, N. (2021). Review: Analisis Komponen Senyawa Kimia Krokot (*Portulaca oleraceae* L. dan *Portulaca grandiflora* Hook.). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 3(2), 317–327.
- Husnani, & Al Muazham, M. F. (2017). Optimasi Parameter Fisik Viskositas, Daya Sebar Dan Daya Lekat Pada Basis Natrium Cmc Dan Carbopol 940 Pada Gel Madu Dengan Metode Simplex Lattice Design. *Jurnal Ilmu Farmasi & Farmasi Klinik*, 14(1), 11–18.
- Idola Perdana, dkk. (2019). Ekstrak Jahe (*Zingiber Officinale Roscoe*) Berpengaruh Terhadap Kepadatan Serabut Kolagen Luka Insisi. *Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan*, 7(1), 27-36.
- Iqbal Muhammad, dkk. (2021). Penggunaan SEM dan Image-J dalam Mempelajari Ketebalan Lapisan Mikrostruktur. *Journal of Applied Electrical Engineering*, 5(2), 69-74.

- Islam, M. T., Hornedo, N. R., Ciotti, S., Ackermann, C. (2004). Rheological Characterization of Topical Carbomer Gels Neutralized to Different pH. *Pharmaceutical Research*, 21(7), 1192-1199.
- Kementrian Agama RI. *Al-Quran dan Terjemahannya*. (2016). Jakarta : Kementrian Agama Republik Indonesia.
- Khristian, E & Inderiati, D. (2017). *Sistohistoteknologi*. Jakarta : Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 164-165.
- Kurahashi, T., & Fujii, J. (2015). Roles of antioxidative enzymes in wound healing. *Journal of Developmental Biology*, 3(2), 57–70.
- Kusbandari A. dan Susanti H. (2017). Kandungan Beta Karoten dan Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas terhadap DPPH (1,1-difenil 2- pikrilhidrazil) Ekstrak Buah Blewah (Cucumis melo var. *Cantalupensis* L) secara Spektrofotometri UV-Visibel. *Jurnal Farmasi dan Sains Komunitas*, 14(1), 37-42.
- Labola, Y. A., & Puspita, D. (2018). Peran Antioksi dan Karotenoid Penangkal Radikal Bebas Penyebab Berbagai Penyakit. *Farmasetika.Com (Online Journal)*, 2(5), 12.
- Laksono, B. H., Isngadi, I., & Khalidi, M. R. (2020). Pengaruh Penggunaan Alcohol Swab Terhadap Tingkat Kontaminasi Bakteri pada Blade Laringoskop di Kamar Operasi Sentral Rumah Sakit Saiful Anwar. *Journal of Anaesthesia and Pain*, 1(1), 13–16.
- Lembaga Ilmiah Penelitian Nasional. (2007). *Taksonomi Tumbuhan Endemik Indonesia*. Jakarta : Lembaga Ilmiah Penelitian Nasional, 273.
- Lestari, A. B. S. (2012). Optimasi Kecepatan dan Waktu Pencampuran dalam Pembuatan Emulgel Ekstrak Teh Hijau. *Jurnal Ilu Kefarmasian Indonesia*, 10(2), 119–125.
- Lestari M.P., dan Kusumaningrum N.S. (2021). Gizi untuk Proses Penyembuhan Luka pada Pasien dengan Diabetic Foot Ulcer (DFU). *Journal of Nutrition College*, 10(2), 39-46.
- Li, Q, *et al.* (2020). Early Transmission Dynamics in Wuhan, China of Novel Coronavirus Infected Pneumonia. *N.Engl. Journal Medicion* 382(6), 1199-1207.
- Lorenz, Peter dan Longaker Michael. (2015). Wound : Biology, Pathology, and Management. *Journal of Research Gate*, 7(12), 77-88.
- Masir, O., Manjas, M., Eka Putra, A., & Agus, S. (2012). Pengaruh Cairan Kultur Filtrate Fibroblast (CFF) Terhadap Penyembuhan Luka; Penelitian eksperimental pada Rattus Norvegicus Galur Wistar. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 1(3), 112–117.
- Mendes, F., & Jara, C. P. (2020). Bioactive Fatty Acids in the Resolution of Chronic Inflammation in Skin Wounds. *Advances in Wound Care*, 9(8), 472–490.
- Meikahani Ranintya dan Kriswanto E.S. (2015). Pengembangan Buku Saku Pengenalan Pertolongan dan Perawatan Cedera Olahraga untuk Siswa Sekolah Menengah Pertama. *Jurnal Pendidikan Jasmani*

- Indonesia*, 11(1), 15-22.
- Merdekawati Windu dan Susanto A.B. (2009). Kandungan dan Komposisi Pigmen Rumput Laut serta Potensinya untuk Kesehatan. *Squalen*, 4(2), 41-47.
- Mezei, T., Szakacs, M., Dénes, L., & Egyed-Zsigmond, I. (2011). Semiautomated Image Analysis of High Contrast Tissue Areas Using Hue/Saturation/Brightness Based Color Filtering. *Acta Medica Marisiensis*, 57(6), 679-684.
- Moriwaki, K. (1994). *Genetik in wild mice its Application Tobiomedical Research Tokyo*. Bogor : Karger Bogor, 49-50.
- Morrison . 2012. *Penyembuhan Luka pada Jaringan Kulit Manusia*. Jakarta: PT. Indeks, 66-70.
- Mutiarahmi C.N., Hartady T., Lesmana R. (2021). Kajian Pustaka : Penggunaan Tikus sebagai Hewan Coba di Laboratorium yang Mengacu pada Prinsip Kesejahteraan Hewan. *Indonesia Medicus Veterinus*, (10)1, 134-145.
- Nailufa, Y. (2020). Formulasi Dan Evaluasi Gel Hand Sanitizer Dengan Moisturizer Alga Hijau (*Spirulina Platensis*) Dan Vitamin E. *Paper Knowledge . Toward a Media History of Documents*, 7(2), 107-115.
- Notoatmodjo, S. (2013). *Promosi Kesehatan dan Perilaku Kesehatan*. Jakarta: PT. Rineka Cipta, 19.
- Nurhaedah, I. &. (2017). *Metodologi Penelitian*. Jakarta : Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 74-88.
- Nuryadi, T. D., & Astuti, E. S. (2017). *Dasar-dasar Statistika Penelitian*. Yogyakarta : Sibuku Media, 63-68.
- Potter A., dan Perry A. (2006). *Buku Ajar Fundamental Keperawatan: Konsep, Proses, Dan Praktik*. Jakarta: EGC, 14-19.
- Pramono T., Rivan F., Alfina P.D. (2015). Inovasi Buah Merah (*Pandanus Conoideus*) sebagai Balutan Primer dalam Mempertahankan Kelembaban untuk Mempercepat Penyembuhan Luka Diabetik. *Jurnal Husada Mahakam*, 3(9), 452-522.
- Previanda, A., Indrayanti D.R., Widyaningrum., Subekti. 2021. Uji Keefektifan Sediaan Salep Ekstrak Daun *Cresscentia cujete* terhadap Luka Sayat Tikus (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang*, 9(16), 230-236.
- Purnomo, H & Syamsul, E. (2017). *Statistika Farmasi*. Yogyakarta : Grafika Indah, 92.
- Putrianirma R., Yunita M.N., Hamid I.S., Triakoso N., Yudaniayanti I.S. (2019). Efektivitas Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) Secara Topikal Untuk Reepitelisasi Penyembuhan Luka Insisi Pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*). *Jurnal Medik Veteriner*, 2(1), 30-35.
- Qoriah Alfauziah, T. (2019). Mengenal Kosmetik Pembersih Wajah Micellar Water dan Perkembangannya. *Farmasetika.Com (Online Journal)*, 3(5), 58.

- Rachmanita, R. T., Primarizky, H., Fikri, F., Setiawan, B., Agustono, B., & Saputro, A. L. (2019). Efektivitas Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) Secara Topikal Terhadap Kepadatan Kolagen dalam Penyembuhan Luka Insisi Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Medik Veteriner*, 2(1), 36.
- Rahmadhani Devi, Alvina L, Alhaq M, Siti R. (2023). Tinjauan Interaksi Air dengan Lipid dalam Kulit Menurut Perspektif Sains dan Al-Quran. *Prosiding Konferensi Integrasi Interkoneksi Islam dan Sains*, 5(1), 44-51.
- Rahmadhani Nurmitasari, dkk. (2020). Efektivitas Krim Ekstrak Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) dalam Meningkatkan Jumlah Sel Fibroblas Luka Bakar Derajat II pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Medik Veteriner*, 3(1), 65-75.
- Rahmawati Ika. (2014). Perbedaan Efek Perawatan Luka Menggunakan Gerusan Daun Petai Cina (*Leucaena glauca*, *Benth*) Dan *Povidon Iodine* 10 % Dalam Mempercepat Penyembuhan Luka Bersih Pada marmut (*Cavia porcellus*) . *Jurnal Wiyata*, 1(2), 12-21.
- Rakhma, D. N., Najih, Y. A., dan Pratiwi, F. (2020). Pengaruh Rasio Karbomer dan HPMC Terhadap Karakteristik dan Stabilitas Fisik Emulgel Minyak Ikan Salmon. *Journal of Pharmacy and Science*, 5(2), 43-47.
- Ramadhian, R.M. dan Widiastini, A.A. (2018). Kegunaan Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya*) pada Luka. *Jurnal Agromedicine*, 5(1), 513-518.
- Riskesdas. (2018). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. *Kementerian Kesehatan RI*, 1(1), 1.
- Rodhianto, dkk. (2015). The Differences of using Povidone Iodine 1% and NaCl 0,9% as Oral Decontamination to the Colonization of *Staphylococcus aureus* of Post Operative Patients with General Anesthesia in the Mawar Ward RSUD dr. Abdoer Rahem Situbondo. *Jurnal Keperawatan*, 1(6), 34-43.
- Rosida Azma, dkk. (2018). Pemeriksaan Laboratorium Penyakit Hati, Berkala. *Jurnal Kedokteran Unimus*, 8(12), 123-131.
- Ross Stephen, et al. (2015). *Proses Pembentukan dan Sintesis Kolagen*. Jakarta : Salemba Empat, 107-131.
- Rowe, et al. (2012). *Handbook of Pharmaceutical Excipients, sixth edition*. London : The Pharmaceutical Press, 91-96.
- Rowe, R. C., Sheskey, P., & Quinn, M. (2009). *Handbook of pharmaceutical excipients*. New York : Pharmaceuticals Press, 231.
- Safithri M., Tarman K., Suptijah P., Widowati, N. (2019). Karakteristik Fisikokimia Kolagen Larut Asam dari Kulit Ikan Parang-Parang (*Chirocentrus dorab*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 22(3), 55-67.
- Saini, R. K., & Keum, Y. S. (2018). Omega-3 and omega-6 polyunsaturated

- fatty acids: Dietary sources, metabolism, and significance. *Life Sciences*, 203, 255–267.
- Sales-campos, H., Souza, P. R. De, & Peghini, B. C. (2012). An Overview of the Modulatory Effects of Oleic Acid in Health and Disease An Overview of the Modulatory Effects of Oleic Acid in Health and Disease. December. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 13(2), 201-210.
- Saputro, I. D. (2014). *Dasar-dasar Biomolekuler Penyembuhan Luka*. Surabaya : Global Persada, 54-57.
- Setyawan, I. D. A. (2021). *Petunjuk Praktikum Uji Normalitas & Homogenitas Data Dengan SPSS*. Surakarta : Tahta Media Group, 79-84.
- Sukasah, C. (2017). Payudara, Dalam: Sjamsuhidayat., R & De Jong, Wim. *Buku Ajar Ilmu Bedah, 3 th. Edition*. Jakarta : EGC, 43-48.
- Sreevidya, V. S. (2015). An Overview on Ebola. *Global Dermatology*, 2(1), 92–97.
- Tanwar, Y. S. dan Jain, A. K. (2012). Formulation and Evaluation of Topical Diclofenac Sodium Gel Using Different Gelling Agent. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Healt*, 4(1), 1-6.
- Trisna Ayu Putri, G., & Nurus Sakinah, E. (2020). Efek Fraksi Air Ekstrak Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hailler f.) terhadap Kepadatan Kolagen pada Luka Tikus Diabetes. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, 13(1), 41–49.
- Tsabitah, A. F., Zulkarnain, A. K., Wahyuningsih, M. S. H., & Nugrahaningsih, D. A. A. (2020). Optimasi Carbomer, Propilen Glikol, dan Trietanolamin Dalam Formulasi Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*). *Majalah Farmaseutik*, 16(2), 111.
- Wawo A.H., Lestari P., Setyowati N. (2019). Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) Bioresources Pegunungan Tengah Papua: Keanekaragaman dan Upaya Konservasinya. *Jurnal Biologi Indonesia*, 15(1), 107-121.
- Wijaya, I. (2018). *Perawatan Luka dengan pendekatan multidisplin*. Yogyakarta : Andi Media, 37.
- Wilantari, P.D.. (2019). Aktivitas Penyembuhan Luka Insisi dari Salep Daun Binahong (*Anredera scandes L.*). *Jurnal Farmasi Udayana*, 8(5), 78- 79.
- Wiyono, Gendro. (2011). *Merancang Penelitian Bisnis dengan Alat Analisis SPSS 17.0 & Smart PLS 2.0*. Yogyakarta : Unit Penerbit dan Percetakan STIM YKPN Yogyakarta, 30-32.
- Yani, T.N., Anwar E., Saputri F.C. (2016). Formulasi Emulgel yang Mengandung Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) dan Uji Aktivitasnya terhadap *Propionibacterium acnes* secara In Vitro. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 6(2), 89-97.
- Zhang, S., Liu, Y., Zhang, X., Zhu, D., Qi, X., Cao, X., & Fang, Y. (2018).

Prostaglandin E 2 hydrogel improves cutaneous wound healing via M2 macrophages polarization. *Theranostics*, 8(19), 5348-5361.

LAMPIRAN

Lampiran 1. COA Minyak Buah Merah

	<p>PT. SARASWANTI INDO GENETECH The First Indonesian Molecular Biotechnology Company <small>GRAHA SIG Jl. Rasamala No. 20 Taman Yasmin Bogor 16113 INDONESIA Phone: +62-251-7532 348 (Hunting), +6282 111 516 516, Fax: +62-251-7540 927 http://www.siglaboratory.com</small></p>
	<p>No. 28/F-PP/SMM-SIG Revisi : 3</p>
<p>RESULT OF ANALYSIS</p>	
<p><i>Laporan Hasil Pengujian</i> No : SIG.LHP.VIII.2019.068922</p>	
<p>I. Number / Nomor 1.1. Order No. / No. Order : SIG.Mark.R.VIII.2019.014493</p>	
<p>II. Principal / Pelanggan 2.1. Name / Nama : CV. Budi Mulya Asih 2.2. Address / Alamat : BTN Kota Raja Blok D 134, Jln Cempedak, Kota Jayapura 2.3. Phone / Telepon : 081344297061 2.4. Contact Person / Personil Penghubung : Drs. I Made Budi. M.Si</p>	
<p>III. Sample / Contoh Uji 3.1. Sample Code / Kode Sampel : - 3.2. Batch Number / No Batch : - 3.3. Lot Number / No Lot : - 3.4. Packaging / Kemasan : - 3.5. Production Date / Tanggal Produksi : - 3.6. Expire Date / Tanggal Kadaluarsa : - 3.7. Factory Name / Nama Pabrik : - 3.8. Factory Address / Alamat Pabrik : - 3.9. Trade Mark / Nama Dagang : - 3.10. Sample Name / Nama Sample : Sari Buah Merah 3.11. Other Information / Keterangan Lain : - 3.12. Date of Received / Diterima : August 15, 2019 3.13. Date of Analysis / Tanggal Uji : August 16, 2019 - August 26, 2019 3.14. Type of Analysis / Jenis Uji : Terlampir</p>	
<p>IV. Result / Hasil Uji</p>	
<p>Result of analysis page I</p>	
<p><small>The results of these tests relate only to the sample(s) submitted. This report shall not be reproduced except in full context, without the written approval of PT. Saraswanti Indo Genetech</small></p>	



PT. SARASWANTI INDO GENETECH
The First Indonesian Molecular Biotechnology Company

GRAHA SIG Jl. Rasamala No. 20 Taman Yasmin Bogor 16113 INDONESIA
Phone: +62-251-7532 348 (Hunting), +6282 111 516 516, Fax: +62-251-7540 927 <http://www.siglaboratory.com>

No. 28/F-PP/SMM-SIG
Revisi : 3

Result of Analysis
No : SIG.LHP.VIII.2019.068922

No.	Parameter	Unit	Result	Limit Of Detection	Method
1	Lemak jenuh	%	19.9071	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
2	C 20:0 (asam arachidat)	%	0.0879	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
3	C 10:0 (asam kaprat)	%	0.0361	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
4	Lemak tak jenuh tunggal	%	73.7148	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
5	C 20:1 (asam eikosenoat)	%	0.2118	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
6	C 12:0 (asam laurat)	%	0.1469	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
7	EPA	%	0.0066	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
8	C 21:0 (asam heneikosanoat)	%	Not detected	0.00143	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
9	C 14:0 (asam miristat)	%	0.1063	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
10	AA	%	Not detected	1.28	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC

Result of analysis page II

The results of these tests relate only to the sample(s) submitted. This report shall not be reproduced except in full context, without the written approval of PT. Saraswanti Indo Genetech



PT. SARASWANTI INDO GENETECH
The First Indonesian Molecular Biotechnology Company

GRAHA SIG Jl. Rasamata No. 20 Taman Yasmin Bogor 16113 INDONESIA
Phone: +62-251-7532 348 (Hunting), +6282 111 516 516, Fax: +62-251-7540 927 <http://www.siglaboratory.com>

No. 28/F-PP/SMM-SIG
Revisi : 3

Result of Analysis
No : SIG.LHP.VIII.2019.068922

No.	Parameter	Unit	Result	Limit Of Detection	Method
11	C 22:0 (asam behenat)	%	0.0142	-	18-6-1/MU/SMM-SIG_GC
12	C 15:0 (asam pentadekanoat)	%	0.1759	-	18-6-1/MU/SMM-SIG_GC
13	Asam lemak Omega 9	%	72.1016	-	18-6-1/MU/SMM-SIG_GC
14	Lemak Tak Jenuh	%	79.7017	-	18-6-1/MU/SMM-SIG_GC
15	C 16:0 (asam palmitat)	%	18.0273	-	18-6-1/MU/SMM-SIG_GC
16	C 22:1 (asam erukat)	%	Not detected	0.00147	18-6-1/MU/SMM-SIG_GC
17	C 17:0 (asam heptadekanoat)	%	0.0901	-	18-6-1/MU/SMM-SIG_GC
18	C 22:2 (asam dokosadienoat)	%	Not detected	0.00155	18-6-1/MU/SMM-SIG_GC
19	C 20:3 w3 (asam eikosatrienoat / w3)	%	Not detected	0.00171	18-6-1/MU/SMM-SIG_GC
20	C 18:0 (asam stearat)	%	1.1634	-	18-6-1/MU/SMM-SIG_GC

Result of analysis page III

The results of these tests relate only to the sample(s) submitted. This report shall not be reproduced except in full context, without the written approval of PT. Saraswanti Indo Genetech



PT. SARASWANTI INDO GENETECH
The First Indonesian Molecular Biotechnology Company

GRAHA SIG Jl. Rasamala No. 20 Taman Yasmin Bogor 16113 INDONESIA
Phone: +62-251-7532 348 (Hunting), +6282 111 516 516, Fax: +62-251-7540 927 <http://www.siglaboratory.com>

No. 28/F-PP/SMM-SIG
Revisi : 3

Result of Analysis
No : SIG.LHP.VIII.2019.068922

No.	Parameter	Unit	Result	Limit Of Detection	Method
21	C 6:0 (asam kaproat)	%	Not detected	0.00127	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
22	C 22:6 w3 (asam dokosaheksaenoat)	%	0.0107	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
23	C 18:2 W6T (t-asam linoleat)	%	Not detected	0.00164	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
24	C 4:0 (asam butirat)	%	Not detected	0.00122	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
25	Lemak tak jenuh ganda	%	5.9869	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
26	C 24:0 (asam lignoserat)	%	0.0117	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
27	C 18:3 W3 (asam linolenat / w3)	%	0.7724	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
28	C 11:0 (asam undekanoat)	%	Not detected	0.00162	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
29	Asam lemak Omega 3	%	0.7897	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
30	C 18:3 W6 (asam linolenat / w6)	%	Not detected	0.00157	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC

Result of analysis page IV

The results of these tests relate only to the sample(s) submitted. This report shall not be reproduced except in full context, without the written approval of PT. Saraswanti Indo Genetech



PT. SARASWANTI INDO GENETECH
The First Indonesian Molecular Biotechnology Company

GRAHA SIG Jl. Rasamala No. 20 Taman Yasmin Bogor 16113 INDONESIA
Phone: +62-251-7532 348 (Hunting), +6282 111 516 516, Fax: +62-251-7540 927 <http://www.siglaboratory.com>

No. 28/F-PP/SMM-SIG
Revisi : 3

Result of Analysis
No : SIG.LHP.VIII.2019.068922

No.	Parameter	Unit	Result	Limit Of Detection	Method
51	Asam Linolenat	%	0.7724	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
52	Pb	mg / kg	0.07	-	18-13-14/MU/SMM-SIG, ICP MS
53	Sn	mg / kg	0.01	-	18-13-14/MU/SMM-SIG, ICP MS
54	As	mg / kg	Not detected	0.0002	18-13-14/MU/SMM-SIG, ICP MS
55	Cd	mg / kg	Not detected	0.0005	18-13-14/MU/SMM-SIG, ICP MS
56	Hg	mg / kg	0.02	-	18-13-14/MU/SMM-SIG, ICP MS
57	Asam Lemak Bebas	%	42.99	-	SNI 01-3555-1998 point 8
58	Kadar Air (Karl Fischer)	%	0.39	-	18-11-44/MU/SMM-SIG

Bogor, 27 Agustus 2019
PT. Saraswanti Indo Genetech



Dwi Yulianto Laksono, S.Si
Manager Laboratorium

Result of analysis page VII

The results of these tests relate only to the sample(s) submitted. This report shall not be reproduced except in full context, without the written approval of PT. Saraswanti Indo Genetech



PT. SARASWANTI INDO GENETECH
The First Indonesian Molecular Biotechnology Company

GRAHA SIG Jl. Rasamala No. 20 Taman Yasmin Bogor 16113 INDONESIA
 Phone: +62-251-7532 348 (Hunting), +6282 111 516 516, Fax: +62-251-7540 927 <http://www.siglaboratory.com>

No. 28/F-PP/SMM-SIG
 Revisi : 3

Result of Analysis
No : SIG.LHP.VIII.2019.068922

No.	Parameter	Unit	Result	Limit Of Detection	Method
31	C 13:0 (asam tridekanoat)	%	0.0416	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
32	DHA	%	0.0107	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
33	C 20:2 (asam eikosadienoat)	%	0.0078	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
34	C 14:1 (asam miristoleat)	%	Not detected	0.00167	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
35	Asam lemak Omega 6	%	5.1893	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
36	C 20:3 w6 (asam eikosatrienoat / w6)	%	Not detected	0.00161	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
37	C 15:1 (asam pentadekanoat)	%	Not detected	0.00164	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
38	C 8:0 (asam kaprilat)	%	0.0057	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
39	C 20:4 w6 (asam arakidonat)	%	Not detected	0.00128	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
40	C 16:1 (asam palmitoleat)	%	1.2017	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC

Result of analysis page V

The results of these tests relate only to the sample(s) submitted. This report shall not be reproduced except in full context, without the written approval of PT. Saraswanti Indo Genetech



PT. SARASWANTI INDO GENETECH
The First Indonesian Molecular Biotechnology Company

GRAHA SIG Jl. Rasamala No. 20 Taman Yasmin Bogor 16113 INDONESIA
Phone: +62-251-7532 348 (Hunting), +6282 111 516 516, Fax: +62-251-7540 927 <http://www.siglaboratory.com>

No. 28/F-PP/SMM-SIG
Revisi : 3

Result of Analysis
No : SIG.LHP.VIII.2019.068922

No.	Parameter	Unit	Result	Limit Of Detection	Methode
41	C 23:0 (asam trikosanoat)	%	Not detected	0.00143	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
42	C 17:1 (asam heptadekenoat)	%	0.1997	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
43	C 20:5 w3 (asam eikosapentaenoat)	%	0.0066	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
44	C 18:1 W9T (t-asam oleat)	%	Not detected	0.00151	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
45	C 24:1 w9 (asam nervonat)	%	Not detected	0.00164	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
46	C 18:1 W9C (c-asam oleat)	%	72.1016	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
47	C 18:2 W6C (c-asam linoleat)	%	5.1893	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
48	C 18:2 W6 (asam linoleat / w6)	%	5.1893	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
49	Asam Oleat	%	72.1016	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC
50	Asam Linoleat	%	5.1893	-	18-6-1/MU/SMM-SIG, GC

Result of analysis page VI

The results of these tests relate only to the sample(s) submitted. This report shall not be reproduced except in full context, without the written approval of PT. Saraswanti Indo Genetech

Lampiran 2. Kandungan Minyak Buah Merah



Lampiran 3. Hasil Uji Kode Etik



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MALANG
STATE POLYTECHNIC OF HEALTH MALANG

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL
"ETHICAL APPROVAL"
Reg.No.:738 / KEPK-POLKESMA/ 2022

Protokol penelitian yang diusulkan oleh RIA RAMADHANI DWI ATMAJA
The research protocol proposed by
Peneliti Utama
Principal In Investigator RIA RAMADHANI DWI ATMAJA

Nama Institusi
Name of the Institution Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

Dengan Judul
Proses Percepatan Penyembuhan Luka Insisi dengan Pemberian Emulgel Minyak Buah Merah (Pandanus conoideus Lamk.)
Acceleration Process of Incision Wound Healing by Giving Red Fruit Oil Emulgel (Pandanus conoideus Lamk.)

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah,

3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 13 Desember 2022 sampai dengan 13 Desember 2023

This declaration of ethics applies during the period December 13, 2022 until December 13, 2023

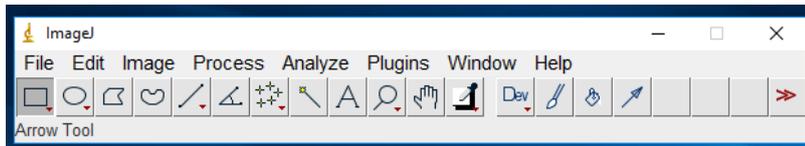
Malang, 13 Desember 2022
Head of Committee



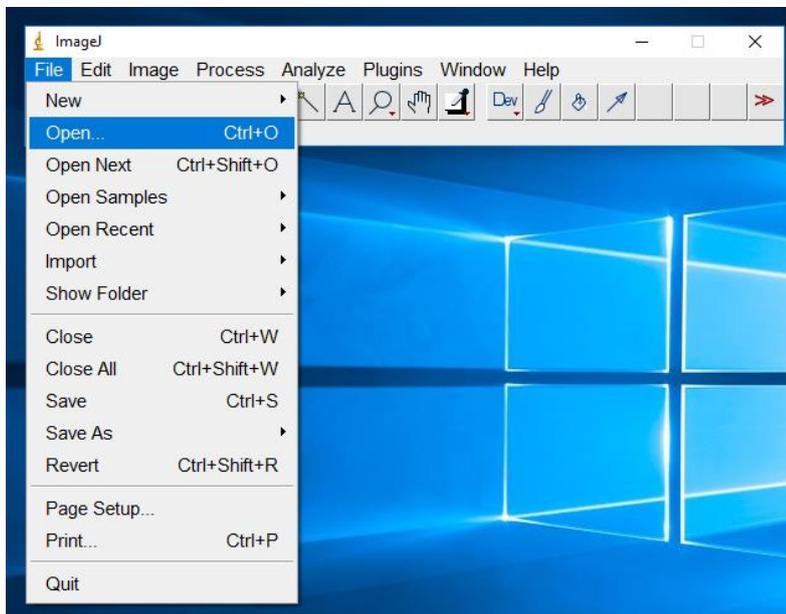
Dr. SUSI MILWATI, S.Kp, M.Pd
NIP. 196312011987032002

Lampiran 4. Langkah Analisis Kepadatan Kolagen menggunakan Software ImageJ

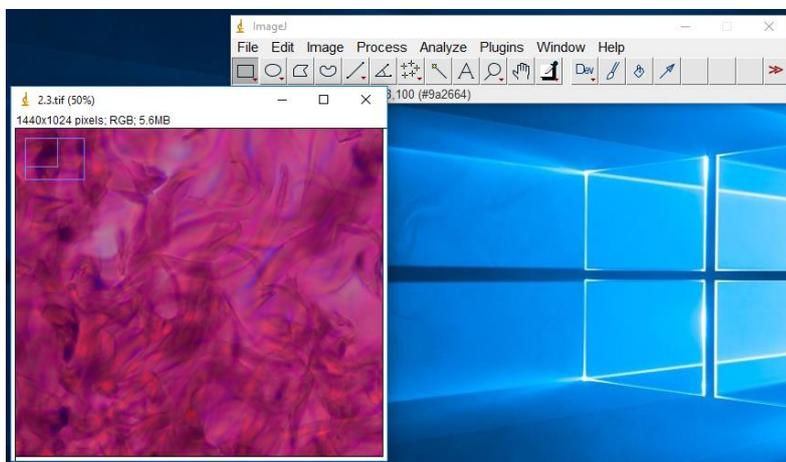
1. Buka aplikasi *ImageJ*



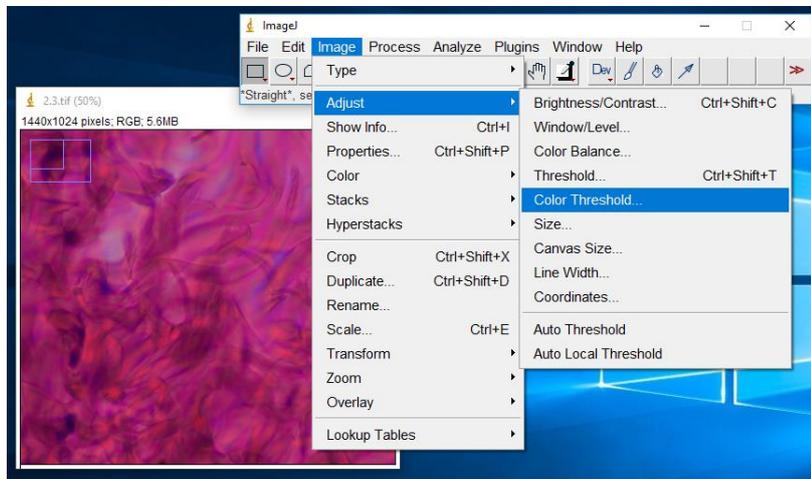
2. Pilih menu *File > Open*



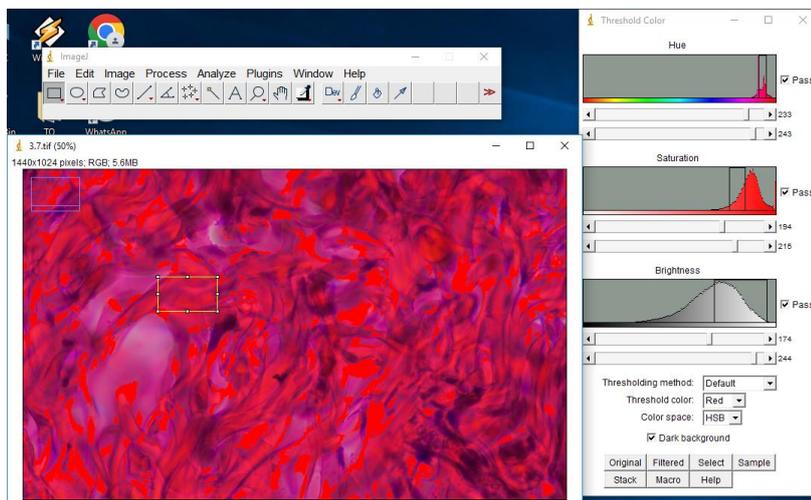
3. Pilih gambar yang akan dianalisis



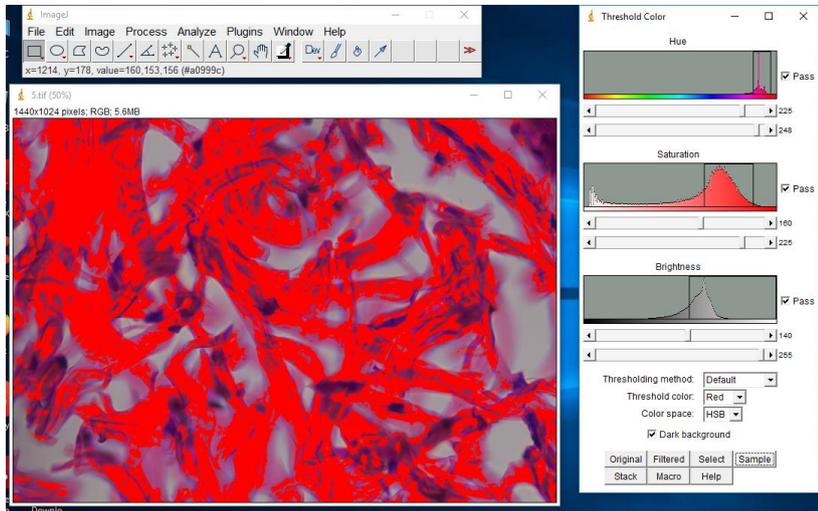
4. Pilih menu *Image > Adjust > Color threshold*



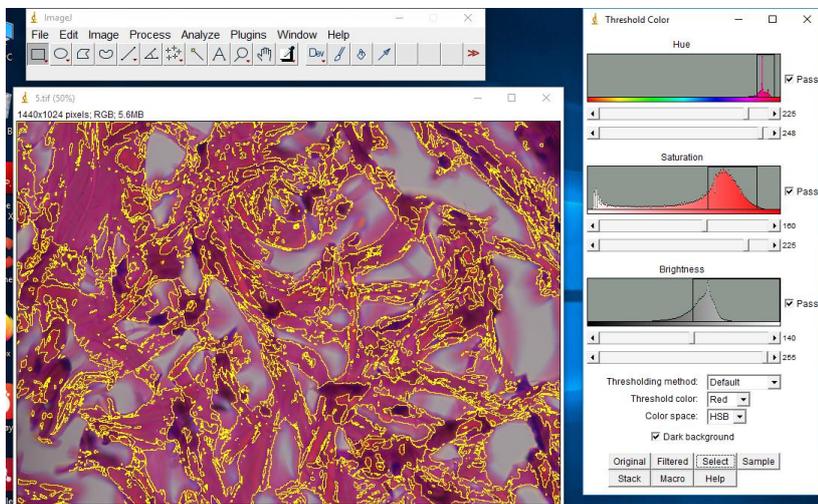
5. Pilih *thresholding method : default, thresholding color : red*, dan *color space : HSB (Hue, Saturation, Brightness), original*. Lalu klik *rectangle*. Setelah itu, memilih beberapa bagian dari kolagen sebagai acuan warna untuk menetapkan ambang batas minimum dan maksimum area kolagen yang akan diukur.



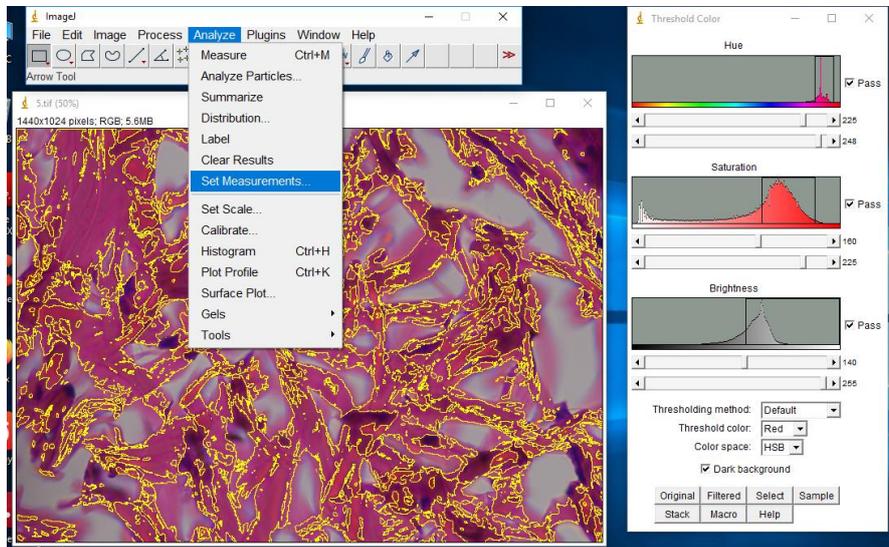
6. Setelah itu, pilih menu *sample*, sehingga warna merah muda yang memulas kolagen telah ditandai



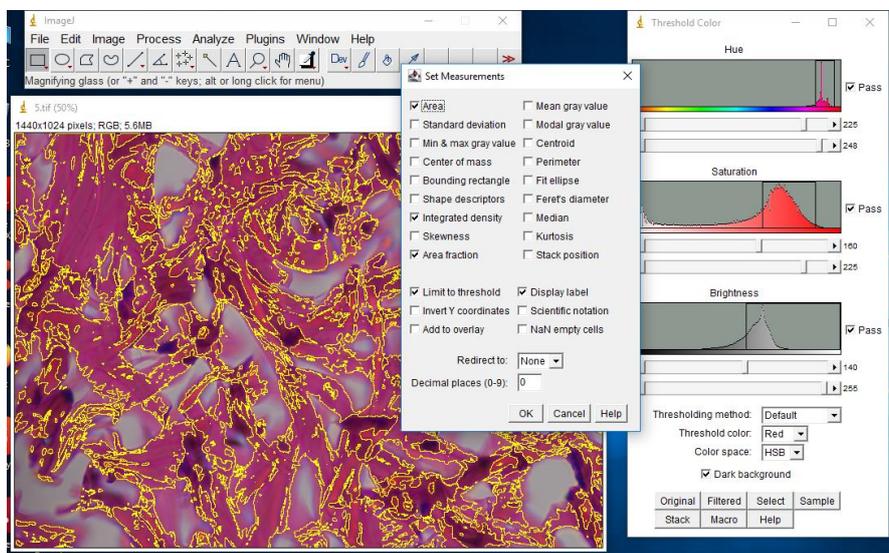
7. Preview gambar untuk memastikan semua warna merah muda telah ditandai dengan klik *select* pada kolom *threshold color*



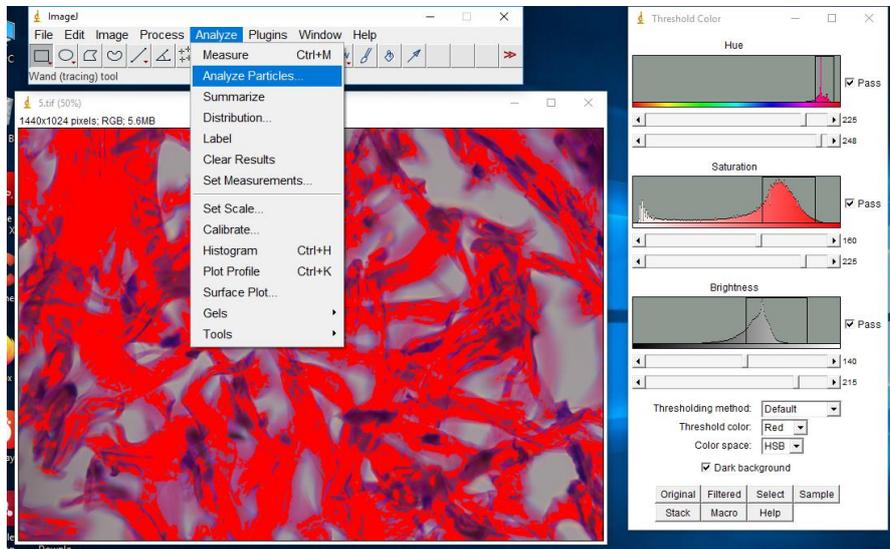
8. Pilih menu *Analyze > Set Measurement*



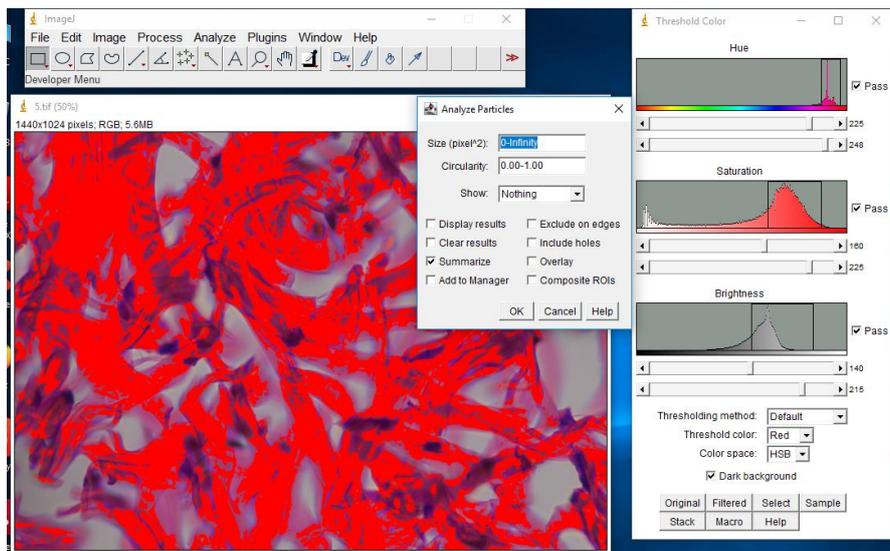
9. Tandai *Area, Integrated Density, Area Fraction, Limit to Threshold, dan Display Label*



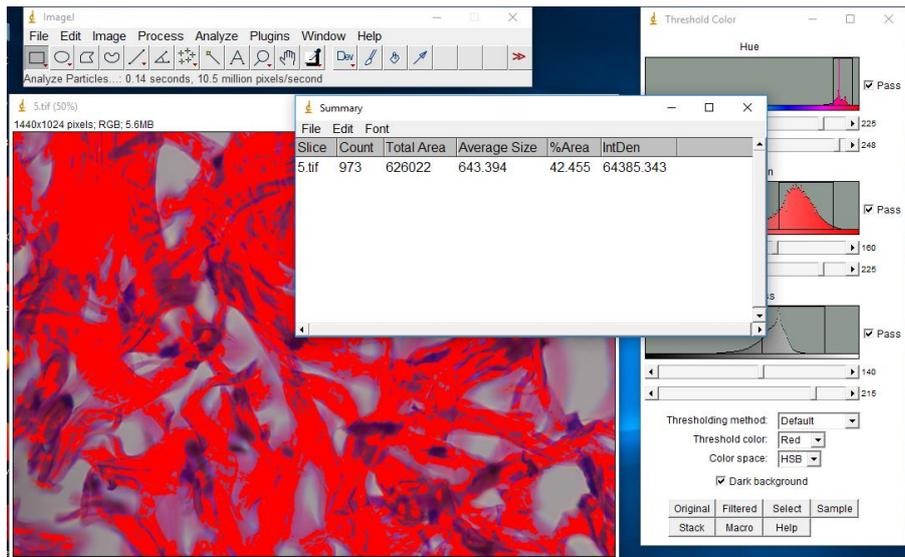
10. Pilih menu *Analyze Particles*



11. Tandai *Summarize* > OK



12. Persentase kepadatan kolagen diketahui dengan menghitung area yang terpulas warna merah muda pada gambar histopatologi dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin*. Persentase kepadatan kolagen ditunjukkan pada tabel *Summary* tepatnya pada kolom *% Area*.



Lampiran 5. Data Hasil Persentase Kepadatan Kolagen

NO	P4	P3	P2	P1	K+	K-
1	70,159	70,463	75,427	68,121	60,790	55,728
2	69,571	66,571	72,350	62,124	65,799	56,702
3	69,132	65,055	68,191	57,491	65,036	61,900
4	67,071	63,433	67,172	49,238	64,556	64,014
5	63,819	61,401	64,803	82,652	63,865	66,512
6	83,695	73,074	72,581	69,313	65,322	54,185
7	69,331	71,792	66,016	67,989	64,539	57,341
8	67,326	69,124	64,760	64,846	60,819	61,779
9	64,824	68,756	63,547	58,320	56,087	63,166
10	64,128	68,087	60,479	54,450	50,740	67,090
11	76,820	75,426	71,655	65,829	65,427	57,269
12	75,668	74,501	66,306	65,808	61,905	58,943
13	73,921	68,783	65,989	60,668	57,931	59,169
14	71,128	67,287	65,726	59,876	54,631	67,472
15	70,927	66,077	58,850	54,468	53,038	67,899
16	74,661	72,802	73,358	68,171	69,139	53,836
17	74,318	72,785	68,132	66,680	66,756	58,091
18	74,089	72,676	67,000	65,908	62,345	59,635
19	73,257	66,255	60,421	63,344	56,613	59,875
20	72,828	63,220	60,173	62,619	56,207	60,204
21	82,807	75,520	70,260	71,180	54,829	53,009
22	75,358	70,498	69,843	70,217	56,471	54,021
23	74,291	69,443	69,151	66,010	61,938	54,071
24	72,649	61,339	65,392	62,123	62,056	60,824
25	70,469	66,699	64,468	61,893	62,511	61,005
Rata-rata	72,090	68,843	66,882	63,974	60,774	59,750

Lampiran 6. Data Analisis Statistik Menggunakan SPSS

1. Uji Normalitas

	Tests of Normality					
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
P4	,114	25	,200*	,952	25	,282
P3	,102	25	,200*	,966	25	,554
P2	,090	25	,200*	,975	25	,767
P1	,103	25	,200*	,956	25	,334
KPOSITIF	,153	25	,137	,953	25	,288
KNEGAT	,094	25	,200*	,948	25	,222
IF						

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

		Levene			
		Statistic	dP1	dP2	Sig.
hasil	Based on Mean	,901	5	144	,482
	Based on Median	,783	5	144	,563
	Based on Median and with adjusted df	,783	5	115,308	,564
	Based on trimmed mean	,903	5	144	,481

3. Uji One Way ANOVA

ANOVA

hasil

	Sum of				
	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2854,083	5	570,817	23,157	,000
Within Groups	3549,561	144	24,650		
Total	6403,644	149			

4. Uji *Post-Hoc* LSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable: hasil

LSD

(I) kode	(J) kode	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P4	P3	3,247*	1,404	,022	,47	6,02
	P2	5,208*	1,404	,000	2,43	7,98
	P1	8,116*	1,404	,000	5,34	10,89
	KPOSITIF	11,316*	1,404	,000	8,54	14,09
	KNEGATIF	12,340*	1,404	,000	9,56	15,12
P3	P4	-3,247*	1,404	,022	-6,02	-,47
	P2	1,961	1,404	,165	-,81	4,74
	P1	4,869*	1,404	,001	2,09	7,64
	KPOSITIF	8,069*	1,404	,000	5,29	10,84
	KNEGATIF	9,093*	1,404	,000	6,32	11,87
P2	P4	-5,208*	1,404	,000	-7,98	-2,43
	P3	-1,961	1,404	,165	-4,74	,81
	P1	2,908*	1,404	,040	,13	5,68
	KPOSITIF	6,108*	1,404	,000	3,33	8,88

Multiple Comparisons

Dependent Variable: hasil

LSD

(I) kode	(J) kode	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
	KNEGATIF	7,132*	1,404	,000	4,36	9,91
P1	P4	-8,116*	1,404	,000	-10,89	-5,34
	P3	-4,869*	1,404	,001	-7,64	-2,09
	P2	-2,908*	1,404	,040	-5,68	-,13
	KPOSITIF	3,200*	1,404	,024	,42	5,98
	KNEGATIF	4,224*	1,404	,003	1,45	7,00
KPOSITIF	P4	-11,316*	1,404	,000	-14,09	-8,54
	P3	-8,069*	1,404	,000	-10,84	-5,29
	P2	-6,108*	1,404	,000	-8,88	-3,33
	P1	-3,200*	1,404	,024	-5,98	-,42
	KNEGATIF	1,024	1,404	,467	-1,75	3,80
KNEGATIF	P4	-12,340*	1,404	,000	-15,12	-9,56
	P3	-9,093*	1,404	,000	-11,87	-6,32
	P2	-7,132*	1,404	,000	-9,91	-4,36
	P1	-4,224*	1,404	,003	-7,00	-1,45

Multiple Comparisons

Dependent Variable: hasil

LSD

(I) kode	(J) kode	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
	KPOSITIF	-1,024	1,404	,467	-3,80	1,75

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 7. Dokumentasi Pembuatan Basis Karbomer

No.	Langkah Kerja	Gambar
1	Ditimbang masing-masing bahan yang akan digunakan	 <p style="text-align: center;">TEA</p> <p style="text-align: center;">Carbomer</p>
2	Dipanaskan aquadest, ditunggu sampai suhunya mencapai 70°C	
3	Dimasukkan carbomer di dalam gelas beaker yang sudah terisi aquadest	
4	Diaduk sebentar menggunakan batang pengaduk dan dilanjutkan diaduk menggunakan homogenizer selama 2 menit sampai homogen.	

No.	Langkah Kerja	Gambar
5	Didiamkan selama 15 menit sampai carbomer dan aquadest mengembang.	
6	Dicampurkan dengan TEA untuk menjernihkan basis gel yang telah mengembang	
7	Basis gel telah dibuat	

**Lampiran 8 Dokumentasi Pembuatan Emulsi (Fase Air dan Fase Minyak)
Minyak Buah Merah**

No.	Langkah Kerja	Gambar
1	Ditimbang masing-masing bahan yang akan digunakan	 <p data-bbox="1018 689 1176 723">MBM 10 gr</p>  <p data-bbox="1034 1041 1160 1075">Tween 80</p>  <p data-bbox="1042 1339 1152 1373">Span 80</p>  <p data-bbox="991 1693 1203 1727">Propilen Glikol</p> 

No.	Langkah Kerja	Gambar
		<p data-bbox="997 344 1198 376">Metil paraben</p>  <p data-bbox="997 680 1198 712">Propil paraben</p>  <p data-bbox="1062 994 1134 1025">BHT</p>
2	<p data-bbox="392 1032 818 1211">Dipanaskan minyak buah merah (dengan ukuran tiap formulasi) dan aquadest sisa basis di atas bunsen, ditunggu hingga suhunya mencapai 70°C</p>	
3	<p data-bbox="392 1413 818 1630">Ketika suhu aquadest hampir mencapai 70°C, dimasukkan propilen glikol, tween 80, dan metil paraben secara bergantian dan diaduk menggunakan spatula</p>	

No.	Langkah Kerja	Gambar
		
4	<p>Ketika suhu minyak buah merah mencapai 70°C, dimasukkan span 80, propil paraben, dan BHT secara bergantian dan diaduk menggunakan spatula</p>	

No.	Langkah Kerja	Gambar
5	Dihomogenkan fase air terlebih dahulu menggunakan homogenizer dengan kecepatan 6000 rpm selama 5 menit	
6	Dimasukkan fase minyak pada fase air sedikit demi sedikit, kemudian dihomogenkan dengan homogenizer dengan kecepatan 6000 rpm selama 30 menit. Setelah 30 menit emulsi sudah jadi.	

Lampiran 9. Dokumentasi Pembuatan Emulgel Minyak Buah Merah

No.	Langkah Kerja	Gambar
1	Dipanaskan aquadest untuk memanaskan mortar, setelah aquadest telah panas tuang aquadest kedalam mortar ditunggu hingga panas air menyebar pada mortar	 

No.	Langkah Kerja	Gambar
2	Dimasukkan basis gel yang telah dibuat ke dalam mortar panas	
3	Dimasukkan emulsi ke dalam mortar berisi basis sedikit demi sedikit, kemudian digerus selama 15 menit. Pastikan bahwa basis dan emulsi bercampur sempurna, kemudian sisihkan emulgel ke dalam <i>beaker glass</i> .	
4	Ditutup beaker glass dengan plastik wrap dengan rapat agar kedap udara	

Lampiran 10. Perlakuan Pembuatan Luka Insisi pada Tikus Galur Wistar (Rattus norvegicus)

No.	Perlakuan	Gambar
1	Hewan coba dianestesi terlebih dahulu dengan kombinasi ketamine dan Xylazine secara intramuskular.	
2	Rambut ada punggung tikus dilakukan pencukuran	
3	Pembuatan luka sayat sepanjang 4 cm dengan kedalaman luka 0,2 cm dengan menggunakan scalpel yang sebelumnya sudah dibersihkan menggunakan alkohol	

Lampiran 11. Euthanasia dan Eksisi Biopsi

No.	Perlakuan	Gambar
1	Tikus di euthanasia dengan teknik <i>cervical dislocation</i>	
2	Pencukuran rambut tikus di area sekitar luka	
3	Pengambilan kulit tikus yang sudah mengalami penyembuhan lukanya	

No.	Perlakuan	Gambar
4	Pencucian kulit tikus pada sediaan NaCL 0.9%	
5.	Kulit tikus disimpan dalam wadah yang telah berisi formalin 10%	

Lampiran 12. Metode Pewarnaan HE



Teknik pembuatan sedlaan histopatologi

Fiksasi :

Jaringan yang dikirim ke laboratorium harus terfiksasi formalin 10%, secara berkala petugas lab senantiasa memberitahukan kepada kamar operasi suatu rumah sakit atau dokter pengirim mengenai pentingnya fiksasi, setelah dilakukan pemotongan jaringan yah akan diproses juga dilakukan fiksasi dengan buffer formalin. Perbandingan fiksasi sekitar 10 : 1

Adapun tujuan fiksasi :

- Mempertahan struktur seperti semula.
- Mencegah terjadinya proses autolisis oleh suatu enzim.
- Mencegah tumbuhnya bakteri atau jamur.

Pemotongan jaringan yang akan diproses :

Pemotongan dilakukan oleh teknisi sesuai dengan klinis dan karakteristik jaringan. Dalam keadaan tertentu/sulit teknisi harus menunjukkan jaringan tersebut kepada dokter patologi. Jumlah pemotongan perjaringan tergantung besar kecil jaringan yang diterima. Ukuran pemotongan jaringan sekitar 1x2x0,5cm. Hasil pemotongan difiksasi dengan buffer formalin selama 12 – 18jam. Karakteristik jaringan sesuai klinis akan dibahas pada halaman berikutnya.

Pemrosesan jaringan :

A. Dehidrasi.

Proses ini bertujuan untuk melakukan penarikan air dari dalam jaringan secara perlahan-lahan, sehingga tidak terjadi pengkerutan jaringan, oleh sebab itu bahan yang digunakan untuk menarik air tersebut harus mulai prosentase yang rendah dan dinaikan secara bertahap sampai pada prosentase absolut. Umumnya bahan yang digunakan untuk menarik air dalam jaringan adalah ethanol

B. Clearing.

Tahapan ini disebut clearing karena jaringan tampak jernih (transparan), tahapan ini adalah tahapan transisi yang mana bahan yang digunakan pada tahapan ini mempunyai dua sifat yaitu :

- Dapat melarutkan atau dilarutkan oleh bahan yang digunakan untuk menarik air dari dalam jaringan.
- Dapat melarutkan dan dilarutkan oleh bahan yang digunakan untuk menanam jaringan (bahan embedding)

Dilaboratorium patologi bahan yang digunakan untuk menarik air dalam jaringan adalah ethanol, sedangkan bahan yang digunakan untuk menanam jaringan digunakan paraffin, maka bahan penjernih yang dipilih adalah bahan yang dapat saling larut dengan ethanol maupun saling larut dengan paraffin. Berdasarkan sifat tersebut digunakanlah xylol. Xylol juga mudah diperoleh.

C. Impregnasi.

Tujuan dari tahapan ini adalah untuk mempersiapkan jaringan agar dapat dicetak (ditanam) dalam suatu bahan, yang mana pada hakekatnya antara jaringan dengan bahan yang digunakan untuk mencetak mempunyai konsistensi yang mendekati sama.

Pada tahap ini akan terjadi proses yang bertahap yaitu pada mulanya terjadi penghilangan bahan penjernih dan selanjutnya akan terjadi penggantian bahan penjernih didalam jaringan dengan bahan pencetak, sehingga setiap rongga yang ada di jaringan akan terisi oleh bahan pencetak. Untuk memperoleh kesempurnaan dalam tahap impregnasi ini, maka harus dilakukan secara bertahap.

Dilaboratorium patologi umumnya bahan yang digunakan untuk mencetak (menanam) jaringan adalah menggunakan paraffin, oleh karena itu bahan yang digunakan pada tahap impregnasi harus paraffin pula. Paraffin yang digunakan hendaknya mempunyai titik beku pada suhu kamar dan mempunyai titik cair antara 55-60 derajat celcius.

D. Embedding.

Pada tahapan ini temperatur antara paraffin dengan jaringan harus mendekati sama, kalau terjadi suatu perbedaan temperature yang mencolok antara paraffin dengan jaringan yang akan ditanam maka akan nampak gelembung udara disekitar jaringan sehingga jaringan yang ada diparaffin kura menyatu, sehingga akan sukar memperoleh sayatan yang sempurna (tipis).

Tahapan prosesesing dan bahan yang digunakan:

Hasil pematangan jaringan sudah difiksasi dengan buffer formalin 12-18jam, lalu dimasukan :

1. Ethanol 70% : 30 menit.
2. Ethanol 80% : 30 menit.
3. Ethanol 95% : 30 menit.
4. Ethanol absolut : 30 menit.
5. Ethanol absolut : 30 menit.
6. Ethanol absolut : 30 menit.
7. Xylol : 30 menit.
8. Xylol : 30 menit.
9. Xylol : 30 menit.
10. Paraffin 55-60 derajat celcius : 30 menit.
11. Paraffin 55-60 derajat celcius : 1 jam.

Embedding/ penanaman jaringan dalam paraffin, sehingga terbentuk blok paraffin yang didalamnya berisis jaringan.

Catatan :

- | | |
|--------|--------------------|
| 1 - 6 | : Tahap dehidrasi |
| 7 - 9 | : Tahap clearing |
| 10- 11 | : Tahap impregnasi |

Penyayatan Jaringan.

Masukan paraffin blok yang berisi jaringan kedalam freser /almari pendingin sebelum dilakukan penyayatan jaringan selama minimal 15 menit.

Alat yang digunakan untuk menyayat jaringan adalah mikrotom,



Kualitas sayatan jaringan ditentukan oleh :

1. Ketajaman pisau
2. Sudut potong
3. Kualitas pemrosesan jaringan.
4. Kualitas pengeblokan jaringan.
5. Pemindahan jaringan ke water bath.
6. Temperatur water bath 45 – 55 derajat celcius.

Bahan pendukung yang penting pada penyatan jaringan adalah bahan yang digunakan untuk membantu melekatkan hasil penyayatan jaringan ke obyek glass yaitu gelatyn yang berupa serbuk dimasukan ke waterbath atau obyek glass khusus yang sudah ada poli lysine.

Tempatkan obyek glass hasil penyayatan jaringan kedalam rak obyekglass kemudian dimasukan ke incubator dengan suhu 60 – 70 derajat celcius selama 1jam.

Pewarnaan jaringan.

Secara fungsional, zat warna dikenal ada dua yaitu :

1. Haemaktosilin untuk mewarnai inti sel.
2. Eosin, orange G, untuk mewarnai sitoplasma.

Cara pengecatan sederhana:

Masukan sayatan jaringan berturut ke dalam :

1. Xylol : 5menit
2. Xylol : 5menit
3. Ethanol absolute : 2 menit
4. Ethanol absolute : 2 menit
5. Ethanol 95% : 5 menit
6. Ethanol 95% : 5 menit
7. Air mengalir : 10 – 15 menit
8. Haemaktosilin : 5 – 10 menit
9. Air mengalir : 10 – 15 menit
10. Alkohol asam : 3 – 10 celup, jaringan berwarna merah
11. Air mengalir : 10 – 15 menit
12. Air ammonia/litium karbonat : 3 – 10 celup, jaringan berwarna biru
13. Air mengalir : 10 – 15 menit
14. Eosin : 30 detik – 2 menit
15. Ethanol 95% : 2 menit
16. Ethanol 95% : 2 menit
17. Ethanol absolute : 2 menit
18. Ethanol absolute : 2 menit
19. Xylol : 2 menit
20. Xylol : 2 menit
21. Mounting media dengan entelan/Canada balsam

Dalam penggunaanya dibuat larutan entelan 60% dengan xylol.

Pewarnaan yang rutin dilakukan dilaboratorium patologi anatomi adalah haematoksin dan eosin, dan saat ini sudah bisa kita mendapatkan larutan tersebut secara instant, namun ada baiknya kita akan bahan cara pembuatan larutan tersebut.

Larutan Haemaktosilin Harris :

- Haemaktosilin kristal : 5,00gr
- Ethanol absolute : 50,00ml
- Amonium/potassium alum : 100,00gr
- Aquades : 1000,00ml
- Mercuri : 2,50gr

Cara pembuatan :

Larutkan haemaktosilin kedalam ethanol absolute.

Dengan menggunakan erlenmayer larutkan alum ke dalam aquadesilata kemudian panaskan sampai larut sempurna, setelah larut pindahkan dari pemanas, kemudian secara perlahan larutan haemaktosilin dimasukkan ke dalam larutan alum/usahkan lewat dinding erlenmayer supaya tidak membahayakan pembuatnya, kemudian larutan tersebut dipanasi lagi, setelah itu tambahkan mercuri oxid dengan pelan-pelan sambil terus diaduk.

Setelah tercampur baru dipanasi lagi sampai warnanya menjadi ungu, pindahkan dari pemanas kemudian rendam pada air kran, setelah dingin tambahkan glacial acetic acid 2 – 4cc setiap 100,00ml larutan, masukan pada tempat yang gelap dan simpan pada suhu ruangan, filter sebelum digunakan.

Larutan Eosin :

Pertama kali harus membuat stok eosin 1,0%.

Caranya larutkan 1,00gr eosin kedalam 20,00ml aquadestilata, setelah larut tambahkan ethanol 95% sebanyak 80,00ml.

Setelah larutan stok eosin dibuat baru kita membuat larutan kerja.

Cara membuat larutan eosin :

Larutan stok eosin dicampur dengan ethanol 80% dengan perbandingan 1 – 3, setelah tercampur dengan sempurna tambahkan dengan glacial acetic acid sebanyak 0,50ml setiap 100,00ml larutan.

Larutan Alkohol asam:

- Ethanol 70% : 100,00ml
- HCL pekat (36%) : 1,00ml

Larutan Litium karbonat :

- Litium karbonat : 1,00gr
- Aquadestilata : 100,00ml

Labotarium patologi anatomi disamping menerima bahan jaringan juga bisa menerima bahan cairan tubuh yang lain tentunya dengan cara pemrosesan dan pengecatan yang beda dengan jaringan.