



**PENGARUH PEMBERIAN GEL DOKSISISKLIN TERHADAP JUMLAH  
MAKROFAG PADA PROSES PENYEMBUHAN DERMATITIS  
PAEDERUS AKIBAT RACUN TOMCAT (*Paederus* sp.)  
PADA MENCIT (*Mus musculus*)**

**SKRIPSI**

Oleh

**Bagus Indra Kusuma  
NIM 122010101068**

**UNIVERSITAS JEMBER  
JEMBER  
2015**



**PENGARUH PEMBERIAN GEL DOKSISISKLIN TERHADAP JUMLAH  
MAKROFAG PADA PROSES PENYEMBUHAN DERMATITIS  
PAEDERUS AKIBAT RACUN TOMCAT (*Paederus* sp.)  
PADA MENCIT (*Mus musculus*)**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

**Bagus Indra Kusuma  
NIM 122010101068**

**UNIVERSITAS JEMBER  
JEMBER  
2015**

## **PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT atas rahmat dan hidayahnya yang telah diberikan kepada saya;
2. Nabi Muhammad SAW beserta sahabatnya yang telah memberikan pedoman kepada saya berupa agama Islam;
3. Ayahanda Ishari dan juga ibunda Endang Sugiarti yang telah memberikan do'anya, dukungan, pengorbanan, kasih sayang dan didikannya kepada saya;
4. Kakak kandung Enisika Setiasari yang selalu mendukung perjalanan kuliah saya;
5. Para guru-guru sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi;
6. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

**MOTO**

Dan barang siapa yang menyerahkan dirinya kepada Allah, sedang dia orang yang berbuat kebaikan, maka sesungguhnya ia telah berpegang kepada buhul tali yang kokoh. Dan hanya kepada Allah-lah kesudahan segala urusan.\*)

Cukup Allah sebagai penolong kami dan dia sebaik-baik pelindung.\*\*)

---

\*) Qur'an Surat Al Luqman ayat 22

\*\*\*) Qur'an Surat Al Imran ayat 173

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Bagus Indra Kusuma

NIM :122010101068

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Gel Doksisisklin terhadap Jumlah Makrofag pada Proses Penyembuhan Dermatitis Paederus akibat Racun Tomcat (*Paederus* sp.) pada Mencit (*Mus musculus*)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali dalam pengutipan substansi yang sudah disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 30 November 2015

Yang menyatakan,

Bagus Indra Kusuma

NIM.122010101068

**SKRIPSI**

**PENGARUH PEMBERIAN GEL DOKSISISKLIN TERHADAP JUMLAH  
MAKROFAG PADA PROSES PENYEMBUHAN DERMATITIS  
PAEDERUS AKIBAT RACUN TOMCAT (*Paederus sp.*)  
PADA MENCIT (*Mus musculus*)**

Oleh

Bagus Indra Kusuma  
NIM 122010101068

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : dr. Al Munawir, M.Kes. Ph.D

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Septa Surya Wahyudi, Sp.U

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Pengaruh Pemberian Gel Doksisisklin terhadap Jumlah Makrofag pada Proses Penyembuhan Dermatitis Paederus akibat Racun Tomcat (*Paederus* sp.) pada Mencit (*Mus musculus*)” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Kamis, 26 November 2015

Tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Penguji I,

dr. Hairudin, M.Kes  
NIP 197510112003121008

Penguji III,

dr. Al Munawir, M.Kes, Ph.D  
NIP 1969090111999031003

Penguji II,

dr. Ancah Caesarina Novi M, Ph.D  
NIP 198203092008122002

Penguji IV,

dr. Septa Surya Wahyudi, Sp.U  
NIP 197809222005011002

Mengesahkan  
Dekan,

dr. Enny Suswati, M.Kes  
NIP 197002141999032001

## RINGKASAN

**Pengaruh Pemberian Gel Doksisisiklin terhadap Jumlah Makrofag pada Proses Penyembuhan Dermatitis Paederus akibat Racun Tomcat (*Paederus sp.*) pada Mencit (*Mus musculus*); Bagus Indra Kusuma; NIM 122010101068; 51 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember**

Dermatitis paederus adalah iritasi kulit akut yang disebabkan adanya kontak kulit dengan racun yang ada pada kumbang tomcat (*Paederus sp.*). Racun yang berasal dari tubuh kumbang Tomcat (*Paederus sp.*) disebut racun pederin. Namun, berdasarkan penelitian lain, gen pada biosintesis racun pederin tidak hanya berasal dari genom kumbang Tomcat (*Paederus sp.*) melainkan lebih mendekati genom bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang mampu mensekresikan enzim matriks metaloprotease (MMP) yang merupakan enzim proteolitik yang memiliki kemampuan mendegradasi matriks ekstraseluler kulit seperti kolagen, gelatin dan elastin. Doksisisiklin merupakan salah satu jenis antibiotik yang mempunyai sifat sebagai MMP inhibitor. Sediaan obat yang ada dipasaran dalam bentuk kapsul. Penulis berinisiatif untuk membuat doksisisiklin dalam bentuk gel. Bentuk sediaan ini dipilih karena lebih sesuai untuk penyakit kulit khususnya luka akibat dermatitis paederus. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian gel doksisisiklin terhadap jumlah makrofag pada proses penyembuhan dermatitis paederus akibat racun tomcat (*Paederus sp.*) pada mencit (*Mus musculus*).

Jenis desain penelitian yang digunakan adalah *quasy experimental design* secara *in vivo* dengan menggunakan 40 ekor mencit (*Mus musculus*) yang terbagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol normal, kontrol negatif, kelompok perlakuan 1 (P1) diberikan gel doksisisiklin 1%, dan kelompok perlakuan 2 (P2) diberikan gel doksisisiklin 5%. Pengamatan dilakukan pada hari ke-1, 3, 5, 7, dan 15. Data diperoleh dari pengamatan histopatologi dengan melihat jumlah makrofag pada ke-4 kelompok tersebut. Analisis data menggunakan *Shapiro-Wilk*

untuk menguji normalitas data dan dilanjutkan dengan analisis *one way ANOVA* dan apabila uji normalitas data tidak didapatkan hasil yang signifikan dilanjutkan dengan uji *kruskal wallis*.

Pada penelitian ini didapatkan jumlah makrofag hari ke-1 pada kelompok kontrol normal sebanyak  $1,25 \pm 2,93$ ; kontrol negatif sebanyak  $161,17 \pm 61,57$ ; kelompok (P1) sebanyak  $98,42 \pm 40,05$ ; kelompok (P2) sebanyak  $58,83 \pm 34,55$  tiap lapang pandang. Pada hari ke-3 kontrol normal sebanyak  $5,3 \pm 7,9$ ; kontrol negatif sebanyak  $229,50 \pm 31,54$ ; kelompok (P1) sebanyak  $152,50 \pm 22,15$ ; Kelompok (P2) sebanyak  $114,64 \pm 18,62$  tiap lapang pandang. Pada hari ke-5 kontrol normal sebanyak  $0,42 \pm 1,44$ ; kelompok kontrol negatif sebanyak  $69,58 \pm 18,48$ ; kelompok (P1) sebanyak  $38,08 \pm 12,79$ ; kelompok (P2) sebanyak  $23,58 \pm 9,26$  tiap lapang pandang. Pada hari ke-7 kelompok kontrol normal sebanyak  $0,00 \pm 0,00$ ; kelompok kontrol negatif sebanyak  $7,92 \pm 4,60$ ; kelompok (P1) sebanyak  $2,58 \pm 2,10$ ; kelompok (P2) sebanyak  $1,58 \pm 2,90$  tiap lapang pandang. Pada hari ke-15 sudah tidak ditemukan makrofag disetiap lapang pandang pada tiap kelompok perlakuan. Hasil uji *One way Annova* jumlah makrofag pada hari ke-1, hari ke-3, dan hari ke-5 didapatkan signifikansi masing-masing sebesar 0,00 ( $p < 0,05$ ). Sedangkan pada hari ke-7, didapatkan hasil uji *Kruskal Wallis* jumlah makrofag pada hari ke-7 didapatkan nilai  $p = 0,001$  ( $p < 0,05$ ). Penelitian ini menunjukkan bahwa gel doksisisiklin mampu mempengaruhi jumlah makrofag pada proses penyembuhan dermatitis paederus akibat racun kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) yang dibuktikan dengan jumlah makrofag yang lebih rendah pada kelompok (P1) dan (P2) jika dibandingkan dengan kontrol negatif.

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Gel Doksisisklin terhadap Jumlah Makrofag pada Proses Penyembuhan Dermatitis Paederus akibat Racun Tomcat (*Paederus* sp.) pada Mencit (*Mus musculus*)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. dr. Enny Suswati, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Hairudin, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing akademik yang telah membimbing saya selama penulis menjadi mahasiswa;
3. dr. Al Munawir, M.Kes. Ph.D selaku Dosen Pembimbing I dan dr. Septa Surya Wahyudi, Sp.U selaku Dosen Pembimbing II yang telah banyak membantu penulisan skripsi ini sejak awal hingga akhir;
4. Analis dan civitas Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
5. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 30 November 2015

Penulis

**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN BIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xv
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	3
1.3.1 Tujuan Umum .....	3
1.3.2 Tujuan Khusus .....	3
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
<b>2.1 Dermatitis Paederus</b> .....	5
2.1.1 Etiologi .....	5
2.1.2 Patogenesis .....	6
2.1.3 Manifestasi Klinis .....	6
<b>2.2 Racun Pederin</b> .....	6

<b>2.3 Proses Penyembuhan Dermatitis Paederus</b> .....	7
<b>2.4 Matriks Metaloprotease</b> .....	8
<b>2.5 Doksisisiklin</b> .....	8
2.5.1 Cara Kerja .....	8
2.5.2 Farmakokinetik.....	9
2.5.3 Doksisisiklin sebagai MMP Inhibitor .....	9
<b>2.6 Gel</b> .....	9
2.6.1 Definisi Gel .....	9
2.6.2 Klasifikasi Gel .....	9
2.6.3 Karakteristik .....	10
<b>2.7 Makrofag</b> .....	10
2.7.1 Pembentukan Makrofag .....	10
2.7.2 Peran Makrofag dalam Peradangan.....	11
<b>2.8 Kerangka Konseptual</b> .....	13
<b>2.9 Hipotesis</b> .....	13
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	14
<b>3.1 Jenis Penelitian</b> .....	14
<b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	14
<b>3.3 Populasi dan Sampel</b> .....	14
3.3.1 Populasi.....	14
3.3.2 Sampel Penelitian .....	14
3.3.3 Besar Sampel Penelitian .....	15
<b>3.4 Variabel Penelitian</b> .....	15
3.4.1 Variabel Bebas .....	15
3.4.2 Variabel Terikat .....	15
3.4.3 Variabel Terkendali .....	16
<b>3.5 Definisi Operasional</b> .....	16
<b>3.6 Rancangan Penelitian</b> .....	17
<b>3.7 Alat dan Bahan</b> .....	18
3.7.1 Alat.....	18
3.7.2 Bahan .....	18

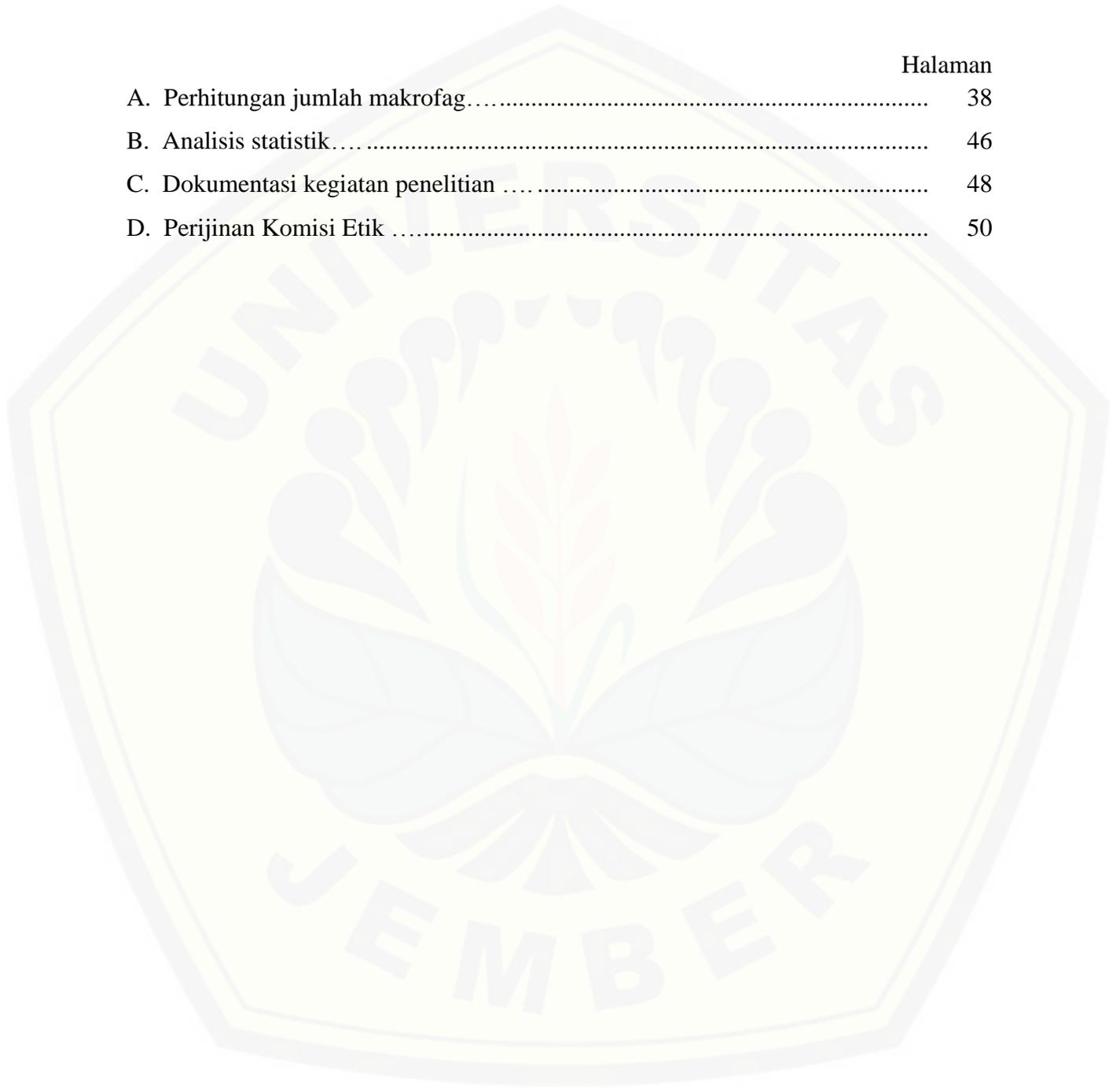
<b>3.8 Prosedur Penelitian</b> .....	18
3.8.1 Pemilihan Sampel Mencit .....	18
3.8.2 Persiapan Sampel Mencit.....	18
3.8.3 Pembuatan Gel Doksisiklin .....	19
3.8.4 Ekstraksi Racun Pederin .....	19
3.8.5 Tahap Perlakuan .....	20
3.8.6 Pengambilan Jaringan Kulit .....	20
3.8.7 Pembuatan Preparat Histopatologi (Pewarnaan H&E).....	20
3.8.8 Pengamatan Histopatologi .....	20
<b>3.9 Analisis Data</b> .....	21
<b>3.10 Alur Penelitian</b> .....	22
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	23
<b>4.1 Hasil Penelitian</b> .....	23
<b>4.2 Analisis Data</b> .....	29
<b>4.3 Pembahasan</b> .....	31
<b>BAB 4. PENUTUP</b> .....	34
<b>5.1 Kesimpulan</b> .....	34
<b>5.2 Saran</b> .....	34
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	35
<b>LAMPIRAN</b> .....	38

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Dermatitis Paederus .....	5
2.2 Fase, waktu, dan sel yang dominan pada proses penyembuhan luka .....	7
2.3 Skema kerangka konseptual peneliti .....	13
3.1 Skema rancangan penelitian .....	17
3.2 Lapang pandang yang digunakan untuk menghitung .....	21
3.3 Skema Alur Penelitian .....	22
4.1 Sediaan histopatologi Dermatitis Paederus hari ke-1 .....	24
4.2 Sediaan histopatologi Dermatitis Paederus hari ke-3 .....	24
4.3 Sediaan histopatologi Dermatitis Paederus hari ke-5 .....	25
4.4 Sediaan histopatologi Dermatitis Paederus hari ke-7 .....	25
4.5 Sediaan histopatologi Dermatitis Paederus hari ke-15 .....	26
4.6 Diagram rata-rata jumlah makrofag .....	28
4.7 Diagram perubahan jumlah makrofag .....	29

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
A. Perhitungan jumlah makrofag .....	38
B. Analisis statistik .....	46
C. Dokumentasi kegiatan penelitian .....	48
D. Perijinan Komisi Etik .....	50



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Dermatitis paederus adalah iritasi kulit akut yang disebabkan adanya kontak kulit dengan racun yang ada pada kumbang tomcat (*Paederus* sp) (Singh dan Ali, 2007). Racun yang berasal dari tubuh kumbang tomcat (*Paederus* sp) disebut racun pederin. Racun pederin merupakan cairan hemolimfe berisi pederin ( $C_{25}H_{45}O_9N$ ) yang merupakan zat kimia iritan kuat (Singh dan Ali, 2007). Racun pederin menimbulkan gejala berupa rasa gatal, merah, dan melepuh seperti terbakar pada kulit. Dokter cenderung menggunakan kortikosteroid sebagai terapi pada gejala tersebut (Kemenkes RI, 2012). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fakoorziba *et al.* (2011), pengobatan dermatitis paederus menggunakan kortikosteroid tidak efektif karena waktu penyembuhan menjadi lebih lama.

Kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) pertama kali menyerang pada tahun 1915 di Afrika (Mbonile, 2011). Sejak itu, serangan Tomcat (*Paederus* sp.) terjadi di berbagai belahan dunia termasuk Indonesia. Pada tahun 2008 sampai 2012, tercatat sebanyak 260 warga di Tulungagung, 50 warga Gresik dan 160 warga Surabaya mengalami gejala *Paederus* dermatitis (Kompas, 2012).

Racun pederin awalnya diduga berasal dari tubuh kumbang Tomcat (*Paederus* sp.). Namun, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Piel (2002), gen pada biosintesis racun pederin tidak berasal dari genom kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) melainkan lebih mendekati genom bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang mampu mensekresikan enzim matriks metaloprotease (MMP). Enzim matriks metaloprotease (MMP) merupakan enzim proteolitik yang memiliki kemampuan mendegradasi matriks ekstraseluler. Terdapat 26 jenis MMP pada tubuh manusia. MMP yang berperan dalam penelitian ini adalah MMP-2 dan MMP-9 yang memiliki kemampuan mendegradasi komponen matriks ekstraseluler kulit seperti kolagen, gelatin dan elastin (Asodeh & Musaabadi, 2012). Penelitian lain menyebutkan bahwa penggunaan terapi tambahan berupa

antibiotik menghasilkan waktu penyembuhan yang lebih singkat daripada hanya menggunakan kortikosteroid dan antihistamin (Qadir *et al.*, 2006).

Menurut Romadhon *et al.* (2014), penelitian sebelumnya telah terbukti bahwa MMP-2 dan MMP-9 berperan dalam proses dermatitis paederus akibat kumbang Tomcat (*Paederus sp.*), dan antibiotik doksisisiklin dalam dosis 10 mM terbukti mampu menghambat aktifitas dua enzim tersebut secara *in vitro*. Akan tetapi, masih belum dilakukan penelitian secara *in vivo*.

Dermatitis paederus termasuk jenis Dermatitis Kontak Iritan (DKI) yang proses penyembuhannya seperti luka pada umumnya (Qadir *et al.*, 2006). Fase penyembuhan luka terdiri dari fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodeling. Pada fase inflamasi dimulai setelah 24 hingga 48 jam setelah terjadinya luka. Fase ini dimulai dari hemostasis dan pengeluaran sel radang. Sel radang akan menuju tempat luka setelah platelet mengeluarkan *growth factor*. *Growth factors* ini menginduksi gerakan kemotaksis dan proliferasi makrofag dan netrofil. Sel tersebut membantu membersihkan luka dari sel nekrotik dan bakteri melalui proses fagositosis. Makrofag merupakan sel radang yang memiliki peran penting dalam fase inflamasi. Selain itu makrofag juga mengeluarkan sitokin proinflamasi yang menstimulasi keluarnya makrofag baru, limfosit, fibroblast, dan sel epitel (Andrew dan Thomas, 2014). Pada proses inflamasi, sel-sel radang yang teraktivasi akan meningkatkan produksi proenzim, diantaranya *Matrix Metalloprotease* atau MMPs. Adanya aktifitas MMP pada dermatitis paederus memungkinkan terjadinya gangguan proses penyembuhan luka dan berpengaruh pada jumlah makrofag. Pada saat ini pengobatan dermatitis paederus masih menggunakan kortikosteroid dan anti inflamasi sehingga membutuhkan waktu penyembuhan yang lama.

Doksisisiklin merupakan salah satu jenis antibiotik yang mempunyai sifat sebagai MMP inhibitor. Sediaan obat ini berupa kapsul. Terapi yang biasa digunakan untuk penyakit kulit adalah dalam sediaan topikal sehingga penulis berinisiatif untuk membuat doksisisiklin dalam bentuk gel karena diduga doksisisiklin gel memiliki potensi untuk mengobati dermatitis paederus akibat

racun tomcat (*Paederus* sp.). Bentuk sediaan ini dipilih karena lebih sesuai dengan jenis luka pada dermatitis paederus.

Berdasarkan latar belakang di atas, penulis tertarik untuk meneliti lebih lanjut tentang pengobatan yang sesuai untuk penyakit ini secara *in vivo* terutama dalam hal pengaruh pemberian gel doksisisiklin terhadap jumlah makrofag pada proses penyembuhan dermatitis paederus akibat racun tomcat (*Paederus* sp.) pada mencit (*Mus musculus*).

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah ada perbedaan pengaruh pemberian gel doksisisiklin terhadap jumlah makrofag pada proses penyembuhan dermatitis paederus akibat racun kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) pada mencit (*Mus musculus*)?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan perbedaan pengaruh pemberian gel doksisisiklin terhadap jumlah makrofag pada proses penyembuhan dermatitis paederus akibat racun tomcat (*Paederus* sp.) pada mencit (*Mus musculus*)

### 1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mendeskripsikan jumlah makrofag pada pemberian gel doksisisiklin 1%
- b. Mendeskripsikan jumlah makrofag pada pemberian gel doksisisiklin 5%

## 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

### a. Manfaat Teoritis

Memberikan pemahaman secara ilmiah tentang pengaruh gel doksisisiklin terhadap jumlah makrofag pada proses penyembuhan dermatitis paederus akibat racun tomcat (*Paederus* sp.) pada mencit (*Mus musculus*)

b. Manfaat Praktis

Gel doksisisiklin dapat mempercepat penyembuhan penderita dermatitis paederus.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Dermatitis Paederus

Dermatitis paederus adalah iritasi kulit akut yang disebabkan adanya kontak kulit dengan racun yang ada pada kumbang tomcat, yaitu racun pederin. Racun pederin dikeluarkan dari tubuh kumbang tomcat bukan melalui sengatan ataupun gigitan, melainkan karena tubuh kumbang tomcat tergecet atau tidak sengaja ditekan (Singh dan Ali, 2007).



Gambar 2.1 Dermatitis Paederus

#### 2.1.1 Etiologi

Menurut Hadi (2012), etiologi dermatitis paederus di Indonesia jenis yang paling banyak dijumpai adalah *Paederus fuscipes* dan satu jenis lagi tetapi tidak sebanyak yang pertama yaitu *Paederus tamulus*. Tubuh kumbang *Paederus* berbentuk memanjang, terbagi menjadi tiga yaitu kepala, toraks, dan abdomen. Bagian kepala, perut bagian bawah, dan elitera (struktur sayap pelindung) berwarna hitam, dan bagian dada serta perut atas berwarna merah oranye. Kakinya terdiri atas tiga pasang dengan jumlah ruas tarsi kaki depan, tengah, dan belakang adalah 5-5-5, serta tidak berkuku. Sayapnya dua pasang, tetapi tidak menutupi seluruh abdomen, hanya menutupi ruas abdomen kesatu sampai dengan ketiga. Sayap depan mengeras disebut elitera, dan berfungsi sebagai perisai, sedangkan sayap yang kedua membranous atau bening digunakan untuk terbang. Jenis *Paederus fuscipes*, terlihat pronotumnya berbentuk oval memanjang, kaki-kakinya berwarna kuning kecoklat-coklatan (oranye) kecuali bagian apeks femur ketiga.

Terminal segmen pada palpi berwarna coklat. Bagian basal elitera berjarak sangat dekat dan terlihat seperti menempel pada pronotum. Berbeda dengan *P. fuscipes*, jenis *P. tamulus* memiliki pronotum berbentuk agak membulat tidak memanjang seperti pada *P. fuscipes* semua kaki-kakinya berwarna coklat kehitam-hitaman, terminal segmen pada palpi juga berwarna coklat kehitam-hitaman, bagian basal elitera berjarak tidak terlalu dekat sehingga terlihat tidak menempel pada pronotum.

### 2.1.2 Patogenesis

Kelainan kulit timbul akibat kerusakan sel yang disebabkan oleh bahan iritan melalui kerja kimiawi atau fisis. Namun, mekanisme dermatitis paederus yang terjadi pada reaksi terhadap kulit masih belum dipahami secara menyeluruh (Ahmed *et al.*, 2013). Hal yang telah diketahui bahwa racun pederin dapat mengiritasi kulit karena sifat keasamannya yg tinggi dan kandungan MMP di dalamnya. Empat mekanisme yang umum terjadi pada Dermatitis Kontak Iritan (DKI) adalah hilangnya membran lemak, kerusakan sel lemak, denaturasi keratin epidermal, dan efek sitotoksik secara langsung.

### 2.1.3 Manifestasi Klinis

Dermatitis paederus menimbulkan reaksi gatal-gatal, rasa terbakar, eritema dan mengalir keluar 12-48 jam kemudian. Lesi-lesi kulit bisaanya linear, dan kulit melepuh (vesiko-vitiliginous), bisa juga terjadi konjungtivitis pada mata atau bengkul-bengkul kemerahan (Singh dan Ali, 2007).

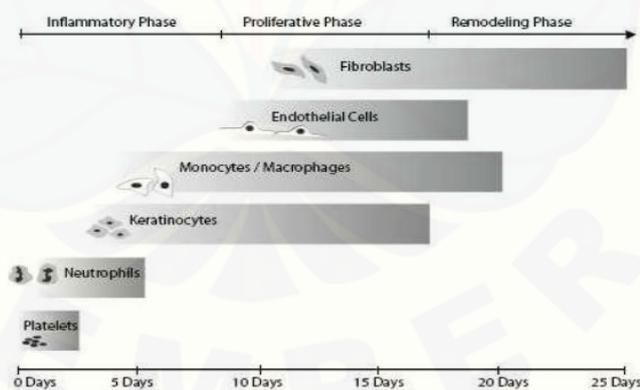
## 2.2 Racun Pederin

Racun pederin merupakan cairan hemolimfe berisi pederin ( $C_{25}H_{45}O_9N$ ) yang merupakan zat kimia iritan kuat (Singh dan Ali, 2007). Beberapa laporan penelitian menunjukkan bahwa biosintesis pederin terjadi hanya pada kumbang betina tertentu. Keberadaan bakteri endosymbiotic gram negatif tertentu pada betina (+) tampaknya berperan penting untuk sintesis pederin. DNA dari bakteri simbiotik tergolong dalam genus *Pseudomonas*, dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Oleh karenanya, serangga betina yang infeksi membawa bakteri tersebut *haemolymphnya* mengandung pederin yang bersifat racun yang dapat menyebabkan gejala radang dan melepuh pada kulit manusia. Lepuh akan pecah dan mengering atau dapat bernanah, dalam waktu kurang lebih 2 minggu baru akan pulih kembali (Zargari *et al.*, 2003).

### 2.3 Proses Penyembuhan Dermatitis Paederus

Proses penyembuhan dermatitis paederus serupa dengan proses penyembuhan luka pada umumnya. Proses penyembuhan luka terdiri dari tiga fase, yaitu fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodeling. Pada setiap fase penyembuhan tersebut terdapat satu jenis sel khusus yang mendominasi (Gambar 2.1). Fase awal yakni fase inflamasi, segera setelah terjadinya suatu cedera dengan tujuan untuk menyingkirkan jaringan mati dan mencegah infeksi. Fase proliferasi berlangsung kemudian, di mana akan terjadi keseimbangan antara pembentukan jaringan parut dan regenerasi jaringan. Fase yang paling akhir yakni fase remodeling, merupakan fase terpanjang dan hingga saat ini merupakan fase yang paling sedikit dipahami. Fase ini bertujuan untuk memaksimalkan kekuatan dan integritas struktural dari luka.



Gambar 2.2 Fase, waktu, dan sel yang dominan pada proses penyembuhan luka (Sumber: Hidayat, 2013)

## 2.4 Matriks Metaloprotease

MMP merupakan enzim protease yang mampu mendegradasi matriks ekstraseluler seperti kolagen, elastin, gelatin, dll. Enzim ini diaktifkan oleh ion kalsium dan zink pada pH netral. MMP diekskresikan dari berbagai sel proinflamasi seperti fibroblast, sel endotel, makrofag, dll. Produksi MMPs diatur oleh hormon, *growth factor*, sitokin, inhibitor MMP endogen (MMPIs) dan inhibitor jaringan MMPs (TIMPs). Kelebihan ekspresi MMP akan menghasilkan ketidakseimbangan antara aktivitas MMPs dan TIMPs yang dapat menyebabkan timbulnya berbagai kondisi patologis. Manusia memiliki 26 jenis MMP, salah satunya ialah MMP-2 dan MMP-9 yang masuk dalam golongan gelatinase. Enzim ini mendegradasi kolagen tipe IV pada membrana basalis dan gelatin pada kulit (Verma dan Hansch, 2007). Piel (2002) menemukan bukti bahwa racun paderin berasal dari simbiosis antara kumbang *Paederus* sp. dengan bakteri gram negatif *Pseudomonas aeruginosa*. Berdasarkan penelitian Asoodeh dan Musaabadi (2012), *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan enzim proteolitik yaitu MMP. Oleh karena itu, enzim ini diduga memiliki andil dalam proses dermakonekrosis pada dermatitis paederus.

## 2.5 Doksisisiklin

### 2.5.1 Cara Kerja

Doksisisiklin adalah salah satu jenis tetrasiklin yang bersifat bakteriostatik berspektrum luas baik pada bakteri gram-positif maupun gram-negatif, termasuk bakteri anaerob. Fokus kerja obat ini adalah dengan menghambat sintesis protein bakteri pada ribosomnya (Katzung, 2012). Resistensi doksisisiklin sebagai antibiotik masih rendah sehingga memungkinkan untuk diberikan pada pasien dermatitis paederus. Dosis untuk mendapatkan efek sebagai antibiotik adalah 100 mg sekali atau dua kali sehari. Sifat kelarutan doksisisiklin yakni basa dan larut didalam air (European Pharmacopoeia, 2005).

### 2.5.2 Farmakokinetik

Kelebihan doksisisiklin dari golongan tetrasiklin lain adalah kemampuannya untuk diabsorpsi lebih dari 90% dan penyerapannya tidak dipengaruhi oleh makanan serta tidak memiliki kontraindikasi pada pasien dengan gangguan ginjal karena mengalami metabolisme di hati (Gunawan, 2012). Sebagai salah satu golongan tetrasiklin, doksisisiklin termasuk dalam antibiotik kerja-lama yakni 16-18 jam. Doksisisiklin tersedia dalam bentuk kapsul 100 mg.

### 2.5.3 Doksisisiklin sebagai MMP Inhibitor

Doksisisiklin dalam dosis 20 mg dua kali per hari dapat memberikan efek penekanan aktivitas kolagenase. Doksisisiklin menghambat aktivitas MMP dengan melakukan ikatan pada ion  $\text{Ca}^{2+}$  sehingga menyebabkan enzim tidak berfungsi. Obat ini mampu menghambat MMP yang berasal dari berbagai macam sel, seperti : neutrofil, makrofag, fibroblas, dan limfosit-T. Dengan kemampuannya sebagai inhibitor MMP, doksisisiklin memberikan efek positif terhadap waktu penyembuhan luka (Katzung, 2012; Kristanti, 2012).

## 2.6 Gel

### 2.6.1 Definisi gel

Gel adalah sistem semipadat di mana fase cairnya dibentuk dalam suatu matriks polimer tiga dimensi yang tingkat ikatan silang fisiknya tinggi. Polimer yang bisa digunakan untuk membuat gel farmasetik meliputi gom alam tragakan, pektin, karagen, agar, asam alginat, serta bahan-bahan sintetis dan semisintetis seperti metilselulosa, hidroksietilselulosa, karboksimetilselulosa, dan Carbopol (Lachman, 1994: 1092). Gel segera mencair jika berkontak dengan kulit dan membentuk satu lapisan. Absorpsi perkutan lebih baik daripada krim. Sediaan berbentuk gel digunakan karena sifat gel yang mudah diabsorpsi secara perkutan.

### 2.6.2 Klasifikasi gel

Klasifikasi gel dikelompokkan pada gel organik dan anorganik berdasarkan sifat fase koloidal. Gel organik dibagi menjadi gom alam dan gom hasil sintesa. Sifat

pelarut akan menentukan apakah gel merupakan hidrogel (dasar air) atau organogel (dengan pelarut bukan air). Gel padat dengan konsentrasi pelarut rendah dikenal sebagai “*xero gel*”, sering dihasilkan dengan cara penguapan pelarut, sehingga menghasilkan kerangka gel (Agoes & Darijanto, 1993).

### 2.6.3 Karakteristik

Zat pembentuk gel yang ideal untuk sediaan farmasi dan kosmetik adalah inert, aman dan tidak bereaksi dengan komponen farmasi lain. Inkompabilitas yang potensial dapat terjadi dengan mencampur obat yang bersifat akationik, pengawet ataupun surfaktan dengan senyawa pembentuk gel anionik. Dalam hal ini mungkin terjadi inaktivasi atau pengendapan zat kationik tersebut. Pemilihan bahan pembentuk gel dalam setiap formulasi bertujuan membentuk sifat seperti padatan yang cukup baik selama penyimpanan yang dengan mudah dapat dipecah bila diberikan gaya pada sistem. Misalnya, dengan pengocokan botol, memencet tube atau selama aplikasi topikal. Pertimbangan harga menyebabkan pilihan jatuh pada zat pembentuk gel yang mampu dalam konsentrasi rendah menghasilkan karakteristik yang diinginkan (Agoes & Darijanto, 1993).

## 2.7 Makrofag

### 2.7.1 Pembentukan makrofag

Makrofag berasal dari sel prekursor yang berasal dari sumsum tulang. Siklus hidup makrofag berawal dari premonosit yang meninggalkan sumsum tulang dan masuk ke dalam sirkulasi yang selanjutnya menjadi monosit. Premonosit ini berukuran lebih besar dari monosit. Monosit memiliki waktu yang singkat dalam pembuluh darah, yaitu 10 hingga 20 jam. Tetapi saat sudah memasuki jaringan monosit ini berubah menjadi makrofag dengan ukuran yang lebih besar, sebesar 60 hingga 80 mikrometer yang disebut sebagai makrofag jaringan. Sel ini dapat bertahan berbulan-bulan di dalam jaringan kecuali makrofag dimusnahkan saat melakukan fungsi fagositik. Makrofag jaringan inilah yang berperan dalam pertahanan tubuh melawan infeksi (Guyton & E.Hall, 2007).

### 2.7.2 Peran makrofag dalam peradangan

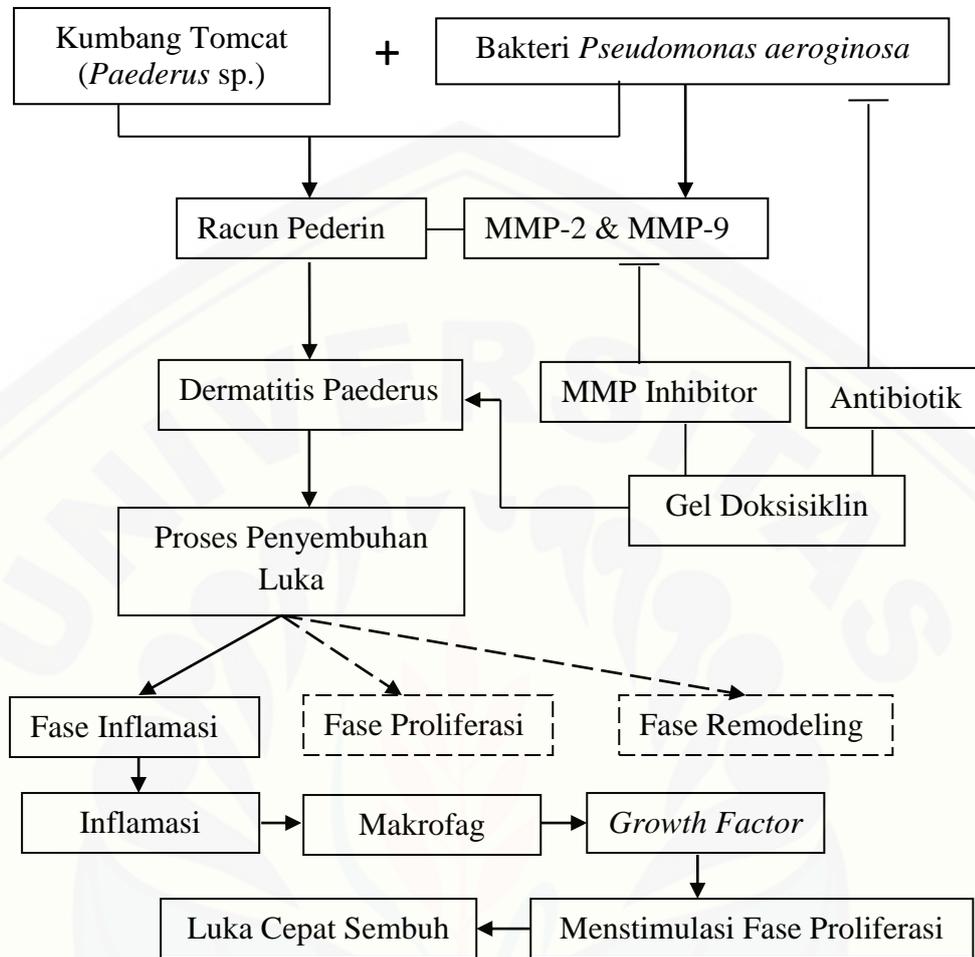
Monosit bersama netrofil memasuki jaringan dengan cara diapedesis. Diapedesis adalah suatu usaha untuk keluar melalui pembuluh darah yang masih utuh pada unsur butir darah (Dorland, 1998). Sel-sel ini bergerak secara amoeboid melewati ruang antar jaringan dengan kecepatan 40 mikrometer/menit. Sel darah putih ini akan menuju jaringan yang meradang dengan cara kemotaksis. Kemotaksis adalah adanya zat-zat kimia yang menyebabkan netrofil dan makrofag menuju sumber zat tersebut. Zat zat ini terdiri dari toksin bakteri atau virus, produk degeneratif dari jaringan yang meradang, produk reaksi komplemen dan beberapa produk pembentukan plasma. Proses kemotaktik ini bergantung pada konsentrasi zat-zat tersebut (Guyton & E.Hall, 2007).

Pada perjalanan reaksi peradangan akut, monosit mulai bermigrasi bersamaan dengan neutrofil, tetapi jumlah monosit lebih sedikit dan kecepatannya lebih lambat. Namun semakin lama umur luka, presentase umur sel ini akan meningkat. Monosit atau makrofag ini memiliki fungsi yang sama dengan PMN, yaitu memiliki respon terhadap kemotaktik yang bersifat fagositik aktif dan mampu membunuh serta mencerna berbagai agen. Terdapat perbedaan antara makrofag dan PMN, diantaranya adalah makrofag dapat bertahan lama hingga berbulan-bulan di dalam jaringan sedangkan PMN memiliki siklus hidup yang pendek. Makrofag dikeluarkan dari sumsum tulang tidak dalam keadaan matur seperti halnya neutrofil. Perbedaan yang terakhir adalah makrofag mampu melakukan pembelahan lebih lanjut dan mampu mensintesis enzim-enzim intraseluler (*growth factors*) (Pryce & Wilson, 2005).

Makrofag memiliki kemampuan fagositik lebih baik dibandingkan netrofil. Makrofag memiliki kemampuan untuk memfagositosis partikel yang besar seperti sel darah merah, ataupun parasit malaria. Setelah memfagositosis partikel, makrofag mengeluarkan produk residu yang menyebabkan makrofag dapat bertahan hidup lama di jaringan yang meradang. Proses fagositosis ini membutuhkan lisosom yang terdiri dari enzim proteolitik dan lipase untuk mencerna bakteri. Enzim proteolitik yang terdapat dalam lisosom ini berfungsi untuk mencerna bakteri dan bahan protein pada bakteri sedangkan lipase mencerna membran lipid tebal pada beberapa bakteri. Selain itu makrofag memiliki bahan bakterisidal yang dapat membunuh sebagian besar bakteri (Guyton & E.Hall, 2007).

Makrofag dalam jaringan merupakan lini pertama dalam proses peradangan. Makrofag yang awalnya terikat ini akan lepas dari perlekatannya dan menjadi bergerak. Walaupun jumlah makrofag yang ada sedikit tetapi infeksi dapat dicegah selama beberapa jam. Selanjutnya monosit akan memasuki tempat peradangan bersama dengan netrofil. Tetapi jumlah monosit dalam darah berjumlah sedikit dan penyimpanan monosit juga sedikit dalam sumsum tulang. Sehingga pembentukan makrofag pada jaringan yang meradang memerlukan waktu yang lebih lama dibandingkan netrofil. Monosit ini juga masih berupa sel imatur dan memerlukan waktu 8 jam untuk membesar dan membentuk lisosom. Oleh karena itu makrofag memerlukan beberapa hari untuk menjadi efektif. Setelah beberapa hari makrofag inilah yang mendominasi sel fagositik pada daerah peradangan. Terjadi peningkatan jumlah pembentukan granulosit dan monosit oleh sumsum tulang saat terjadi peradangan. Peningkatan ini disebabkan oleh perangsangan sel-sel progenitor granulositik dan monositik di sumsum tulang (Guyton & E.Hall, 2007).

**2.8 Kerangka Konseptual**



Keterangan :

- > : yang di teliti
- > : yang tidak di teliti
- | : Menghambat

Gambar 2.3 Kerangka konseptual penelitian

**2.9 Hipotesis**

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah gel doksisisiklin memiliki pengaruh terhadap penurunan jumlah makrofag dalam proses penyembuhan dermatitis paederus.

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian *quasy experimental* secara in vivo dengan rancangan *randomized post test only control group design*.

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di beberapa tempat. Pemeliharaan dan pemberian perlakuan hewan coba dan pembuatan ekstrak racun kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) dilakukan di Laboratorium Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Pembuatan sediaan gel dilakukan di Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember. Pembuatan sediaan histopatologi di laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Pengamatan dilakukan di laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Waktu yang dibutuhkan untuk penelitian ini selama 5 Bulan mulai dari Bulan April sampai Bulan Oktober 2015.

### 3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

#### 3.3.1 Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini terdiri mencit jantan jenis (*Mus musculus*).

#### 3.3.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah mencit jantan jenis (*Mus musculus*). Pemilihan mencit jantan difungsikan untuk menghindari efek hormonal yang dapat mempengaruhi hasil penelitian. Kriteria sampel meliputi mencit jantan jenis (*Mus musculus*), berumur 2-3 bulan dengan berat badan 16-20 gram, sehat, bergerak aktif Kriteria inklusi ialah muncul lesi pada kulit yang diinduksi. Kriteria eksklusi ialah mencit jantan jenis (*Mus musculus*) yang selama penelitian tidak mau makan

dan mati. Perijinan *ethical clearance* terhadap prosedur penelitian diajukan ke komisi etik penelitian kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Jumlah perlakuan pada penelitian ini ialah sebanyak enam perlakuan berdasarkan waktu induksi dan waktu pemberian terapi.

### 3.3.3 Besar Sampel Penelitian

Besar sampel hewan coba untuk masing-masing sampel (n) diperoleh dari rumus Federer sebagai berikut:

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

Dimana r adalah replikasi dan t adalah jumlah pengamatan atau intervensi, sehingga:

$$(r-1)(20-1) \geq 15$$

$$(r-1)19 \geq 15$$

$$r-1 \geq 0,79$$

$$r \geq 1,79$$

Besar sampel hewan coba untuk masing-masing sampel adalah 2, dimana ada 4 kelompok intervensi dalam 5 hari pengamatan sehingga dibutuhkan 40 ekor mencit pada penelitian ini.

## 3.4 Variabel Penelitian

### 3.4.1 Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah gel doksisisiklin dengan konsentrasi 1% dan 5% yang meliputi waktu pemberian dan dosis pemberian.

### 3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah makrofag pada sediaan histopatologi kulit yang diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran lensa objektif sebesar 40 kali. Sel makrofag diamati setelah pembedahan pada hari ke-1, 3, 5, 7, dan 15.

### 3.4.3 Variabel Terkendali

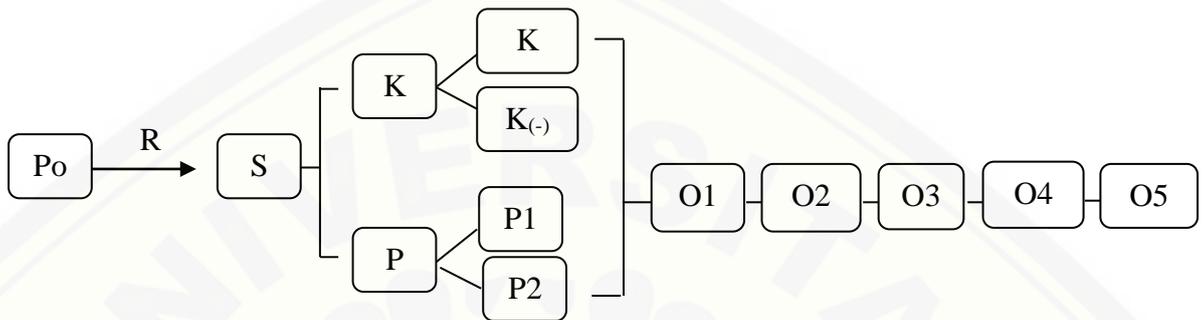
- a. Jenis dan pemeliharaan binatang coba.
- b. Pembuatan dan jumlah gel doksisisiklin dengan konsentrasi 1% dan 5%.
- c. Induksi racun pada kulit punggung binatang coba.
- d. Lama perlakuan.
- e. Cara pengamatan.
- f. Prosedur penelitian.

### 3.5 Definisi Operasional

- a. Gel doksisisiklin adalah terapi yang diberikan pada penelitian ini. Pembuatan gel doksisisiklin menggunakan metode HPMC. Gel doksisisiklin yang digunakan dengan konsentrasi 1% dan 5%.
- b. Jumlah makrofag adalah sel makrofag pada jaringan kulit yang terkena dermatitis dihitung dengan perbesaran lensa objektif 400 kali. Makrofag merupakan sebuah sel fagosit besar seri mononuklear yang ditemukan dalam jaringan. Kemampuannya termasuk fagositosis dan presentasi antigen ke sel T.
- c. Dermatitis paederus adalah iritasi kulit akut yang disebabkan adanya kontak kulit dengan racun yang ada pada kumbang tomcat.
- d. Racun tomcat (*Paederus sp.*) adalah racun pederin yang didapatkan melalui ekstraksi racun dari tubuh kumbang Tomcat (*Paederus sp.*) dengan metode homogenisasi secara makros menggunakan mortar dengan pelarut aquades. Perbandingan jumlah kumbang Tomcat (*Paederus sp.*) dan aquades ialah sebanyak 5 ekor kumbang Tomcat (*Paederus sp.*) dalam 1 mL aquades. Suspensi racun kemudian disentrifuge dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit dan diambil bagian supernatan. Supernatan tersebut selanjutnya dilakukan pengukuran kadar protein menggunakan uji Bradford dengan standar *bovin serum albumin* (BSA) 1  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  sehingga didapatkan racun dengan konsentrasi yang ditunjukkan dalam satuan  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ .

### 3.6 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Post Test Only Control Group Design* (Pratiknyo, 2000). Rancangan penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan :

- Po : Populasi mencit jantan jenis *Mus musculus*
- R : Pengambilan populasi secara random
- S : 40 ekor mencit yang dipilih untuk penelitian
- K : Kelompok kontrol yang dicukur saja tanpa diberi perlakuan
- K(-) : Kelompok kontrol + yang dicukur dan diinduksi racun pederin 500  $\mu$ l
- P1 : Kelompok perlakuan 1 yang dicukur, diinduksi racun pederin 500  $\mu$ l, dan diolesi doksisisiklin 1% 12 jam pasca induksi.
- P2 : Kelompok perlakuan 2 yang dicukur, diinduksi racun pederin 500  $\mu$ l, dan diolesi doksisisiklin 5% 12 jam pasca induksi
- O1 : Observasi gambaran histologis mencit pada hari ke-1 (24 jam setelah induksi), diambil 2 ekor mencit tiap kelompok
- O2 : Observasi gambaran histologis mencit pada hari ke-3, diambil 2 ekor mencit tiap kelompok
- O3 : Observasi gambaran histologis mencit pada hari ke-5, diambil 2 ekor mencit tiap kelompok
- O4 : Observasi gambaran histologis mencit pada hari ke-7, diambil 2 ekor mencit tiap kelompok

O5 : Observasi gambaran histologis mencit pada hari ke-15, diambil 2 ekor mencit tiap kelompok

### 3.7 Alat dan bahan

#### 3.7.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari alas kandang, tempat pakan dan minum hewan coba. Ekstraksi dan induksi racun pederin membutuhkan alat mortar, centrifuge, pisau cukur, dan penggaris. Pembuatan gel membutuhkan alat beaker glass 50 ml, gelas ukur 10 ml, lumpang dan alu, timbangan analitik, dan lemari pendingin untuk menyimpan gel. Pemberian doksisisiklin membutuhkan alat kapas dan *handscoon*.

#### 3.7.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam proses ekstraksi racun tomcat adalah aquadest. Untuk membuat gel, diperlukan doksisisiklin HPMC, propilen glikol, dan aquadest. Untuk uji *in vivo*, dibutuhkan gel doksisisiklin 1% dan 5%. Pembuatan sampel kulit pemeriksaan histopatologi dibutuhkan normal saline dan formaline 10%.

### 3.8 Prosedur Penelitian

#### 3.8.1 Pemilihan Sampel Mencit

Hewan coba berupa mencit albino jantan berusia 2-3 bulan dengan berat badan 16-20 gram, sebanyak 40 ekor terbagi dalam empat kelompok dengan perincian 10 ekor mencit untuk masing-masing kelompok. Mencit yang dipilih harus mempunyai kulit yang sehat dan normal.

#### 3.8.2 Persiapan Sampel Mencit

Mencit diadaptasikan selama tujuh hari sebelum diberi perlakuan. Satu kelompok dibagi menjadi dua kandang dengan ukuran kandang 38x30x12 sentimeter. Suhu ruangan peliharaan sebesar 20<sup>0</sup> C ( $\pm$  3<sup>0</sup> C). Pencahayaan ruangan

diberikan secara artefisial dengan 12 jam terang dan 12 jam gelap. Mencit diberi pakan standar dan diberikan air minum secara *ad libitum*.

### 3.8.3 Pembuatan Gel Doksisisiklin

HPMC dikembangkan dengan cara ditaburkan diatas aquades. Kemudian didiamkan semalam (24 jam) sampai terbentuk gel (sediaan jernih). Campuran ini kemudian diaduk hingga homogen. Doksisisiklin yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam lumpang, kemudian ditambahkan propilen glikol dan diaduk dengan mortar hingga homogen. Setelah itu, basis gel yang telah terbentuk dituang ke dalam lumpang dan diaduk kembali.

Formula gel doksisisiklin 1% yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

R/	Doksisisiklin	1 gr
	HPMC	3 gr
	Propilen glikol	5 mL
	Aquades	100 mL

Formula gel doksisisiklin 5% yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

R/	Doksisisiklin	5 gr
	HPMC	3 gr
	Propilen glikol	5 mL
	Aquades	100 mL

### 3.8.4 Ekstraksi Racun Pederin

Kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) dihancurkan menggunakan mortar, lima ekor kumbang Tomcat dilarutkan dengan 1 mL aquadest. Dilakukan homogenisasi menggunakan mortar. Suspensi tersebut kemudian di sentrifuge 5000 rpm selama 5 menit dan diambil bagian supernatan.

### 3.8.5 Tahap perlakuan

#### a. Induksi Racun Pederin

Ekstrak racun pederin sebanyak 500  $\mu$ l diteteskan pelan-pelan pada daerah cukuran dorsum mencit. Tetesan itu kemudian dioleskan sampai merata ke semua bagian cukuran.

#### b. Perawatan Luka

Setelah mencit diberi Induksi Racun Pederin, luka dibersihkan dengan normal saline. Selanjutnya, mencit diperlakukan sesuai kelompok perlakuan. Kelompok P1 luka diolesi doksisisiklin 1% 12 jam pasca induksi, kelompok P2 luka diolesi doksisisiklin 5% 12 jam pasca induksi. Gel dioleskan sebanyak  $\pm$  0,5 gr dua kali sehari sampai mencit diterminasi.

### 3.8.6 Pengambilan Jaringan Kulit

Hewan coba diterminasi pada hari ke-1, 3, 5, 7, dan 15 dengan jumlah 2 ekor mencit per kelompok tiap kali terminasi. Sediaan kulit diambil terutama pada tengah luka karena proses dermakonekrosis luka berpusat pada tengah luka. Jaringan kulit yang diambil direndam dalam larutan formalin 10%.

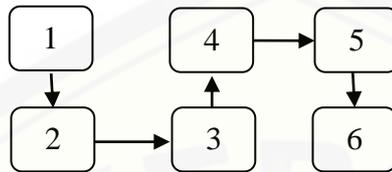
### 3.8.7 Pembuatan Preparat Histopatologi (Pewarnaan H&E)

Pembuatan preparat histopatologi dilakukan di laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Sediaan ini menggunakan pewarnaan hematoksilin dan eosin (H&E).

### 3.8.8 Pengamatan Histopatologi

Pengamatan dilakukan untuk mengamati jumlah sel makrofag pada sediaan dermatitis paederus. Sel makrofag dihitung dengan perbesaran lensa objektif 400 kali (Hidayat, 2013). Foto preparat yang sudah diambil dengan menggunakan lensa objektif perbesaran 400 kali dilakukan analisa dengan menandai gambaran makrofag tiap preparat menggunakan software *paint*. Jumlah makrofag yang sudah ditandai pada bagian dermis pada daerah yang terkena dermatitis paederus dilakukan perhitungan. Perhitungan dilakukan menggunakan software *ImageJ*

pada enam lapang pandang secara sistematis seperti gambar 3.2. Hasil perhitungan akan dirata-rata sehingga memperoleh jumlah makrofag tiap lapang pandang (Saputra, 2012).



Gambar 3.2 Lapang pandang yang digunakan untuk menghitung

### 3.9 Analisis Data

Dari hasil pengamatan yang diperoleh, data rata-rata jumlah makrofag dianalisis secara statistik dengan menggunakan *Shapiro-Wilk* untuk menguji normalitas data dan dilanjutkan dengan analisis *one way ANOVA* dan apabila uji normalitas data tidak didapatkan hasil yang signifikan dilanjutkan dengan uji *kruskal wallis*.