



**EFEKTIVITAS KOMBINASI EKSTRAK ETANOL BIJI
KAKAO DAN ALBUMIN IKAN GABUS TERHADAP
PENYEMBUHAN LUKA INFEKSI**

SKRIPSI

Oleh

**Rachel Fellensia
NIM 162010101042**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2020**



**EFEKTIVITAS KOMBINASI EKSTRAK ETANOL BIJI
KAKAO DAN ALBUMIN IKAN GABUS TERHADAP
PENYEMBUHAN LUKA INFEKSI**

SKRIPSI

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

Oleh

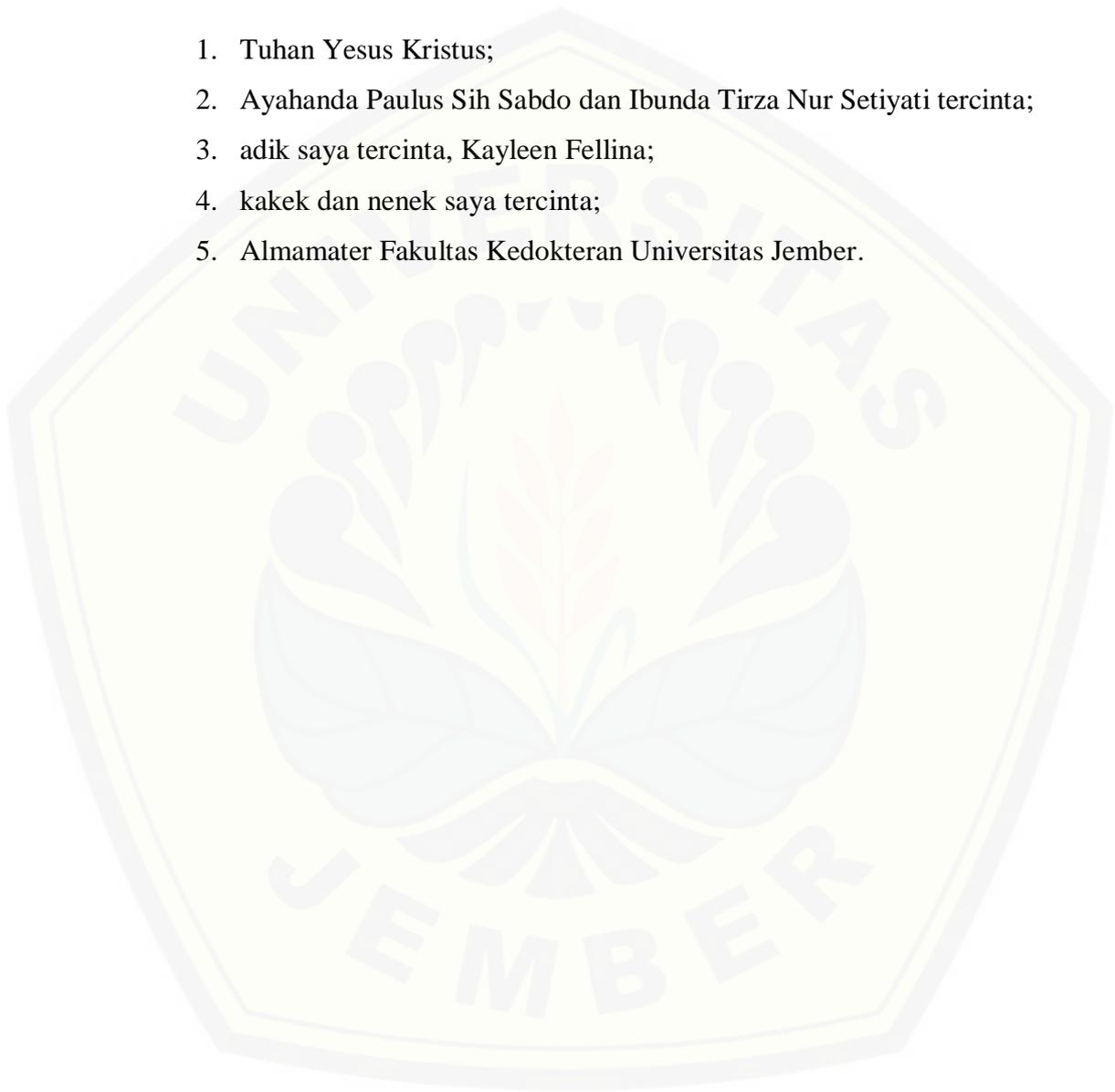
**Rachel Fellensia
NIM 162010101042**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2020**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Tuhan Yesus Kristus;
2. Ayahanda Paulus Sih Sabdo dan Ibunda Tirza Nur Setiyati tercinta;
3. adik saya tercinta, Kayleen Fellina;
4. kakek dan nenek saya tercinta;
5. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.



MOTTO

Takut akan TUHAN adalah permulaan pengetahuan, tetapi orang bodoh menghina hikmat dan didikan.

*(Versi Terjemahan Baru, Ams. 1.7)**



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Rachel Fellensia

NIM : 162010101042

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Efektivitas Kombinasi Ekstrak Etanol Biji Kakao dan Albumin Ikan Gabus terhadap Penyembuhan Luka Infeksi” adalah benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan di institusi mana pun, dan 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 ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 5 Agustus 2020

Yang menyatakan,

Rachel Fellensia
NIM 162010101042

SKRIPSI

**EFEKTIVITAS KOMBINASI EKSTRAK ETANOL BIJI
KAKAO DAN ALBUMIN IKAN GABUS TERHADAP
PENYEMBUHAN LUKA INFEKSI**

Oleh

Rachel Fellensia
NIM 162010101042

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : dr. Erfan Efendi, Sp.An

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Dion Krismashogi D., M.Si.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efektivitas Kombiasi Ekstrak Etanol Biji Kakao dan Albumin Ikan Gabus terhadap Penyembuhan Luka Infeksi” karya Rachel Fellensia telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : 5 Agustus 2020

tempat : Via daring *online*

Tim Penguji:

Ketua,

Anggota I,

dr. Ulfa Elfiah, Sp.BP-RE (K)
NIP 197607192001122001

dr. Cholis Abrori, M.Kes., M.Pd.Ked.
NIP 197105211998031003

Anggota II,

Anggota III,

dr. Erfan Efendi, Sp.An
NIP 196803281999031001

dr. Dion Krismashogi D., M.Si.
NIP 198609162014041002

Mengesahkan
Dekan,

dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp.BA
NIP 197304241999031002

RINGKASAN

Efektivitas Kombinasi Ekstrak Etanol Biji Kakao dan Albumin Ikan Gabus terhadap Penyembuhan Luka Infeksi; Rachel Fellensia; 162010101042; 2020; 111 Halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

WHO menyebutkan bahwa prevalensi infeksi nosokomial di dunia tahun 2018 mencapai angka 9%, sedangkan di Indonesia prevalensi infeksi ini pada tahun 2011 mencapai angka 7,1%. Salah satu penyebab tingginya prevalensi di Indonesia disebabkan oleh meningkatnya jumlah tindakan operasi dari tahun 2011 sampai 2012 sebesar 140 juta menjadi 148 juta tindakan. Berdasarkan data ini, dilaporkan bahwa infeksi luka operasi (ILO) juga ikut meningkat, dimana ILO termasuk dalam kategori infeksi nosokomial. Menurut Khan (2017), *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri penyebab utama dari ILO. Bakteri ini masih efektif ditangani oleh antibiotik mupirosin dengan penggunaan sesuai prinsip 5T (tepat pasien, tepat waktu, tepat obat, tepat rute, dan tepat dosis). Namun, pada tahun 2011, Suhariyanto melaporkan bahwa adanya resistensi antibiotik mupirosin oleh bakteri *methicillin resistant S. aureus* (MRSA), selain itu tidak semua kalangan masyarakat dapat menjangkau harga antibiotik ini, oleh sebab itu perlu ditemukan bahan alternatif lain sebagai terapi infeksi bakteri *Staphylococcus aureus*. Menurut penelitian Syamsuddin (2013) dan Suprayitno (2009), kakao dan ikan gabus diduga mampu membantu proses penyembuhan luka karena mengandung bahan aktif berupa polifenol dan asam amino. Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas kombinasi ekstrak etanol biji kakao dan albumin ikan gabus terhadap penyembuhan luka infeksi.

Penelitian ini dilakukan dengan metode *quasi* eksperimental laboratoris dan *posttest only control group design*. Unit eksperimen menggunakan tikus *Rattus norvegicus* dengan jumlah sampel berdasarkan rumus Federer sebanyak 24 ekor yang dibagi ke dalam empat kelompok. Kelompok kontrol diberikan terapi krim antibiotik mupirosin 2%, kelompok perlakuan pertama diberikan terapi krim ekstrak etanol biji kakao 8%, kelompok perlakuan kedua diberikan terapi serbuk albumin ikan gabus, dan kelompok perlakuan ketiga diberikan terapi kombinasi krim ekstrak etanol biji kakao 8% serta serbuk albumin ikan gabus. Variabel yang diukur pada penelitian ini yaitu persentase penyembuhan luka infeksi, skor penyembuhan luka infeksi, skor kepadatan serabut kolagen, dan jumlah fibroblas. Data persentase penyembuhan luka hari ke-4 dianalisis menggunakan uji *One Way Anova* karena berskala rasio, terdistribusi normal, dan homogen. Data persentase penyembuhan luka hari ke-7 dianalisis menggunakan uji *Kruskal Wallis* karena berskala rasio, terdistribusi tidak normal, dan tidak homogen. Data skor penyembuhan luka dan skor kepadatan serabut kolagen dianalisis

menggunakan uji *Mann Whitney* karena berskala ordinal dengan tabel (>2) \times (>2) dan syarat χ^2 tidak terpenuhi. Data jumlah fibroblas dianalisis menggunakan uji *One Way Anova* karena berskala rasio, terdistribusi normal, dan homogen.

Hasil analisis data persentase penyembuhan luka hari ke-4, persentase penyembuhan luka hari ke-7, dan skor penyembuhan luka menunjukkan bahwa $p>0,05$ yang artinya tidak ada perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan. Hal ini dapat disebabkan karena tidak semua sampel memiliki selisih yang berbeda jauh antar kelompok perlakuan. Hasil analisis data skor kepadatan serabut kolagen dan jumlah fibroblas menunjukkan bahwa $p<0,05$ yang artinya terdapat perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan. Hal ini dapat disebabkan karena penambahan terapi albumin ikan gabus yang mengandung asam amino dapat meningkatkan proses pembentukan kolagen dan proliferasi fibroblas dalam pembentukan jaringan baru.

Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa terapi kombinasi krim ekstrak etanol biji kakao 8% dengan serbuk albumin ikan gabus lebih efektif dibanding terapi tunggal krim ekstrak etanol biji kakao 8% dilihat dari parameter mikroskopis yaitu skor kepadatan serabut kolagen dan jumlah fibroblas. Oleh sebab itu, perlu dilakukan uji klinis untuk diaplikasikan sebagai terapi.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa karena atas rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan proposal penelitian yang berjudul “Efektivitas Kombinasi Ekstrak Etanol Biji Kakao dan Albumin Ikan Gabus terhadap Penyembuhan Luka Infeksi” ini dengan baik.

Penyusunan penelitian ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Iwan Taruna, M.Eng., selaku Rektor Universitas Jember;
2. dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp.BA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
3. dr. Erfan Efendi, Sp.An selaku dosen pembimbing utama dan dr. Dion Krismashogi D., M.Si. selaku dosen pembimbing anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, serta bimbingan dalam penulisan skripsi ini;
4. dr. Ulfa Elfiah, Sp.BP-RE (K) selaku dosen penguji utama dan dr. Cholis Abrori, M.Kes., M.Pd.Ked. selaku dosen penguji anggota yang telah memberikan kritik serta saran demi kebermanfaatan penulisan skripsi ini;
5. analis laboratorium biokimia Nurul Istinaroh, A.Md., S.P., analis laboratorium mikrobiologi Lilis Lestari, A.Md., analis laboratorium farmakologi Lilik Maslian, A.Md., dan analis laboratorium patologi klinik Sony Kristantiningrum, A.Md., yang telah memberikan ijin, bimbingan, dan bantuan selama penelitian;
6. para staf dan civitas akademika di Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang telah memberikan banyak bantuan selama pendidikan;
7. orang tua saya, ayah Paulus Sih Sabdo dan ibu Tirza Nur Setiyati atas dukungan doa, kasih sayang, motivasi, serta pengorbanan yang tulus diberikan;
8. adik saya, Kayleen Fellina yang selalu memberi dukungan doa dan semangat;
9. kakek dan nenek saya yang selalu memberi dukungan doa dan semangat;

10. sahabat-sahabat saya, Anang, Nesya, Bella, Adiz, Lina, dan Debo yang selalu memberi dukungan dan semangat selama mengerjakan skripsi ini;
11. teman-teman gereja saya, Aruni, Grace, Acer, Ratih, dan Risti, yang selalu mendukung dalam doa;
12. teman-teman yang kuliah saya, Sus, Bagas, Rafi, Kiki, Annisa, Hesti, Nay, Danang, dan Bakda atas bantuan yang diberikan selama penelitian;
13. teman-teman angkatan 2016 (LIGAMEN) Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang sedang bersama-sama berjuang untuk mendapatkan gelar sarjana kedokteran;
14. semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna dan menerima segala kritik serta saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca dan khususnya untuk perkembangan Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Jember, Agustus 2020

Penulis

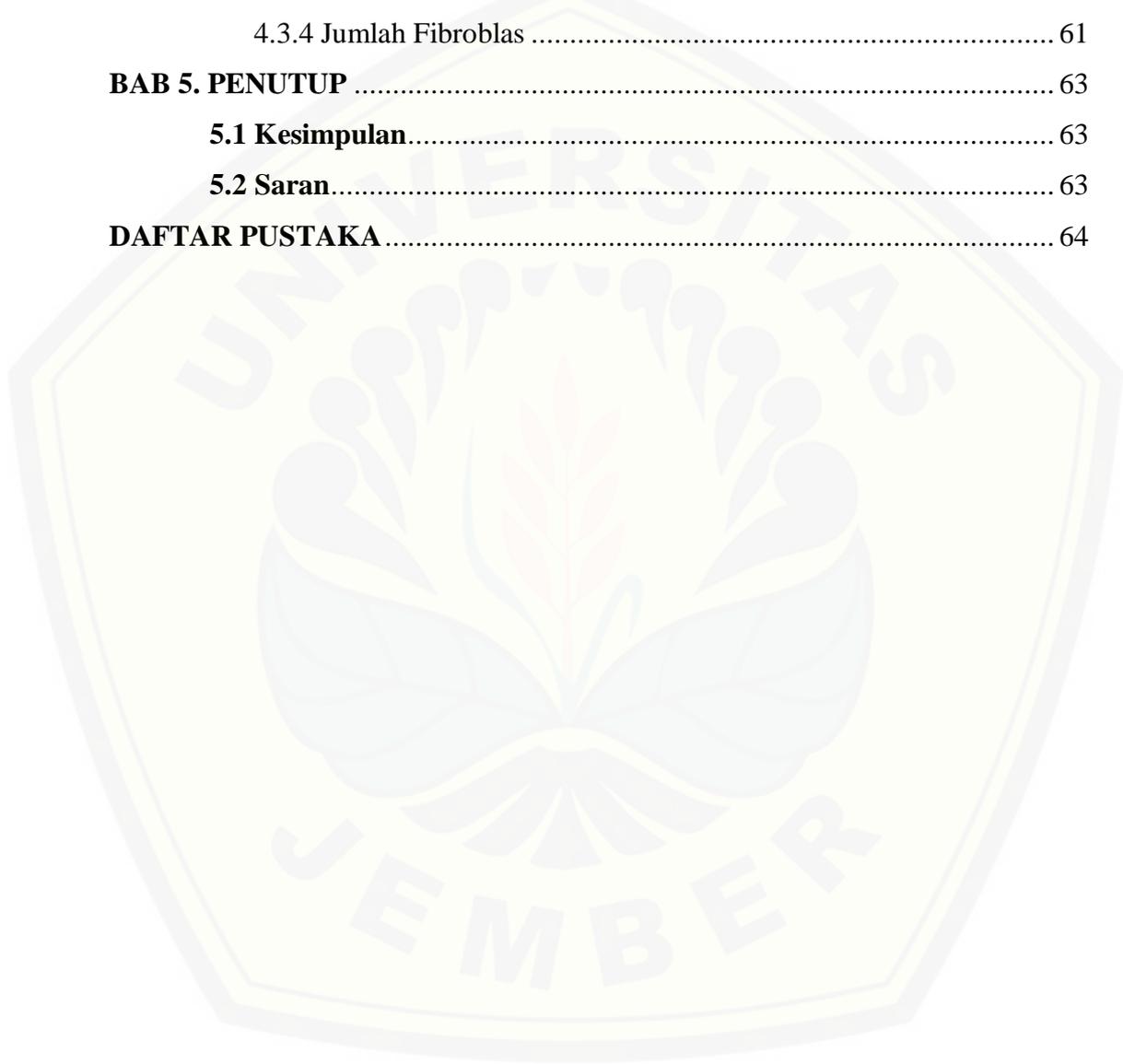
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.3.1 Tujuan Umum	2
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Luka Infeksi	4
2.2 Proses Penyembuhan Luka dan Mikrobiologi Luka Kulit	5
2.3 Terapi Luka Infeksi	8
2.3.1 <i>Dressing</i>	8
2.4 <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>S.aureus</i>) Sebagai Infeksi Nosokomial ..	11
2.4.1 Klasifikasi Ilmiah <i>S. aureus</i>	12

2.4.2	Morfologi <i>S. aureus</i>	12
2.4.3	Struktur Antigen <i>S. aureus</i>	13
2.4.4	Enzim dan Toksin	14
2.4.5	Penyakit yang disebabkan <i>S. aureus</i>	15
2.5	Kakao (<i>Theobroma cacao</i>)	16
2.5.1	Morfologi Buah Kakao	17
2.5.2	Kandungan Biji Kakao	18
2.5.3	Polifenol Kakao	19
2.6	Antimikroba	22
2.6.1	Mekanisme Kerja	22
2.6.2	Mupirosin	24
2.7	Ekstraksi	24
2.8	Krim	25
2.9	Protein Albumin Ikan Gabus (<i>Channa striata</i>)	26
2.10	Nanopartikel	27
2.11	Kolagen	28
2.12	Fibroblas	29
2.13	Kerangka Konseptual Penelitian	31
2.14	Hipotesis Penelitian	32
BAB 3.	METODE PENELITIAN	33
3.1	Jenis Penelitian	33
3.2	Rancangan Penelitian	33
3.3	Unit Eksperimental dan Sampel Penelitian	34
3.3.1	Unit Eksperimental	34
3.3.2	Sampel Penelitian	34
3.4	Jenis dan Sumber Data	35
3.4.1	Jenis Data	35
3.4.2	Sumber Data	35
3.5	Tempat dan Waktu Penelitian	36
3.5.1	Tempat Penelitian	36
3.5.2	Waktu Penelitian	36

3.6 Variabel Penelitian	36
3.6.1 Variabel Bebas	36
3.6.2 Variabel Terikat.....	36
3.7 Definisi Operasional	36
3.8 Instrumen Penelitian	37
3.8.1 Alat	37
3.8.2 Bahan	39
3.9 Prosedur Penelitian	40
3.9.1 Pemilihan Hewan Coba	40
3.9.2 Penyiapan Hewan Coba	40
3.9.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Kakao	40
3.9.4 Pembuatan Serbuk Albumin Ikan Gabus	41
3.9.5 Pembuatan Larutan 0,5 <i>Mc Farland</i>	41
3.9.6 Pembuatan Suspensi <i>S. aureus</i>	41
3.9.7 Pembuatan <i>Vanishing Cream</i> Ekstrak Etanol Biji Kakao	42
3.9.8 Tahap Perlakuan	43
3.9.9 Tahap Pengamatan Makroskopis.....	43
3.9.10 Tahap Pembuatan Preparat Histo PA Kulit Tikus	44
3.9.11 Tahap Pemusnahan Hewan Coba	45
3.10 Analisis Data	46
3.11 Alur Penelitian	47
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	48
4.1 Hasil Penelitian	48
4.1.1 Persentase Penyembuhan Luka Infeksi	48
4.1.2 Skor Penyembuhan Luka Infeksi	51
4.1.3 Skor Kepadatan Serabut Kolagen	51
4.1.4 Jumlah Fibroblas	53
4.2 Hasil Analisis Data	54
4.2.1 Persentase Penyembuhan Luka Infeksi	54
4.2.2 Skor Penyembuhan Luka Infeksi	55
4.2.3 Skor Kepadatan Serabut Kolagen.....	56

4.2.4 Jumlah Fibroblas	56
4.3 Pembahasan.....	57
4.3.1 Persentase Penyembuhan Luka Infeksi	58
4.3.2 Skor Penyembuhan Luka Infeksi	59
4.3.3 Skor Kepadatan Serabut Kolagen	60
4.3.4 Jumlah Fibroblas	61
BAB 5. PENUTUP	63
5.1 Kesimpulan.....	63
5.2 Saran.....	63
DAFTAR PUSTAKA.....	64



DAFTAR TABEL

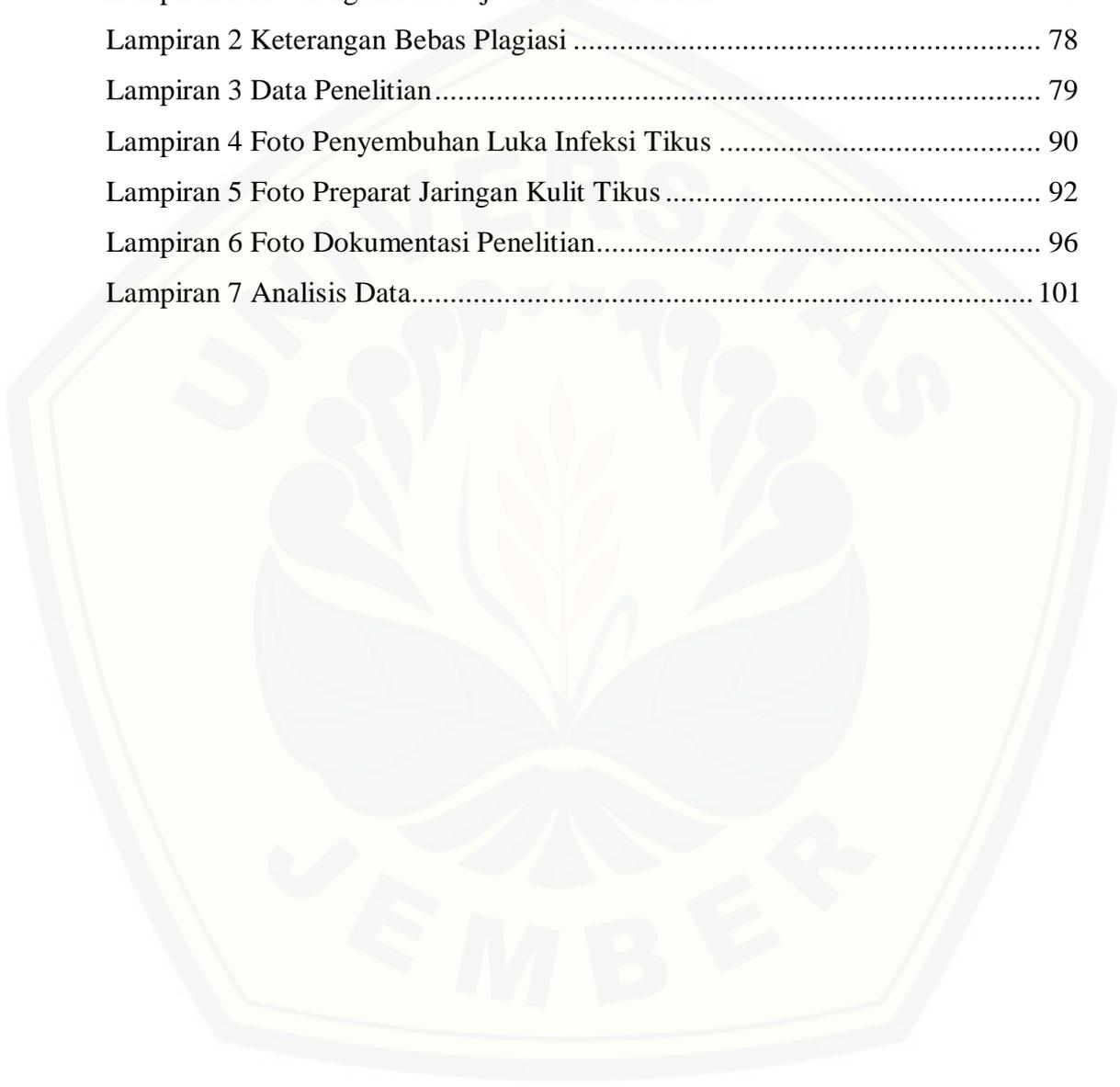
	Halaman
2.1 Tipe <i> dressing</i> luka.....	9
2.2 Klasifikasi ilmiah <i>S. aureus</i>	12
2.3 Klasifikasi ilmiah kakao.....	16
2.4 Komposisi kimia biji kakao.....	18
3.1 Definisi operasional	37
3.2 <i>Vancouver scar score</i>	44
4.1 Hasil Uji <i>Mann-Whitney Vancouver scar score</i>	55
4.2 Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i> kepadatan serabut kolagen.....	56
4.3 Hasil Uji <i>Bonferroni</i> jumlah fibroblas	57

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Proses penyembuhan luka	7
2.1 Proses infeksi pada luka oleh mikroorganismenya	8
2.2 Gambaran <i>S. aureus</i> pewarnaan Gram	13
2.3 <i>Theobroma cacao</i>	16
2.4 Bagian Buah Kakao	18
2.5 Biji Buah Kakao	19
2.6 Struktur kimia Flavone	20
2.7 Struktur kimia Katekin	21
2.8 Struktur kimia Tanin	22
2.9 Polifenol dalam Biji Kakao	25
2.10 Kolagen kulit tikus	29
2.11 Penampang sel fibroblas	30
2.12 Skema kerangka konseptual penelitian	31
3.1 Skema rancangan penelitian	33
3.2 Rumus penyembuhan luka	44
3.3 Skema alur penelitian	47
4.1 Pengukuran panjang luka infeksi Tikus hari ke-7	49
4.2 Histogram rerata persentase penyembuhan luka selama 4 hari	50
4.3 Histogram rerata persentase penyembuhan luka selama 7 hari	50
4.4 Histogram rerata skor kepadatan serabut kolagen hari ke-7	51
4.5 Gambaran histologi serabut kolagen hari ke-7	52
4.6 Histogram rerata jumlah fibroblas hari ke-7	53
4.7 Gambaran histologi jumlah fibroblas hari ke-7	54

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Keterangan Persetujuan Etik Penelitian	75
Lampiran 2 Keterangan Bebas Plagiasi	78
Lampiran 3 Data Penelitian.....	79
Lampiran 4 Foto Penyembuhan Luka Infeksi Tikus	90
Lampiran 5 Foto Preparat Jaringan Kulit Tikus	92
Lampiran 6 Foto Dokumentasi Penelitian.....	96
Lampiran 7 Analisis Data.....	101



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infeksi nosokomial adalah infeksi yang terjadi pada pasien pada saat mendapatkan perawatan di rumah sakit atau fasilitas kesehatan lainnya (Khan *et al.*, 2017). Menurut *World Health Organization* (WHO) prevalensi infeksi nosokomial di dunia tahun 2018 mencapai angka sebesar 9%, sedangkan di Indonesia prevalensi infeksi ini pada tahun 2011 mencapai angka 7,1%. Salah satu penyebab tingginya prevalensi infeksi nosokomial di Indonesia disebabkan oleh meningkatnya jumlah tindakan operasi dari tahun 2011 sebanyak 140 juta menjadi 148 juta pasien pada tahun 2012 (Ningrum *et al.*, 2017). Berdasarkan data ini, dilaporkan bahwa infeksi luka operasi (ILO) juga ikut meningkat, dimana ILO termasuk dalam kategori infeksi nosokomial. Menurut Khan (2017), *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri penyebab utama dari ILO. Bakteri ini masih efektif ditangani oleh antibiotik mupirosin dengan penggunaan sesuai prinsip 5T (tepat pasien, tepat waktu, tepat obat, tepat rute, dan tepat dosis). Namun, pada tahun 2011, Suhariyanto melaporkan bahwa adanya resistensi antibiotik mupirosin oleh bakteri *methicillin resistant S. aureus* (MRSA), selain itu tidak semua kalangan masyarakat dapat menjangkau harga antibiotik ini, oleh sebab itu perlu ditemukan bahan alternatif lain sebagai terapi infeksi bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kakao merupakan tumbuhan yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Kandungan polifenol kakao diketahui berkisar antara 12-18% dari berat biji kering, lebih tinggi dibandingkan teh hijau, teh hitam, dan anggur (Hafidhah *et al.*, 2017; Lee *et al.*, 2003). Kelompok polifenol utama dalam kakao adalah flavonoid, katekin, epikatekin, tanin, antosianin, dan prosianidin. Flavonoid bersifat bakterisidal dengan cara menghambat proses sintesis asam nukleat, merusak membran sitoplasma, dan menghambat proses metabolisme energi bakteri (Cushnie dan Lam, 2005). Katekin bekerja sebagai bakterisidal dengan merusak *lipid bilayer* membran bakteri (Rustanti *et al.*, 2013). Tanin mampu mengkerutkan membran sel bakteri sehingga mempengaruhi permeabilitas membran tersebut dan menghambat

kerja dari enzim mikroba (Akiyama *et al.*, 2001). Penelitian Syamsuddin (2013) membuktikan adanya aktivitas antibakteri dari krim ekstrak etanol biji kakao secara *in vivo* dengan konsentrasi 2%, 4%, dan 8%. Walaupun demikian, pemberian ekstrak biji kakao saja tidak menjamin tertutupnya luka infeksi dengan cepat.

Selain pemberian antibiotik, pemberian protein juga dapat membantu dalam mempercepat proses penyembuhan luka. Salah satu jenis protein yang diketahui mampu membantu proses tersebut yaitu albumin. Albumin memiliki peran dalam menentukan tekanan osmotik darah sekitar 75-80% dan mampu mengangkut faktor yang membantu proses penyembuhan luka yaitu kalsium dan *zinc*. Selain itu, albumin juga mengandung beberapa jenis asam amino yang dapat membantu proses penyembuhan luka. Ikan gabus merupakan sumber protein albumin yang mudah didapat dan harganya terjangkau. Ikan gabus mengandung 25,5% protein dengan albumin berkisar 6,22% di dalamnya (Fitriyani, 2013). Pada penelitian yang dilakukan oleh Suprayitno (2009) didapatkan hasil penutupan luka tikus putih yang diberi taburan serbuk ikan gabus secara langsung lebih cepat menutup dibandingkan dengan pemberian melalui sonde dan oles. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas kombinasi ekstrak etanol biji kakao dan albumin ikan gabus terhadap penyembuhan luka infeksi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

Apakah pemberian kombinasi ekstrak etanol biji kakao dan albumin ikan gabus lebih efektif dibandingkan dengan pemberian terapi tunggal ekstrak etanol biji kakao serta albumin ikan gabus terhadap penyembuhan luka infeksi oleh *S. aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Berdasarkan uraian di atas, maka tujuan umum penelitian adalah untuk mengetahui efektivitas pemberian kombinasi ekstrak etanol biji kakao dan albumin ikan gabus dibandingkan dengan pemberian terapi tunggal ekstrak etanol biji kakao serta albumin ikan gabus terhadap penyembuhan luka infeksi oleh *S. aureus*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Mengetahui efek tunggal sediaan krim ekstrak etanol biji kakao dan serbuk albumin ikan gabus terhadap luka infeksi *S. aureus*.
- b. Mengetahui efek kombinasi sediaan krim ekstrak etanol biji kakao dan serbuk albumin ikan gabus terhadap luka infeksi *S. aureus*.
- c. Mengetahui perbedaan efektivitas antara sediaan krim ekstrak etanol biji kakao dan serbuk albumin ikan gabus dengan target penyembuhan yang berbeda terhadap luka infeksi *S. aureus*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Bagi institusi, sebagai referensi ilmiah atau tinjauan pustaka untuk penelitian lebih lanjut.
- b. Bagi ilmu pengetahuan, memberikan sumbangan informasi terkait bahan penyembuh luka (*wound healing*) alternatif baru yang berhubungan dengan pemanfaatan ekstrak etanol biji kakao dan albumin ikan gabus terhadap luka infeksi *S. aureus*.
- c. Bagi peneliti, memperluas wawasan mengenai zat-zat penyembuh luka (*wound healing*) yang ada di alam.
- d. Bagi ilmu kedokteran bidang biokimia, farmakologi, dan mikrobiologi, memberikan informasi bahwa ekstrak etanol biji kakao dan albumin ikan gabus dapat digunakan sebagai bahan penyembuh luka (*wound healing*) infeksi oleh *S. aureus*.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Luka Infeksi

Luka infeksi adalah kerusakan integritas kulit dan mikroorganisme berkembang pada celah tersebut (Brown, 2018). Berdasarkan kontaminasinya, luka infeksi dapat dibedakan menjadi empat (Abdurrahmat, 2014; Oktaviani *et al.*, 2019):

a. Luka Bersih (*Clean Wounds*)

Luka bersih yaitu luka bedah tidak terinfeksi, tidak terjadi proses inflamasi, tidak terjadi kontak dengan sistem pernafasan, pencernaan, genital, dan urinaria. Kemungkinan terjadi infeksi pada luka ini antara 1-5%, biasanya sembuh dengan cepat dan meninggalkan bekas berupa sutura.

b. Luka Bersih Terkontaminasi (*Clean-contaminated Wounds*)

Luka bersih terkontaminasi yaitu luka bedah yang berkontak dengan saluran respirasi, pencernaan, dan genital dalam kondisi terkontrol. Potensi kontaminasi yang disebabkan oleh flora normal dapat terjadi atau tidak. Kemungkinan terjadi infeksi pada luka ini antara 3-11%.

c. Luka Terkontaminasi (*Contaminated Wounds*)

Luka terkontaminasi yaitu luka terbuka akibat kecelakaan dan operasi dengan kerusakan besar serta teknik aseptik atau terkontaminasi dari saluran cerna. Insisi akut dan luka dengan inflamasi non-purulen termasuk dalam jenis luka ini. Kemungkinan terjadi infeksi pada luka ini antara 10-17%.

d. Luka Kotor atau infeksi (*Dirty Wounds*)

Luka kotor yaitu luka yang terjadi pada lingkungan yang telah terkontaminasi bakteri atau tindakan operasi di ruangan yang tidak steril contohnya operasi darurat di lapangan. Kemungkinan terjadi infeksi pada luka ini lebih dari 27%.

Menurut Marjianto (2013), luka dapat dibagi menjadi empat berdasarkan kedalaman dan luasnya:

a. Stadium I (Superfisial atau *Non-Blanching Erythema*)

Luka superfisial yaitu luka sedalam lapisan epidermis kulit.

b. Stadium II (*Partial Thickness*)

Luka *partial thickness* yaitu luka sedalam lapisan epidermis dan mencapai bagian atas dermis. Terlihat seperti luka superfisial disertai tanda klinis lain berupa abrasi dan blister atau lubang dangkal.

c. Stadium III (*Full Thickness*)

Luka *full thickness* stadium III yaitu hilangnya kulit keseluruhan meliputi kerusakan atau nekrosis jaringan subkutan yang dapat meluas sampai bawah tetapi tidak melewati jaringan yang mendasarinya. Luka ini meliputi lapisan epidermis, dermis, dan fasia tetapi tidak mengenai lapisan otot. Tanda klinis luka ini berupa lubang yang dalam dengan atau tanpa merusak jaringan sekitarnya.

d. Stadium IV (*Full Thickness*)

Luka *full thickness* stadium IV yaitu luka yang telah mencapai kedalaman lapisan otot, tendon, dan tulang, disertai adanya destruksi atau kerusakan yang luas.

2.2 Proses Penyembuhan Luka dan Mikrobiologi Luka Kulit

Kulit merupakan organ pelindung dari serangan mekanis, agen kimia dan biologi, serta radiasi ultraviolet. Kulit juga melindungi tubuh dari kehilangan air yang berlebih, memberi hidrasi, dan sebagai pengatur suhu tubuh. Kulit memiliki tiga lapisan histologi yaitu, epidermis, dermis, dan subkutan atau hipodermis (Negut *et al.*, 2018). Penyembuhan luka merupakan proses biologi yang secara normal terjadi pada semua jaringan melalui empat fase yaitu inflamasi akut, destruksi, proliferasi, dan maturasi (Morison, 2004; Primadina *et al.*, 2019):

a. Respon inflamasi akut terhadap cedera (durasi 0-3 hari)

Fase ini mencakup hemostasis, yaitu vasokonstriksi sementara dari pembuluh darah yang rusak, hal ini terjadi pada saat sumbatan trombosit dibentuk dan diperkuat oleh serabut fibrin sehingga membentuk sebuah bekuan. Respon jaringan yang rusak dan sel mast melepaskan histamin dan mediator lain, proses ini menyebabkan vasodilatasi dari pembuluh darah sekeliling yang masih utuh serta meningkatnya suplai darah ke daerah tersebut sehingga menjadi merah dan hangat. Permeabilitas kapiler darah meningkat dan cairan yang kaya protein mengalir ke interstisial menyebabkan oedema lokal.

Trombosit pada bekuan yang mengalami degranulasi kemudian mensekresi faktor inflamasi dan pertumbuhan. Mediator tersebut diantaranya *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β), *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF), *Interleukin-1* (IL-1), *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1), *Epidermal Growth Factor* (EGF), *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF). Aktivitas yang terjadi pada respon inflamasi akut ini merupakan respon langsung dari tubuh terhadap cedera atau kematian sel yang secara makroskopik digambarkan sebagai karakteristik atau tanda-tanda pokok dari peradangan akut yaitu kemerahan, panas, nyeri dan pembengkakan.

b. Fase destruktif (durasi 1-6 hari)

Setelah hemostasis tercapai, kemudian terjadi proses pembersihan jaringan mati dan bakteri oleh polimorf serta makrofag yang menginvasi sel radang. Polimorf dan makrofag bekerja dengan cara menelan dan menghancurkan bakteri yang dibantu dengan sekresi sitokin proinflamasi yaitu *Tumor Necrotic Factor- α* (TNF- α), *Interleukin-1 β* (IL-1 β), serta *Interleukin-6* (IL-6), selain itu juga mensekresi protease yang berfungsi untuk mendegradasi *matrix extracellular* (ECM).

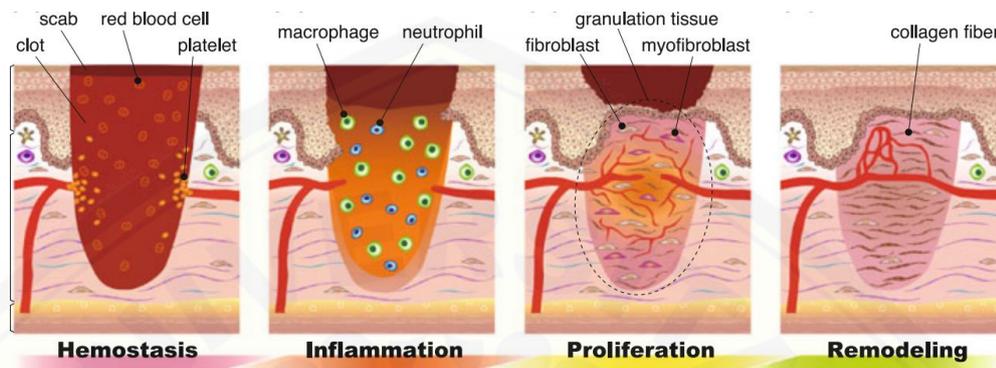
c. Fase proliferasi (durasi 3-24 hari)

Terjadi ketika fibroblas meletakkan substansi dasar dan serabut kolagen, pembuluh darah baru mulai menginfiltrasi luka (angiogenesis) dibantu oleh sitokin yang diproduksi sel endotel pembuluh darah yaitu *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), angiopoetin, *Fibroblast Growth Factor* (FGF), dan TGF- β , terjadinya pembentukan jaringan granulasi, serta re-epitelisasi. Saat fase ini tanda-tanda inflamasi mulai berkurang.

d. Fase maturasi (durasi 24-365 hari)

Meliputi re-epitelisasi, rekonstruksi luka, dan reorganisasi jaringan ikat. Dalam setiap cedera yang mengakibatkan hilangnya kulit, sel epitel pada pinggir luka dan folikel rambut yang tersisa akan membelah kemudian bermigrasi di atas jaringan granula baru. Fibroblas, makrofag, dan sel endotel mensekresi *Matrix Metalloproteinase* (MMP) mengganti kolagen tipe III yang terbantuk ketika fase proliferasi menjadi kolagen tipe I yang lebih kuat. Keseimbangan sintesis dan

degradasi kolagen serta ECM juga dilakukan, kolagen yang berlebihan akan didegradasi oleh kolagenase kemudian diserap. Gambaran fase proses penyembuhan luka dapat dilihat pada Gambar 2.1 di bawah ini.



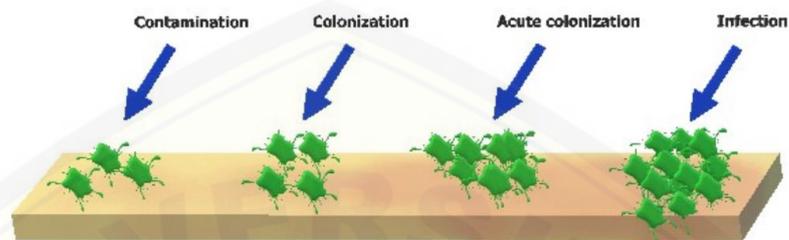
Gambar 2.1 Proses penyembuhan luka (Sumber: Kawasumi *et al.*, 2012)

Luka dapat diklasifikasikan menjadi luka akut dan kronik. Luka akut sembuh melalui fase normal penyembuhan luka, sedangkan luka kronik membutuhkan waktu yang lebih. Penyembuhan dengan waktu yang lebih panjang ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu peranan mediator inflamasi, infeksi luka, hipoksia, kekurangan nutrisi, umur pasien, dan penyakit penyerta seperti diabetes.

Keberagaman mikrobiota kulit dan lingkungan mikro pada kulit (kering, lembab, dan berkeringat) dapat mempengaruhi proses penyembuhan luka dan dapat mengakibatkan infeksi. Ada empat filum bakteri pada kulit yaitu *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Firmicutes*, dan *Bakteroidetes* yang dapat membentuk biofilm dan mengambil bagian dalam infeksi kulit. Flora normal pada kulit dapat masuk ke jaringan dasar yang lembab, hangat, dan kaya nutrisi pertumbuhan setelah terjadi kerusakan kulit. Ketika proses penyembuhan luka tertunda, mikroorganisme normal tersebut dapat berkembang menjadi lebih agresif. Oleh sebab itu, luka terbuka menjadi tempat yang baik untuk mikroorganisme berproliferasi dan berkolonisasi.

Pada fase awal dari konstruksi luka kronik, bakteri gram positif yang paling banyak muncul yaitu *S. aureus*. Pada fase lanjutan, bakteri gram negatif seperti *Escherichia coli* dan *Pseudomonas sp.* akan muncul dan masuk ke lapisan kulit lebih dalam. Infeksi pada luka dimulai dengan kontaminasi mikroorganisme pada

fase akut kemudian dilanjutkan kolonisasi dan mengakibatkan luka infeksi. Proses infeksi yang dilakukan oleh mikroorganisme tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Proses infeksi pada luka oleh mikroorganisme (Sumber: Negut *et al.*, 2018)

Kontaminasi dan kolonisasi pada luka menginisiasi respon imun, menyebabkan nyeri dan memicu reaksi inflamasi. Invasi mikroorganisme pada jaringan yang sehat mengakibatkan reaksi lokal dan sistemik seperti timbulnya pus, kemerahan, atau selulitis simptomatik. Perkembangan dari mikroorganisme dapat menghambat penutupan luka dan memperpanjang fase inflamasi.

S. aureus dan *P. aeruginosa* sering ditemukan tumbuh bersama pada luka kronik. Bakteri patogen yang menginvasi luka dapat bersatu, membentuk biofilm atau suatu masa mikrobial yang dikelilingi oleh lingkungan polimerik sehingga dapat terhindar dari aktivitas antibiotik dan efektor penjamu. Biofilm tersebut menjadi obstruksi fisik penyembuhan luka sehingga fase normal inflamasi menjadi panjang. *E. coli* dan *S. aureus* juga dapat menghasilkan suatu asam lemak yang dapat menghalangi kemotaksis dari neutrophil dan fagositosis.

2.3 Terapi Luka Infeksi

Ada beberapa terapi untuk pengobatan luka infeksi, diantaranya:

2.3.1 Dressing

Seiring dengan perkembangan bentuk *dressing*, *dressing* luka tradisional berupa *bandage* dari kapas dan benang yang pasif terhadap penyembuhan luka digantikan dengan *dressing* yang menyediakan bahan aktif untuk membantu proses

penyembuhan luka. Kombinasi bahan alami dan sintetis digunakan untuk formulasi *dressing* modern seperti spons, hidrogel, film, hidrokoloid, serta hidrofiber.

Sifat *dressing* yang baik ketika kontak dengan luka harus menjaga kelembaban, menyerap cairan, menjaga temperatur jaringan untuk meningkatkan aliran darah pada luka, biokompatibel, semipermeabel dengan air dan oksigen, meningkatkan proses pembaharuan jaringan, hipoalergik dan tidak memicu respon imun, tidak menyebabkan trauma ketika dilepas, serta harganya terjangkau. Berdasarkan cara kerjanya, *dressing* luka dibagi menjadi tiga kelompok dengan perbedaan dapat dilihat pada Tabel 2.1 (Negut *et al.*, 2018).

Tabel 2.1 Tipe *dressing* luka

Tipe dressing	Formulasi	Kelebihan dan kekurangan	Produk komersial
Inert atau pasif	Gauzes	Kelebihan: menjaga kelembaban, spons dapat diaplikasikan pada luka nanah Kekurangan: lengket, tidak cocok untuk luka bakar derajat III atau luka kering	Multisorb, Urgotul, SSD, Curity, Vaseline Gauze, Xeroform
	Hidrokoloid	Kelebihan: semipermeabel, dapat diaplikasikan pada luka eksudat, tidak menimbulkan rasa sakit (disarankan untuk anak-anak) Kekurangan: dapat menimbulkan bau, kekuatan mekanis rendah	douDERM, Granuflex, Comfeel, Tegisorb
	Alginat	Kelebihan: sangat menyerap cairan, cocok untuk luka eksudat dan <i>slough</i> Kekurangan: dapat menyebabkan kekeringan dan keropeng pada luka eksudat ringan, harus diganti setiap hari	Kaltostat, Algisite, Sorbsan, Tegagen, SeaSorb, PolyMem
Bioaktif	Kolagen	Kelebihan: menyerab eksudat, menjaga kelembaban, mudah diaplikasikan, non-imunogenik, non-porogenik Kekurangan: tidak disarankan untuk luka dengan nekrosis, luka bakar derajat III, memerlukan <i>dressing</i> kedua	Puracol Plus, Triple, Helix Collagen, Cutimed Epiona Sterile, BIOSTEP
	Hidrofiber	Kelebihan: menyerap eksudat, menjaga kelembaban pada luka dalam, mengurangi resiko maserasi Kekurangan: dapat menyebabkan pembengkakan apabila penyerapan berlebihan, distensi, dan berkurangnya adesi daerah luka	Aquacel
	Hidrogel	Kelebihan: menghidrasi luka kering, mudah diganti, menyerap air, menjaga kelembaban, tidak mengiritasi, tidak reaktif dengan jaringan biologik Kekurangan: dapat menyebabkan hidrasi berlebihan, kekuatan mekanis rendah, harus menggunakan <i>dressing</i> kedua	Carrasyn, Curagel, Nu-Gel, Purilon, Restore, SAF-gel, XCELL

Lanjutan tabel 2.1 halaman sebelumnya

Interaktif	Film semipermeabel	Kelebihan: semipermeabel, elastis, dapat mengikuti kontur luka, transparan sehingga dapat memeriksa luka, Kekurangan: sering hnya untuk luka superfisial dengan sedikit eksudat dan luka epitelisasi, sebagai lapisan tambahn hidrogel dan foam	Opsite, Tegaderm, Bioocclusive, Polyskin
	Foam semipemeabel	Kelebihan: lembut, hidrofobik, dapat menyerap eksudat jumlah besar Kekurangan: dapat menyebabkan kekeringan dan keropeng	Allevyn

(Sumber: Negut *et al.*, 2018)

2.3.2 Agen Antibakteri pada *Dressing* Luka

a. Antibiotik

Ada banyak antibiotik yang diketahui efektif dalam melawan infeksi mikroorganisme, namun hanya golongan quinolon, tetrasiklin, aminoglikosida, dan sefalosporin telah diaplikasikan sebagai agen antimikrobia pada *dressing* luka. Antibiotik tersebut bekerja melalui empat cara yaitu menghambat sintesis dinding bakteri, menghambat metabolisme, menginterferensi sintesis protein, dan menghambat sintesis asam nukleat. Penggunaan antibiotik secara berulang dan tidak benar menyebabkan resistensi bakteri. Menurut penelitian dari 470 sampel sekresi luka infeksi yang diidentifikasi bakterinya, strain yang tahan terhadap aplikasi antibiotik yaitu *S. Aureus* dan *P. Aeruginosa* (Negut *et al.*, 2018).

b. Antimikroba Alami untuk Luka Infeksi

Akibat toleransi antibiotik oleh beberapa strain bakteri, banyak penelitian yang dilakukan untuk menemukan bahan alami dari tumbuhan atau hewan. Banyak agen alami dari sumber tersebut dilaporkan memiliki aktivitas melawan mikroba diantaranya:

1) Minyak esensial

Minyak esensial adalah hasil metabolisme sekunder dari tumbuhan yang memiliki sifat antioksidan, antiinflamasi, antialergi, antivirus, antimikroba, dan regeneratif. Aktivitas antimikroba minyak esensial berasal dari bahan aktif yang berbeda-beda bergantung dari prosedur ekstraksi dan sumbernya.

2) Madu

Madu telah banyak dimanfaatkan dalam beberapa dekade sebagai agen penyembuh alami untuk penyakit kardiovaskular, gastrointestinal, infeksi saluran nafas atas, demikian juga pada luka infeksi. pH asam madu mendorong makrofag untuk membasmi bakteri dan menghambat pembentukan biofilm, komposisi kimianya memiliki tekanan osmolaritas tinggi yang dapat menghalangi perkembangan mikroba, komponen hidrogen peroksida di dalamnya dapat memicu kerusakan oksidatif bakteri patogen, bereaksi dengan dinding sel, lapisan lipid, protein, dan asam nukleat sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

3) Nanopartikel

Nanopartikel dapat menggantikan antibiotik karena aktivitasnya dalam melawan patogen dengan tidak mengakibatkan resisten mikroba. Saat nanopartikel kontak dengan dinding sel bakteri, muatan negatif dari permukaan bakteri menarik nanopartikel yang bermuatan positif sehingga membentuk interaksi reseptor-ligan dan absorbtivitas dinding sel diubah karena adanya pembentukan lubang pada permukaan bakteri. Nanopartikel juga dapat menembus dinding sel, mempengaruhi jalur metabolisme, mengganggu mitokondria, memodifikasi pH dan gangguan muatan permukaan membran sehingga mempengaruhi pompa pengeluaran proton.

2.4 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) Sebagai Infeksi Nosokomial

Infeksi nosokomial adalah infeksi pada pasien yang sebelumnya tidak menderita infeksi dan tidak dalam masa inkubasi infeksi namun muncul di rumah sakit (Nurseha, 2013). Salah satu bentuk infeksi nosokomial yaitu Luka Operasi (ILO) atau *Surgical Site Infection* (SSI) yang dapat mengakibatkan kematian sebesar 3-75% di rumah sakit di seluruh dunia (Agustina dan Syahrul, 2017). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri penyebab utama dari kejadian ILO (Khan *et al.*, 2017).

2.4.1 Klasifikasi Ilmiah *S. aureus*

Pemberian nama atau taksonomi bakteri golongan *Staphylococcus* dilakukan dengan sistem binomial. Penamaan ini berfungsi untuk memudahkan klasifikasi identifikasi secara internasional. Klasifikasi *S. Aureus* dijelaskan pada Tabel 2.2 sebagai berikut.

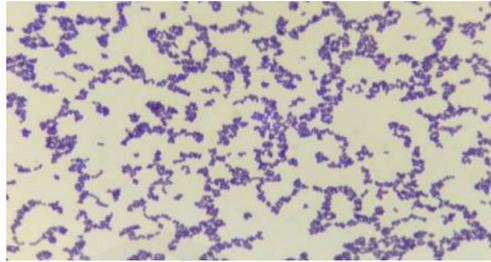
Tabel 2.2 Klasifikasi ilmiah *S. aureus*

<i>Staphylococcus aureus</i> (<i>S. aureus</i>)	
Kingdom	Procaryota
Divisi	Firmicutes
Class	Bacilli
Ordo	Bacillales
Family	Staphylococcaceae
Genus	Staphylococcus
Spesies	<i>Staphylococcus aureus</i>

(Sumber: Shodikin *et al.*, 2006; Vasanthakumari, 2007)

2.4.2 Morfologi *S. aureus*

S. aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk *coccus* atau bulat. Bakteri ini termasuk bakteri *non-motil* dan *non-spora*, beberapa strain yang termasuk didalamnya memiliki kapsul (Brooks *et al.*, 2013; Murray *et al.*, 2013). *S. aureus* memiliki diameter 0,5-1,5 μm , dapat hidup di berbagai kondisi (aerob atau anaerob dengan konsentrasi garam tinggi contohnya dalam 10% larutan sodium klorida) dengan temperatur 18-40°C. Koloni bakteri ini umumnya berbentuk susunan gerombol seperti anggur, namun dapat juga terlihat sebagai sel tunggal, berpasangan, atau rantai pendek (Murray *et all.*, 2013). Susunan bakteri yang bergerombol tersebut disebabkan karena pembelahan sel-sel anak yang cenderung tetap berada di dekat sel induknya (Juliantina, 2009). Gambaran *S. aureus* dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Gambaran *S. aureus* pewarnaan Gram dalam mikroskop perbesaran 1000x (Sumber: Riski *et al.*, 2017)

2.4.3 Struktur Antigen *S. aureus*

Lapisan terluar dari dinding *Staphylococcus* adalah kapsul polisakarida dan lapisan lendir. Kapsul polisakarida berfungsi sebagai pelindung bakteri dengan cara menghambat fagositosis yang dilakukan oleh *polymorphonuclear* (PMN) leukosit pada organisme, sedangkan lapisan lendir berfungsi sebagai pertahanan bakteri dengan mengikat bakteri ke jaringan dan benda asing, contohnya kateter (Murray *et al.*, 2013).

Setengah dari dinding sel bakteri *Staphylococcus* terdiri dari peptidoglikan (Murray *et al.*, 2013). Peptidoglikan merupakan suatu polimer polisakarida yang mengandung subunit-subunit yang bergabung memberikan eksoskeleton yang kaku dari dinding sel. Peptidoglikan dirusak oleh asam kuat atau paparan lisozim. Hal ini penting dalam patogenesis infeksi (Brooks *et al.*, 2013)

Asam teikoat merupakan komponen utama dari dinding bakteri golongan *Staphylococcus* (Murray *et al.*, 2013). Asam teikoat merupakan polimer gliserol atau ribitol fosfat yang diikat ke peptidoglikan dan dapat menjadi antigenik. Antibodi anti asam teikoat yang dapat dideteksi melalui difusi gel dapat ditemukan pada pasien dengan endokarditis aktif yang disebabkan oleh *S. aureus*. (Brooks *et al.*, 2013)

Protein adhesi yang ada di permukaan terikat pada dinding peptidoglikan. (Murray *et al.*, 2013). Protein A yang termasuk ke dalam protein tersebut merupakan komponen dinding sel terbanyak dari galur *S. aureus* yang bisa mengikat sebagian Fc molekul IgC kecuali IgG3. Meskipun IgG terikat pada protein A, namun fragmen Fab tetap bisa bebas berikatan dengan antigen spesifik. Protein

A telah menjadi reagen yang penting dalam imunologi dan teknologi laboratorium diagnostik. Selain protein adhesi, sebagian besar galur *S. aureus* juga mempunyai koagulase atau faktor penggumpalan pada permukaan dinding sel. Ikatan koagulase ini secara non enzimatik pada fibrinogen menyebabkan agregasi pada bakteri (Brooks *et al.*, 2013).

Membran sitoplasma bakteri golongan *Staphylococcus* terdiri dari kompleks protein, lipid, dan sedikit karbohidrat. Membran ini berfungsi sebagai lapisan osmotik sel dan sebagai tempat untuk biosintesis enzim dan pernapasan seluler (Murray *et al.*, 2013).

2.4.4 Enzim dan Toksin

S. aureus memiliki kemampuan untuk memproduksi beberapa bahan ekstraseluler, di antaranya adalah enzim dan toksin. Kerja dari beberapa toksin berada di bawah kontrol genetik plasmid, beberapa di bawah kontrol baik kromosom maupun ekstrakromosom, dan mekanisme kontrol genetik yang lain belum ditemukan. *S. aureus* memiliki beberapa enzim dan toksin diantaranya (Brooks *et al.*, 2013; Murray *et al.*, 2013):

- a. Katalase, yaitu enzim yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Jika setetes peroksida diteteskan pada koloni bakteri yang memproduksi katalase, maka akan muncul gelembung ketika oksigen.
- b. Koagulase, yaitu protein menyerupai enzim yang mampu menggumpalkan plasma. Koagulase dapat membentuk fibrin pada permukaan *Staphylococcus*, hal ini dapat mengubah ingesti sel fagositik atau pengrusaknya dalam sel fagosit.
- c. Enzim lain meliputi hyaluronidase yang berperan sebagai faktor penyebaran, stafilokinase yang bekerja sebagai fibrinolisis tetapi lebih lambat dari streptokinase, proteinase, lipase, dan beta-lactamase.
- d. Eksotoksin merupakan toksin yang bersifat letal jika disuntikkan pada binatang, menyebabkan nekrosis pada kulit, dan berisi larutan hemolisis. Alfatoksin (hemolisin) adalah protein heterogen yang dapat melisiskan eritrosit dan

- merusak platelet serta dimungkinkan sama dengan faktor letal dan faktor dermonekrotik dari eksotoksin.
- e. Lekosidin merupakan toksin yang dapat merusak sel darah putih pada berbagai binatang.
 - f. Toksin eksofoliatif terdiri dari dua protein yang menghasilkan deskuamasi generalisata pada *Staphylococcal Scalded Skin Syndrome*. Antibodi spesifik sebagai pelindung terhadap aksi eksofoliatif dari toksin.
 - g. Toksin sindroma syok toksik (*Toxic shock syndrome toxin*) merupakan superantigen (merangsang proliferasi sel T dan pelepasan sitokin). Toksin ini menyebabkan kerusakan sel endotelial.
 - h. Enterotoksin merupakan penyebab penting pada keracunan makanan. Enterotoksin merupakan superantigen (merangsang proliferasi sel T dan pelepasan sitokin) yang merangsang pelepasan mediator inflamasi dalam sel mast, meningkatkan peristaltik usus dan kehilangan cairan, serta mual dan muntah. Toksin ini dihasilkan ketika *S. aureus* tumbuh pada makanan yang mengandung karbohidrat dan protein.

2.4.5 Penyakit yang disebabkan *S. aureus*

S. aureus dapat menyebabkan terjadinya berbagai jenis infeksi yaitu infeksi ringan pada kulit, keracunan makanan, dan infeksi sistemik. Infeksi kulit yang biasanya disebabkan oleh *S. aureus* yaitu impetigo, ektima, furunkel dan karbunkel, selulitis, folikulitis, dan abses. *S. aureus* juga sering menyebabkan keracunan makanan karena adanya enterotoksin yang dihasilkan oleh *S. aureus* yang terdapat pada makanan yang tercemar (Fatimah *et al.*, 2006).

Secara sistemik, *S. aureus* juga dapat menyebabkan infeksi pada jantung (endokarditis), infeksi pada tulang (osteomyelitis), infeksi pada darah (bakteremia), pada SSP (meningitis), dan juga pada sistem pernapasan (pneumonia). *S. aureus* juga dikenal sebagai penyebab paling sering dari *toxin mediated food poisoning*. Apabila toksin dari *S. aureus* terabsorpsi dalam jumlah yang banyak maka dapat menyebabkan manifestasi berupa *toxic shock syndrome toxin* (Murray, *et al.*, 2013; Brooks *et al.*, 2013).

2.5 Kakao (*Theobroma cacao*)

Kakao termasuk dalam jenis tanaman perkebunan dengan nilai ekonomi tinggi sebagai komoditas ekspor. Menurut Direktorat Jenderal Bina Produksi Perkebunan (2017), Indonesia termasuk dalam tiga besar negara penghasil kakao dunia bersama Ghana dan Pantai Gading.

Kakao merupakan satu-satunya dari 22 jenis marga *Theobroma*, suku *Sterculiaceae* yang dibudidayakan secara komersial oleh para petani kebun baik dari perkebunan swasta dan negara (Susanto, 1994 dan PUSLIT Kakao Indonesia, 2004). Klasifikasi tanaman kakao dijelaskan pada Table 2.3 sebagai berikut.

Tabel 2.3 Klasifikasi ilmiah Kakao

<i>Theobroma cacao</i> (<i>T. cacao</i>)	
Kingdom	Plantae
Divisi	Spermatophyta
Anak Divisi	Angiospermae
Kelas	Dicotyledoneae
Anak Kelas	Dialypetalae
Bangsa	Malvales
Suku	Sterculiaceae
Marga	<i>Theobroma</i>
Jenis	<i>Theobroma cacao</i>

(Sumber: Susanto, 1994; PUSLIT Kakao Indonesia, 2004)

Gambar 2.4 di bawah menunjukkan morfologi buah kakao mentah dan matang secara utuh yang masih belum diolah.



Gambar 2.4 *Theobroma cacao* (Sumber: PUSLIT Kakao Indonesia, 2004)

Menurut Cheesman ada tiga kelompok besar kakao yang sering dibudidayakan (PUSLIT Kakao Indonesia, 2004; Farieh, 2007):

1. *Criollo*

Criollo merupakan jenis kakao yang banyak ditemukan di Amerika Tengah dan Amerika Selatan. Jenis kakao ini menghasilkan biji kakao yang bermutu tinggi yang dikenal sebagai kakao mulia, *fine flavour cocoa*, *choiced cocoa* atau *edel cocoa*. Masa pertumbuhan dan berbuahnya tanaman lambat. Ukuran bijinya lebih besar dari jenis kakao yang lain dengan kadar lemak yang relatif rendah dan waktu fermentasi yang singkat. Buah muda umumnya berwarna merah.

2. *Forastero*

Forastero merupakan jenis kakao yang banyak ditemukan di kawasan Amazona. Jenis kakao ini menghasilkan biji kakao bermutu rendah dan dikenal kakao curah, kakao curai, atau *bulk cacao*. Masa pertumbuhan dan berbuahnya tanaman cepat serta lebih tahan terhadap serangan hama, namun masa fermentasi kakao jenis ini lebih lama. Buahnya berwarna hijau khususnya yang berasal dari Amazona sedangkan daerah lain berwarna merah.

3. *Trinitario*

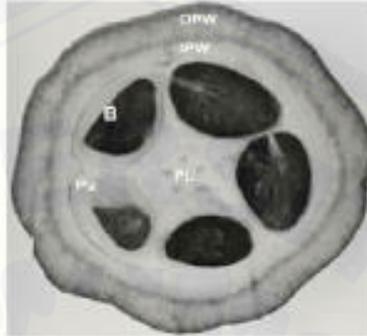
Jenis ini merupakan hasil persilangan dari kakao jenis *Criollo* dan *Forastero*. *Trinitario* memiliki sifat morfologi dan fisiologis yang beragam, demikian juga daya dan mutu hasilnya.

Jenis kakao yang dibudidayakan di Jember yaitu kakao mulia atau *Criollo* dengan tipe DR 1, DR 2, DR 38, ICCRI 03, ICCRI 04, dan ICCRI 07 serta kakao lindak atau *bulk cacao* yang berasal dari *Forastero* dan *Trinitario* dengan tipe MCC 01, MCC 02, Sulawesi 01, dan Sulawesi 02 yang lebih direkomendasikan karena produksinya tinggi, tahan terhadap serangan penyakit *vascular strike dieback* (VSD), dan tahan terhadap penggerek buah kakao (PBK). Kakao tipe MCC 01 dan MCC 02 juga tidak mudah busuk (PUSLITKOKA, 2015).

2.5.1 Morfologi Buah Kakao

Apabila buah kakao dibelah maka akan tampak seperti pada Gambar 2.5 dan bagiannya dapat diidentifikasi, yaitu *outer pod wall* (OPW) adalah bagian terluar

dari kulit kakao, *inner pod wall* (IPW) adalah bagian kulit lapisan kedua yang berada di dalam buah, *pulp* (Pu) adalah daging buah dari kakao, *beans* (B) adalah biji kakao dan *placenta* (PL) adalah bagian tengah dari kakao. Komponen morfologi buah kakao yang diiris melintang dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Bagian Buah Kakao (Sumber: Farieh, 2007)

2.5.2 Kandungan Biji Kakao

Persentase kulit biji berkisar 10-14% dari berat biji kering kakao, sedangkan persentase dari keping biji berkisar 86-90% dari berat biji kering kakao. Komposisi kimia biji kakao dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Tabel 2.4 Komposisi kimia biji kakao

Komponen	Keping biji (%)	Kulit biji (%)
Kadar air	5,0	4,5
Lemak	54,0	1,5
Kafein	0,2	-
Theobromin	1,2	1,4
Polihidroksifenols	6,0	-
Protein kasar	11,5	10,9
Pati	6,0	-
Pentosa	1,5	7,0
Selulosa	9,0	26,5
Asam Karboksilat	1,5	-
Abu	2,6	8,0
Komponen lain	1,5	0,1

(Sumber: Belitz and Grosch, 2009)

Gambar biji kakao yang sudah dibebaskan dari lemaknya dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Biji Buah Kakao (Sumber: PUSLIT Kakao Indonesia, 2004)

2.5.3 Polifenol Kakao

Biji kakao mempunyai beberapa komponen aktif, salah satunya adalah polifenol (Hafidhah, 2010). Polifenol biji kakao yang menyebabkan warna dari biji kakao menjadi putih hingga ungu tua. Senyawa ini disimpan dalam pigmen sel yang ada pada kotiledon. Kadar polifenol biji kakao dapat mencapai 12-18% dari berat total biji kakao kering yang tidak terfermentasi dan didominasi oleh epikatekin dan katekin (Towaha, 2007; Ramlah, 2001). Kadar tersebut lebih tinggi daripada kandungan polifenol pada teh dan anggur merah (Lee *et al.*, 2003), namun dapat berkurang seiring dengan terfermentasinya biji kakao (Wardiana, 2010).

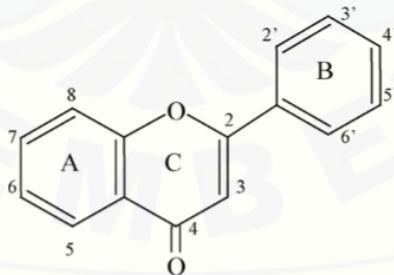
Polifenol biji kakao berfungsi sebagai antioksidan alami yang bekerja mengurangi sejumlah gugus radikal bebas dalam tubuh manusia. Radikal bebas merupakan molekul tidak stabil yang berasal dari proses metabolisme tubuh dan faktor eksternal seperti asap rokok, hasil penyinaran *ultra violet*, zat kimia dalam makanan dan polutan lain. Selain itu, polifenol juga berfungsi sebagai antikanker dengan menghambat pertumbuhan dan biosintesis poliamin dari sel koloni kanker. Sebagai antiinflamasi, polifenol bekerja dengan menghambat jalur metabolisme asam arakhidonat, pembentukan prostaglandin, dan pelepasan histamin pada radang. Sebagai antimikroba terhadap beberapa bakteri patogen, polifenol dapat mengikat dan membentuk kompleks bersama polisakarida dinding bakteri sehingga menghambat pertumbuhan bakteri (Towaha, 2014).

a. Flavonoid

Flavonoid banyak ditemukan dalam tumbuhan yaitu pada sayur-sayuran, kacang-kacangan, biji-bijian, bunga, teh, *wine*, dan madu (Cushnie dan Lamb, 2005). Peran dan kegunaan flavonoid bagi tumbuhan yaitu sebagai pengatur pertumbuhan, fotosintesis, antimikroba, antivirus, dan fitoaleksin (Kayaputri, 2007).

Flavonoid adalah senyawa polar yang mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, mentanol, butanol, aseton, dan lain-lain (Khunaifi, 2010). Flavonoid dapat diklasifikasikan berdasarkan asal biosintesisnya, salah satunya yaitu flavanol (Cushnie dan Lamb, 2005). Flavanol berfungsi meningkatkan aliran darah dan saturasi oksigen di kulit (Pappas, 2011).

Senyawa flavonoid dikenal memiliki aktivitas antimikroba dengan mempengaruhi sintesis asam nukleat melalui hambatannya terhadap fungsi DNA *gyrase* bakteri yang mengakibatkan kemampuan replikasi dan translasi bakteri terhambat, mempengaruhi fungsi membran sitoplasma dengan mengurangi fluiditas dan mengubah permeabilitas membran sel bakteri sehingga fungsinya menjadi terganggu, mempengaruhi metabolisme energi dengan menghambat reduksi NADH *c cytochrome* pada rantai transpor elektron pernapasan (Cushnie dan Lamb, 2005). Struktur kimia flavone dapat digambarkan seperti pada Gambar 2.7 di bawah ini.

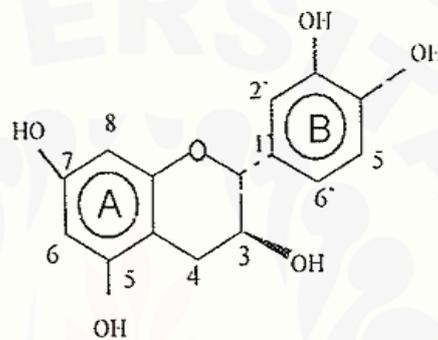


Gambar 2.7 Struktur kimia flavone (Sumber: Cushnie dan Lamb, 2005)

b. Katekin

Katekin adalah senyawa yang mendominasi polifenol biji kakao (Hafidhah, 2010). Kadar katekin dalam polifenol berkisar 33- 42% (Ratnah, 2003), namun dapat mengalami penurunan yang sangat tajam selama proses fermentasi (Tamrin, 2005).

Banyak penelitian yang melaporkan bahwa katekin memiliki efek antimikroba, baik terhadap bakteri di daerah oral, intestinal, ataupun bakteri *food-borne*. Aktivitas antimikroba dari katekin bekerja dengan merusak dan mengganggu fungsi dari fosfolipid bilayer serta membran sitoplasma dengan melepaskan ion H⁺ yang selanjutnya menyerang gugus hidrofilik (gugus hidroksi dan fosfat) pada permukaan membran sel (Rustanti *et al.*, 2013). Gambaran struktur kimia dari katekin dapat dilihat pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Struktur kimia katekin (Sumber: Yanuar, 2001; Lucida *et al.*, 2007)

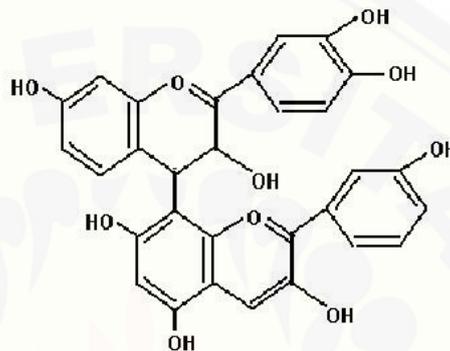
c. Tanin

Tanin merupakan golongan fenolik senyawa aktif tumbuhan yang mempunyai rasa sepat. Tanin dan protein melalui ikatan hidrogen membentuk kompleks yang menghasilkan pigmen tak larut air berwarna cokelat yang memberikan warna khas kakao. Semakin gelap warna biji menandakan kandungan tanin semakin tinggi (Kayaputri, 2014).

Ada dua golongan tanin berdasarkan sifat kimianya, tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis (Ariati, 1995). Tanin terkondensasi terdapat dalam paku-pakuan, *gymnospermae*, dan *angiospermae*, terutama tumbuhan berkayu. Tanin terhidrolisis hanya ada pada tumbuhan berkeping dua (Handayani, 1984).

Tanin berfungsi sebagai antimikroba dengan menghambat pertumbuhan bakteri melalui mekanisme pengerutan dinding atau membran sel sehingga permeabilitas membran sitoplasma berubah dan melakukan pengikatan protein yang berdampak pada terhentinya aktivitas enzim, metabolisme sel bakteri menjadi

terhenti. Bakteri yang dapat dihambat pertumbuhannya diantaranya, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Bacillus stearothermophilus*. Tanin juga berfungsi menstimulus sel fagosit (pertahanan terhadap mikroorganisme) pada tubuh manusia, sedangkan pada tanaman berfungsi menghambat pertumbuhan serangga (Kayaputri, 2014). Struktur kimia dari tanin dapat dilihat pada Gambar 2.9 di bawah ini.



Gambar 2.9 Struktur kimia tanin (Sumber: Heinrich *et al.*, 2018)

2.6 Antimikroba

Antimikroba adalah obat pembasmi mikroba yang bekerja menghambat atau mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroba, khususnya mikroba yang merugikan manusia. Berdasarkan sifat toksisitas selektifnya, ada antimikroba yang bersifat menghambat pertumbuhan mikroba disebut bakteriostatik dan ada yang bersifat membunuh mikroba disebut bakterisid. Antimikroba tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisid apabila kadar antimikrobanya ditingkatkan melebihi Kadar Hambat Minimal (KHM) (Setiabudy, 2007; Brooks *et al.*, 2013).

2.6.1 Mekanisme Kerja

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antimikroba dibagi dalam lima kelompok (Setiabudy, 2007; Brooks *et al.*, 2013):

c. Antimikroba yang menghambat metabolisme sel mikroba

Mikroba patogen perlu mensintesis asam folat sendiri untuk kebutuhan hidupnya. Dalam hal ini, kerja zat antimikroba yaitu mengganggu proses

pembentukan asam folat yang dilakukan oleh mikroba patogen sehingga asam folat yang terbentuk menjadi nonfungsional. Mekanisme kerja antimikroba jenis ini yaitu bakteristatik. Antimikroba yang termasuk dalam golongan ini diantaranya sulfonamid, trimetoprim, isoniazid, asam nalidiksik, dan rifampisin.

d. Antimikroba yang menghambat sintesis dinding sel mikroba

Penghambatan dan pemecahan enzim dalam sintesis dinding sel yang dilakukan oleh antimikroba akan menyebabkan tekanan osmotik dalam sel mikroba lebih tinggi daripada tekanan di luar sel, hal ini akan menyebabkan terjadinya lisis. Mekanisme kerja antimikroba jenis ini yaitu bakterisidal untuk mikroba yang peka. Antimikroba yang termasuk dalam golongan ini diantaranya penisilin, sefalosporin, basitrasin, dan vankomisin.

e. Antimikroba yang mengganggu keutuhan membran sel mikroba

Antimikroba bekerja dengan cara mengubah tegangan permukaan (*surface-active agents*) sehingga mengganggu permeabilitas sel dan mengakibatkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain. Mekanisme kerja antimikroba jenis ini yaitu bakteristatik dan bakterisidal. Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini diantaranya amfoterisin-b, nistatin, polimiksin, dan kolkisin.

f. Antimikroba yang menghambat sintesis protein sel mikroba.

Sel mikroba perlu mensintesis berbagai protein untuk hidup. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Ribosom pada bakteri terdiri dari dua sub unit, yang berdasarkan konstanta sedimentasi disebut sebagai ribosom 30S dan 50S. Kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S agar berfungsi pada sintesis protein. Penghambatan sintesis protein dapat dilakukan dengan berbagai cara, bisa dengan cara berikatan dengan ribosom 30S ataupun 50S, hingga menimbulkan efek bakteristatik ataupun bakterisida. Antimikroba yang termasuk dalam golongan ini diantaranya aminoglikosid, tetrasiklin, eritromisin, linkomisin, makrolid, dan kloramfenikol.

e. Antimikroba yang menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba

Antimikroba menghambat sintesis RNA dan DNA dengan cara berikatan dengan enzim polimerase-RNA serta golongan quinolon yang menghambat enzim DNA girase. Antimikroba yang termasuk golongan ini diantaranya rifampisin.

2.6.2 Mupirosin

Mupirosin adalah antibiotik yang dihasilkan oleh bakteri *Pseudomonas fluorescens*, sehingga pada awalnya mupirosin disebut *pseudomonic acid*. Antibiotik ini bersifat bakterisid dan berdaya khusus terhadap bakteri gram positif, diantaranya *S. aureus*, *S. pyogenes*, dan *S. pneumoniae*. Mupirosin tidak berefek pada klamidia, jamur, flora normal, dan bakteri gram negatif kecuali pada *N. gonorrhoea* dan *H. influenzae*. Mupirosin bersifat bakterisid karena kemampuannya dalam menghambat RNA sintetase yang mengakibatkan terhentinya sintesis protein pada bakteri (Tjay dan Rahardja, 2007; Setiabudy, 2007).

Sediaan mupirosin topikal ada dalam bentuk salep dan krim 2%, diindikasikan untuk berbagai infeksi kulit yang disebabkan oleh bakteri gram positif, terutama *S. aureus* (Setiabudy, 2007). Kontraindikasi penggunaan mupirosin yaitu pasien dengan hipersensitivitas terhadap mupirosin atau glikol polietilen (Deglin dan Vallerand, 2005). Efek samping yang dapat ditimbulkan dalam penggunaan mupirosin topikal adalah nyeri, rasa terbakar, gatal, eritema, dan kulit kering. (Tjay dan Rahardja, 2007).

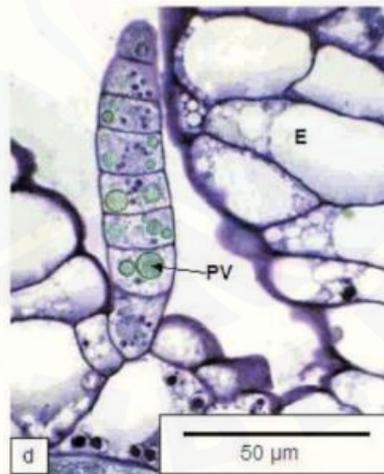
2.7 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut agar terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dalam pelarut cair. Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain (Depkes RI, 2000). Air dan etanol merupakan pelarut yang sering digunakan dalam proses ekstraksi (Subianto *et al.*, 2013).

Ekstrak merupakan sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian seluruh atau hampir seluruh pelarut diuapkan dan masa atau serbuk yang

tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Pembuatan ekstrak tumbuhan obat bertujuan untuk menstandarisasi kandungannya sehingga menjamin keseragaman mutu, keamanan, dan khasiat produk akhir (BPOM, 2005).

Pada peneltiann ini, metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi. Maserasi adalah proses pencairan simplisia dengan cara merendaman serbuk simplisia menggunakan pelarut dan sesekali dilakukan pengadukan pada temperatur kamar (Depkes RI, 2000). Prinsip dari maserasi yaitu cairan pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel, zat aktif yang terkandung dalam rongga sel akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam dan luar sel, maka larutan yang ada di dalam sel akan didesak keluar hingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel. Polifenol yang bersifat polar pada biji kakao dapat diambil dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol sehingga dapat menembus epidermal dalam biji. Letak polifenol (PV) dan epidermal (E) dalam biji kakao dapat dilihat pada Gambar 2.10.



Gambar 2.10 Polifenol dalam biji kakao (Sumber: Elwers *et al.*, 2010)

2.8 Krim

Krim adalah salah satu jenis sediaan obat topikal berbentuk setengah padat yang mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai (Yanhendri, 2012). Ada dua jenis krim, yaitu:

- a. Krim W/O: air merupakan fase dalam dan minyak fase luar.
- b. Krim O/W: minyak merupakan fase dalam dan air fase luar.

Selain itu ditambahkan emulgator, bahan pengawet misalnya paraben, dan dicampur dengan parfum. Berbagai bahan aktif dapat dimasukkan di dalam krim.

Indikasi untuk penggunaan sediaan krim adalah:

- a. Indikasi kosmetik
- b. Dermatitis yang subakut dan luas serta yang dikehendaki adalah penetrasi yang lebih besar dari bedak kocok.
- c. Krim boleh digunakan di daerah yang berambut.

Kontraindikasi penggunaan sediaan krim adalah dermatitis madidans.

Krim yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah *vanishing cream*, dimana krim ini memiliki tipe minyak/air atau O/W karena memiliki jumlah air yang lebih banyak daripada jumlah minyak sehingga mudah dicuci (Wiratmo *et al.*, 2012).

2.9 Protein Albumin Ikan Gabus (*Channa striata*)

Ikan gabus merupakan ikan air tawar yang memiliki kandungan protein tinggi terutama albumin. Albumin merupakan protein utama dalam darah yang berperan penting dalam transpor bahan fisiologis atau metabolit tubuh seperti asam lemak, hormon, bilirubin, dan ligan dari luar maupun sistem regulasi tekanan osmotik koloid darah (Chasanah *et al.*, 2015).

Kadar albumin ikan gabus alam memiliki deviasi yang sangat besar yaitu berkisar 63–107 mg/g per daging ikan gabus. Ikan gabus dimanfaatkan untuk mengatasi hipoalbuminemia karena kandungan albuminnya yang tinggi. Terapi ekstrak ikan gabus 0,14846 ml/hari dapat meregenerasi jaringan pulau langerhans pankreas sebesar 68,78% dan menurunkan kadar glukosa darah 34,42% selama empat belas hari (Aisyatussoffi dan Abdulgani, 2013).

Ikan gabus mengandung asam amino jenis isoleusin, leusin, dan valine yang merupakan *branched-chain amino acids* (BCAA) yang memiliki peranan penting. BCAA merupakan asam amino yang disintesis di otot. Adanya asam amino ini

menunjukkan bahwa ikan gabus dapat membantu mencegah kerusakan jaringan otot dan pertumbuhan otot.

Selain BCAA, ikan gabus juga mengandung beberapa asam amino lainnya. Kandungan lisin yang tinggi pada ikan gabus berfungsi membentuk kolagen yang diperlukan kulit dan tulang sehingga dipercaya mampu menyembuhkan luka (Chasanah *et al.*, 2015). Arginin merupakan asam amino yang berperan dalam membentuk jaringan parut, suplementasi arginin juga meningkatkan hidrosiprolin sebagai tanda deposisi kolagen. Glutamin digunakan untuk proliferasi sel-sel inflamasi di sekitar luka sehingga dapat memperbaiki jaringan (Mustafa *et al.*, 2013).

Pada proses penyembuhan luka, albumin berfungsi menjaga tekanan osmotik antara cairan di dalam dan di luar sel saat fase inflamasi. Kerja albumin pada fase tersebut dengan menjaga keberadaan air dalam plasma darah sehingga volume darah dapat dipertahankan dalam tubuh. Albumin juga menjaga cairan dari luar sel tidak masuk ke dalam sel, sehingga tidak menyebabkan edema pada sel. Selain berfungsi pada fase inflamasi, albumin juga berperan sebagai sarana pengangkut nutrisi dan oksigen yang dibutuhkan tubuh untuk pembentukan jaringan baru pada fase proliferasi (Indrawan *et al.* 2015). Albumin mempunyai kemampuan berikatan dengan banyak bahan termasuk zinc (Zn) yang berperan dalam pembentukan epitel, sintesis kolagen, dan menyatukan serat-serat kolagen pada proses penyembuhan luka (Suprayitno, 2009).

2.10 Nanopartikel

Nanopartikel adalah partikel dengan ukuran antara 1-100 nm (Priyo, 2017). Dalam bidang farmasi, nanopartikel merupakan senyawa obat yang dibuat berukuran nanometer disebut nanokristal atau senyawa obat yang dienkapsulasi dalam suatu sistem pembawa tertentu berukuran nanometer disebut *nanocarrier* (Abdassah, 2012). Nanopartikel dapat digunakan sebagai bentuk obat yang diberikan dengan rute *non invasive* yaitu secara oral, nasal, sub lingual, dan okular karena menunjukkan respon yang efektif melalui membran sel serta stabil dalam aliran darah. Nanopartikel dapat digunakan dalam dunia medis karena dapat

membantu kelarutan, stabilitas, dan kemampuan penyerapan suatu zat (Nugroho, 2016).

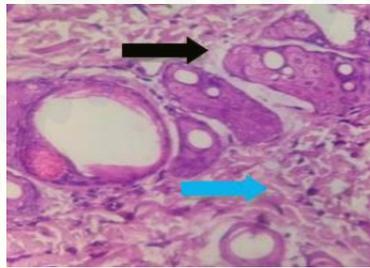
Kelebihan sistem penghantaran nanopartikel yaitu dapat terserap dalam sistem vaskular (kapiler) akibat adanya perbedaan tekanan antara pembuluh darah kapiler dan mukosa sehingga mengurangi eliminasi yang cepat secara fagositosis dan memperpanjang keberadaan obat dalam aliran darah, mempermudah penetrasi obat pada permukaan jaringan, dapat dimodifikasi menjadi sediaan *control release* dengan modifikasi karakteristik bahannya, serta meningkatkan efek obat sehingga mengurangi Kejadian Tidak Diinginkan (KTD) obat (Nugroho, 2016). Mekanisme masuknya nanopartikel ke dalam sel melalui proses pinositosis. Langkah mekanisme *uptake* nanopartikel yaitu diawali dengan penempelan nanopartikel pada sel, nanopartikel kemudian diinternalisasi melalui endositosis selanjutnya dilepas dari endosomal kemudian didegradasi oleh lisosom, obat bebas yang terkandung dalam nanopartikel kemudian berdifusi dalam sitoplasma dan diakhiri dengan penghantaran obat ke organel target oleh sitoplasma (Nugroho, 2016).

Pada peneltiann ini, metode pembuatan nanopartikel yang digunakan adalah metode *freeze dryer*. *Freeze dryer* merupakan metode dehidrasi terkontrol pada produk yang labil melalui proses pembekuan dilanjutkan dengan pengeringan dengan mengeluarkan atau memisahkan hampir sebagian besar air dalam bahan melalui mekanisme sublimasi menggunakan vakum (Nugroho, 2016). Kelebihan metode *freeze dryer* yaitu struktur bahan di dalam produk tetap stabil karena tidak terjadi pengkerutan atau perubahan bentuk pada struktur (Nugroho, 2016).

2.11 Kolagen

Kolagen merupakan jenis protein yang sebagian besar berada dalam tubuh manusia dan hewan. Kolagen merupakan zat protein berbentuk serabut yang menjadi bagian utama jaringan ikat. Kolagen diperlukan dalam penyembuhan luka, pembentukan jaringan parut, dan pembentukan matriks tulang. Sekitar 30 bentuk rantai alfa terdapat pada empat belas tipe kolagen. Kolagen tipe I, II, dan III merupakan kolagen interstisiil atau *fibriler* yang menjadi komponen paling banyak. Proses penyembuhan luka pada umumnya dibagi atas beberapa fase yang saling

berkaitan yaitu fase inflamasi, proliferasi, dan maturasi. Kolagen menjadi komponen kunci pada fase dari penyembuhan luka. Fragmen-fragmen kolagen melepaskan kolagenase leukositik untuk menarik fibroblas ke daerah yang terluka. Dalam waktu sepuluh jam setelah luka, terjadi peningkatan sintesis kolagen. Setelah 5-7 hari, sintesis kolagen mencapai puncak dan kemudian menurun perlahan-lahan. Pada awalnya kolagen tipe III yang lebih dominan yang kemudian diganti oleh kolagen tipe I. Keberadaan kolagen saat proses penyembuhan luka kulit tikus (panah biru) dapat dilihat pada gambar 2.11.



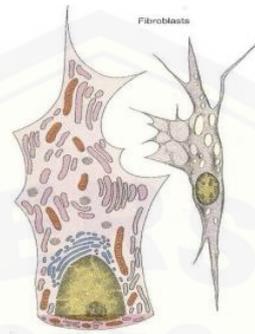
Gambar 2.11 Kolagen kulit tikus (Sumber: Rachmanita *et al.*, 2019)

2.12 Fibroblas

Sel fibroblas merupakan sel yang berfungsi untuk mensintesis komponen matriks ekstraseluler seperti kolagen, elastin, retikuler pada jaringan ikat. Fibroblas juga berperan dalam mensekresi sitokin dan beberapa faktor pertumbuhan (*growth factors*) yang dapat menstimulasi proliferasi sel. Bentuk fibroblas berupa sel besar, gepeng, bercabang-cabang langsing, dari samping terlihat berbentuk gelendong atau *fusiform*. Pada kebanyakan sediaan histologi, batas sel tidak nyata dan ciri inti merupakan pedoman untuk pengenalannya. Inti lonjong atau memanjang diliputi membran inti halus dengan satu atau dua anak inti jelas dan sedikit granula kromatin halus. Sel biasanya tersebar sepanjang berkas serat kolagen dan tampak dalam sediaan sebagai sel *fusiform* dengan ujung-ujung meruncing (Sumbayak, 2015).

Fibroblas sangat berperan dalam perbaikan jaringan luka. Fibroblas menghasilkan kolagen yang akan menautkan luka dan fibroblas juga akan mempengaruhi proses re-epitelisasi untuk menutup luka. Proliferasi fibroblas dalam proses penyembuhan luka distimulasi oleh *interleukin-1b* (IL-1b), *platelet derived growth factor* (PDGF), *fibroblast growth factor* (FGF), dan *transforming growth*

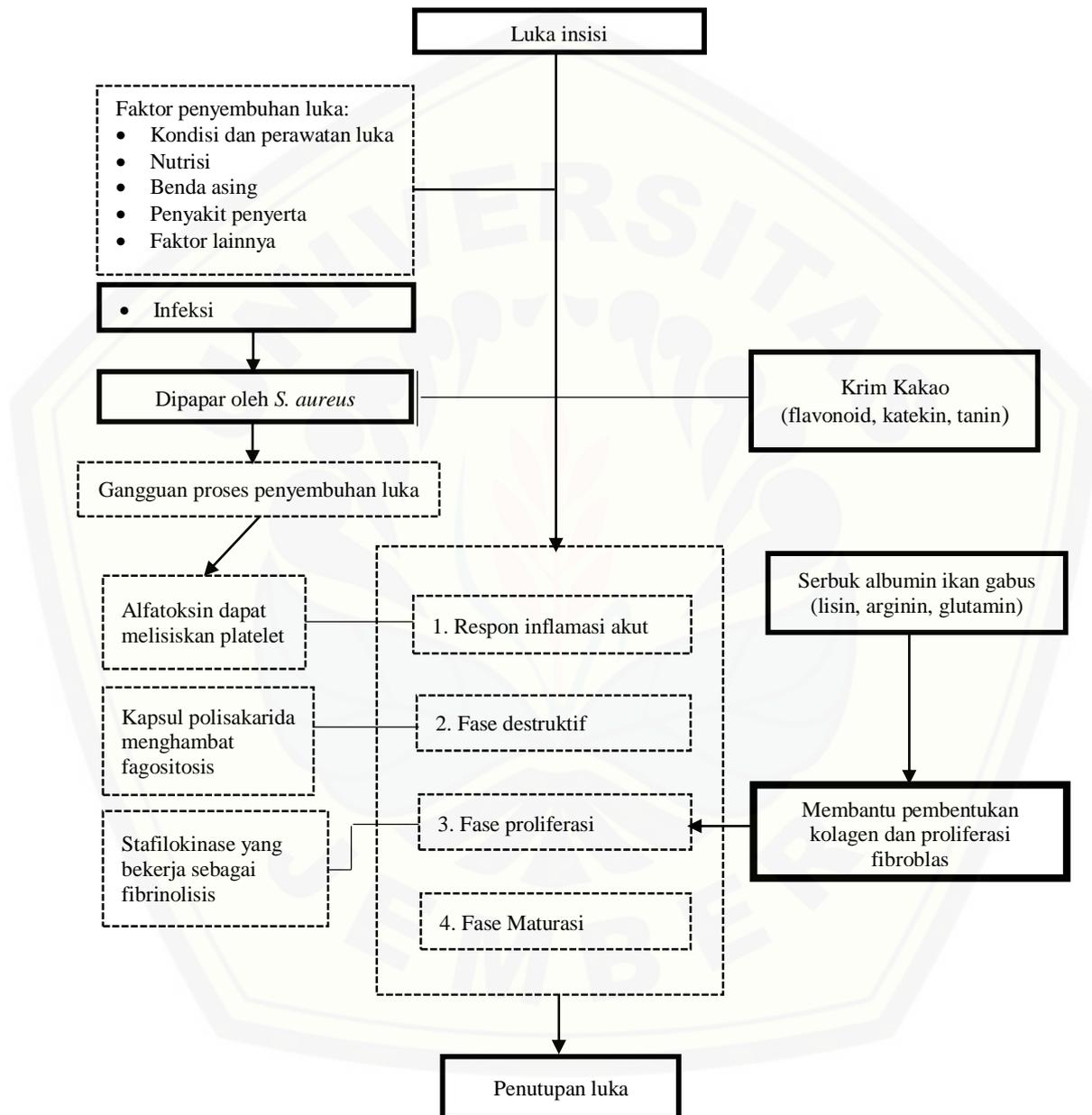
factor (TGF) yang dihasilkan oleh jaringan granulasi selama proses inflamasi. Proses penyembuhan luka dipengaruhi oleh proses proliferasi fibroblas ini. Bentuk fibroblas dapat dilihat pada gambar 2.12 (Sumbayak, 2015).



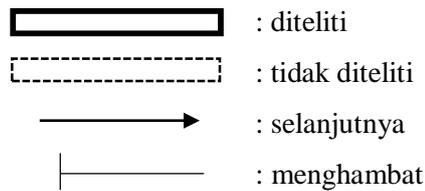
Gambar 2.12 Penampang sel fibroblas (Sumbayak *et al.*, 2015)

2.13 Kerangka Konseptual Penelitian

Kerangka konsep penelitian yang bertujuan untuk menggambarkan hubungan antar variabel dalam proses analisis mengenai efektivitas pemberian ekstrak etanol biji kakao dan albumin ikan gabus dapat dilihat pada Gambar 2.13.



Gambar 2.13 Skema kerangka konseptual penelitian



Luka insisi pada tubuh dalam proses penyembuhannya dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya kondisi dan perawatan luka, nutrisi, benda asing, penyakit penyerta, infeksi, serta faktor lainnya. Infeksi luka oleh bakteri *S. aureus* dapat mengganggu proses penyembuhan luka. Alfatoksin bakteri *S. aureus* dapat melisiskan platelet sehingga mengganggu respon inflamasi akut penyembuhan luka, kapsul polisakarida dapat menghambat fagositosis sehingga mengganggu fase destruktif penyembuhan luka, dan stafilokinase yang bekerja sebagai fibrinolisis mengganggu fase proliferasi penyembuhan luka.

Krim kakao yang mengandung bahan aktif berupa flavonoid, katekin, dan tanin dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* sehingga proses penyembuhan luka tidak terganggu. Serbuk albumin ikan gabus yang mengandung asam amino berupa lisin, arginin, dan glutamin yang dapat membantu proses pembentukan kolagen dan proliferasi fibroblas sehingga mampu mempercepat penyembuhan luka pada fase proliferasi.

2.14 Hipotesis Penelitian

Pemberian kombinasi ekstrak etanol biji kakao dan albumin ikan gabus lebih efektif dibandingkan dengan pemberian terapi tunggal ekstrak etanol biji kakao dan albumin ikan gabus terhadap penyembuhan luka infeksi oleh *S. aureus*.

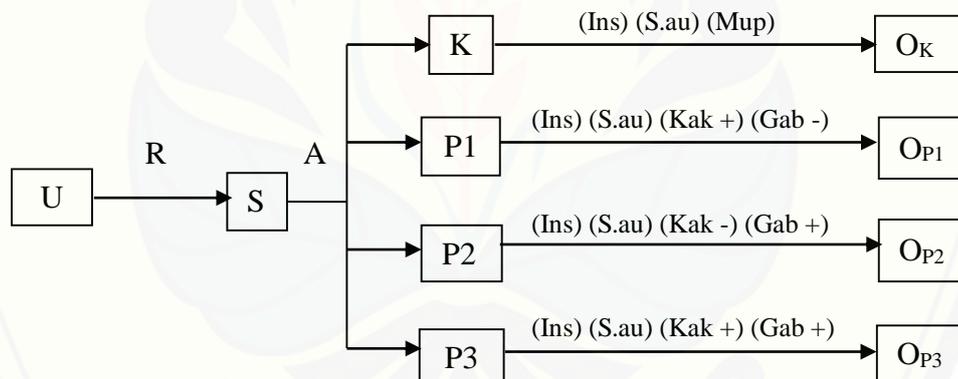
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada pemberian ekstrak etanol biji kakao dan serbuk albumin ikan gabus terhadap penyembuhan luka infeksi oleh *S. aureus* secara *in vivo* adalah penelitian *quasi* eksperimental laboratoris (Pratiknya, 2008).

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Posttest Only Control Group Design* yang termasuk ke dalam rancangan ekperimental murni sederhana. Pada rancangan penelitian eksperimental ini sampel dibagi menjadi kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (Pratiknya, 2008). Rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1 di bawah ini.



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

- U : Unit eksperimental yaitu tikus putih.
- R : Randomisasi dengan sistem *random sampling*.
- S : 24 ekor tikus yang dipilih berdasarkan *simple random sampling*.
- A : Aklimatisasi tikus putih selama satu minggu.
- K : Kelompok kontrol dengan pemberian krim mupirosin 2%.
- P₁ : Kelompok perlakuan satu yang diberikan krim ekstrak etanol biji kakao 8%.
- P₂ : Kelompok perlakuan satu yang diberikan serbuk albumin ikan gabus.

- P₃ : Kelompok perlakuan tiga yang diberikan krim ekstrak etanol biji kakao 8% dan serbuk albumin ikan gabus.
- Ins : Insisi punggung tikus 2,5 cm menggunakan *surgical blade* nomor sebelas.
- S. au : Injeksi suspensi bakteri *S. aureus* 0,5 mL pada tepi luka insisi kulit tikus.
- Mup : Pemberian krim antibiotik mupirosin 2% setelah 24 jam diinjeksi bakteri.
- Kak : Pemberian krim ekstrak etanol biji kakao 8% setelah 24 jam diinjeksi bakteri.
- Gab : Pemberiaan serbuk albumin ikan gabus setelah 24 jam diinjeksi bakteri.
- O_K : Data hasil pengamatan penutupan panjang luka insisi K selama tujuh hari.
- O_{P1} : Data hasil pengamatan penutupan panjang luka insisi P1 selama tujuh hari.
- O_{P2} : Data hasil pengamatan penutupan panjang luka insisi P2 selama tujuh hari.
- O_{P3} : Data hasil pengamatan penutupan panjang luka insisi P3 selama tujuh hari.

3.3 Unit Eksperimental dan Sampel Penelitian

3.3.1 Unit Eksperimental

Unit eksperimental dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

- a. Kriteria Inklusi
 - 1) Tikus dengan jenis kelamin jantan.
 - 2) Keadaan tikus sehat atau normal, ditandai dengan gerakan tikus seperti makan, minum, tidak terdapat luka atau cacat tubuh.
 - 3) Usia tikus 2-3 bulan.
 - 4) Berat tikus antara 150-250 gr.
- b. Kriteria eksklusi
 - 1) Tikus sakit
 - 2) Tikus mati

3.3.2 Sampel Penelitian

Dari unit eksperimental tersebut, kemudian dipilih 24 ekor tikus secara *random* untuk menjadi sampel penelitian. Setiap tikus masing-masing diberi satu

sayatan, diinjeksi bakteri, dan diterapi sesuai kelompok kontrol atau perlakuan. Jumlah minimal pengulangan yang dilakukan berdasarkan rumus Ferderer yaitu (Budiarto, 2003):

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

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

$$3(n-1) \geq 15$$

$$3n-3 \geq 15$$

$$3n \geq 15 + 3$$

$$n \geq 6$$

Keterangan:

k= jumlah kelompok

n= jumlah sampel luka dalam tiap kelompok

Untuk perlakuan sejumlah empat kelompok diperlukan ulangan paling sedikit enam kali untuk masing-masing kelompok dan diberikan faktor koreksi sebesar 10% (satu ekor tikus) pada tiap kelompok.

3.4 Jenis dan Sumber Data

3.4.1 Jenis Data

Jenis data dalam penelitian ini adalah data primer, yang didapatkan secara langsung melalui proses pengumpulan data oleh peneliti. Data primer dalam penelitian ini adalah persentase penyembuhan, skor penyembuhan, skor kepadatan serabut kolagen, dan jumlah fibroblas penyembuhan luka pada tikus yang telah diinfeksi oleh bakteri *S. aureus* dan telah diberikan perlakuan selama tujuh hari.

3.4.2 Sumber Data

Sumber data dalam penelitian ini dari pengukuran dan penilaian penyembuhan luka pada tikus yang telah diinfeksi oleh bakteri *S. aureus* dan telah diberikan perlakuan selama tujuh hari diukur menggunakan penggaris, *Vancouver scar score* (VSS), dan preparat histopatologi anatomi kulit tikus.

3.5 Tempat dan Waktu Penelitian

3.5.1 Tempat Penelitian

Pembuatan krim ekstrak etanol biji kakao dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember, pembuatan serbuk albumin ikan gabus dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran dan Laboratorium CDAST Universitas Jember, pembuatan suspensi bakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember, uji *in vivo* bakteri *S. aureus* dan perlakuan pada tikus dilakukan di kandang perlakuan hewan coba Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember, pembuatan preparat histopatologi anatomi kulit tikus dilakukan di tempat praktek dokter spesialis Patologi Anatomi Jember, dan pengamatan preparat histopatologi anatomi kulit tikus dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

3.5.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret sampai dengan April 2020.

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian krim ekstrak etanol biji kakao dengan konsentrasi 8% dan pemberian serbuk albumin ikan gabus.

3.6.2 Variabel Terikat

- a. Persentase penyembuhan luka infeksi
- b. Skor penyembuhan luka infeksi
- c. Skor kepadatan serabut kolagen
- d. Jumlah fibroblas

3.7 Definisi Operasional

Definisi operasional merupakan penentuan sifat yang akan dipelajari sehingga sifat tersebut menjadi variabel yang dapat diukur (Sugiyono, 2014). Definisi operasional pada penelitian ini dapat dilihat pada Table 3.1.

Tabel 3.1 Definisi operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Hasil Ukur	Skala Data
1	Persentase penyembuhan luka infeksi	Ukuran panjang penyembuhan luka dibanding luka awal menggunakan penggaris	0-100%	Rasio
2	Skor penyembuhan luka infeksi	Hasil penjumlahan skor vaskularisasi, pigementasi, dan konsistensi menggunakan <i>Vancouver scar score</i> (VSS)	Skor: 0-11 Vaskularisasi:0-3 Pigmentasi:0-3 Konsistensi: 0-5 Derajat scar: 0-3: ringan 4-7: sedang 8-11: berat	Ordinal
3	Skor kepadatan serabut kolagen	Rata-rata skor hasil penilaian kepadatan serabut kolagen yang dilihat melalui preparat histopatologi anatomi dengan pewarnaan HE dalam 4 lapang pandang dengan perbesaran 400x menggunakan miikroskop cahaya Olympus CX31	Skor: 1-3 1: Kepadatan kolagen kurang dari jaringan normal/lapang pandang perbesaran 400x mikroskop 2: Kepadatan kolagen sama dengan jaringan normal/lapang pandang perbesaran 400x mikroskop 3: Kepadatan kolagen lebih dari jaringan normal/lapang pandang perbesaran 400x mikroskop	Ordinal
4	Jumlah Fibroblas	Rata-rata hasil penghitungan jumlah fibroblas yang dilihat melalui preparat histopatologi anatomi dengan pewarnaan HE dalam 5 lapang pandang dengan perbesaran 400 kali menggunakan mikroskop cahaya Olympus CX31	0-tidak terhingga	Rasio

3.8 Instrumen Penelitian

3.8.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini:

- a. Ekstraksi biji kakao
 - 1) *Beaker glass*
 - 2) Corong pisah
 - 3) Kertas saring
 - 4) Pengaduk kaca
 - 5) Pemanas listrik
 - 6) *Magnetic stirrer*

b. Ekstraksi ikan gabus

- 1) Pisau
- 2) Mangkuk
- 3) Panci pengukus
- 4) Pemanas listrik
- 5) Termometer
- 6) Kain saring
- 7) Corong pisah
- 8) *Beaker glass*
- 9) *Freeze dryer*

c. Pembuatan suspensi bakteri

- 1) Tabung reaksi dan rak tabung reaksi
- 2) Ose
- 3) Kulkas
- 4) Api Bunsen
- 5) Inkubator
- 6) Vial
- 7) *Disposable syringe*
- 8) Mikropipet
- 9) *Yellow tip*
- 10) *Vortex*
- 11) Tabung *Erlenmeyer*

d. Pembuatan krim

- 1) Mortir
- 2) Gelas ukur
- 3) Pemanas mortir
- 4) *Evaporating dish*
- 5) Timbangan digital
- 6) Pot krim

- e. Uji *in vivo*
 - 1) *Handscoon*
 - 2) Masker
 - 3) Alat cukur
 - 4) *Spuit* 1 mL
 - 5) *Surgical blade* nomor sebelas
 - 6) Plester
 - 7) Kasa steril
 - 8) Gunting
 - 9) Penggaris

3.8.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini:

- a. Serbuk kakao bebas lemak
- b. Ikan gabus
- c. Aquades steril
- d. Suspensi *S. aureus*
- e. Larutan standar 0,5 Mc Farland
- f. Spirtus
- g. Etanol 90%
- h. Hexan
- i. Kertas saring
- j. Basis krim yang terdiri fase minyak berupa asam stearat, cera albi, dan vaselin albi; fase air berupa propilen glikol dan aquadest; emulgator berupa TEA.
- k. Krim mupirosin 2%
- l. Alkohol 70% dan 90%
- m. Tikus
- n. Ketamine
- o. Xylazine
- p. Garam ammonium sulfat ((NH₄)SO₄)

- q. Kapas
- r. Kasa
- s. Formalin 10%
- t. Paraffin
- u. Xylol
- v. Eosin

3.9 Prosedur Penelitian

3.9.1 Pemilihan Hewan Coba

Hewan coba berupa tikus putih (*Rattus norvegicus*) sesuai kriteria inklusi sebanyak 24 ekor yang terbagi dalam empat kelompok.

3.9.2 Penyiapan Hewan Coba

Sebelum diberi perlakuan, selama tujuh hari tikus diaklimatisasi pada kondisi kandang perlakuan hewan coba.

3.9.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Kakao

Biji kakao dengan mutu yang baik diambil dari buah kakao yang matang yang ditandai dengan menguningnya kulit kakao sekitar dua per tiga buah kulit buah. Biji kakao yang basah dicuci bersih kemudian dikeringkan dengan cara dijemur dua hari. Setelah dijemur biji kakao dioven selama satu jam dengan suhu 100°C agar memudahkan proses pengepresan. Biji kakao dipisahkan dengan lemak kakao menggunakan press hidrolik hingga menghasilkan bubuk kakao. Kemudian bubuk kakao direndam dalam hexan selama 24 jam dengan perbandingan 1:2. Larutan yang diperoleh disaring menggunakan kertas saring sehingga menghasilkan bubuk kakao bebas lemak. Selanjutnya bubuk tersebut direndam dengan etanol 90% selama 24 jam dengan perbandingan 1:3 dan disaring kembali menggunakan kertas saring sehingga dihasilkan larutan polifenol yang bercampur dengan etanol. Kemudian larutan polifenol dievaporasi dengan suhu 60°C sampai menghasilkan larutan polifenol kental (Syamsuddin, 2013).

3.9.4 Pembuatan Serbuk Albumin Ikan Gabus

Ikan gabus disiangi bagian kulit dan isi perut untuk diambil bagian dagingnya. Daging ikan dipotong bentuk dadu, diletakkan pada mangkuk dalam panci pengukus, dikukus selama empat jam dengan suhu $70 \pm 2,5^\circ\text{C}$. Daging ikan kemudian diambil ekstraknya dengan cara diperas menggunakan kain saring empat lapis. Ekstrak ikan gabus yang telah diperas, kemudian dipasteurisasi dengan pemanas suhu 50° selama lima belas menit. Ekstrak kemudian diendapkan dengan ditambah garam ammonium sulfat $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4)$ 50% dan 80%, pengendapan dimaksudkan agar serbuk ikan yang dihasilkan memiliki kandungan albumin murni. Pemisahan lemak dalam jumlah banyak dilakukan dengan pelarut organik dingin (n-heksan) dengan perbandingan volume (ml) filtrat dan pelarut 3:1, kemudian dipisahkan fraksi airnya menggunakan corong pisah dan kertas saring, kondisi pemisahan tetap dijaga dingin. Filtrat kemudian disimpan pada suhu -4°C , selanjutnya pengendapan dengan ammonium sulfat 50% dan didiamkan selama semalam agar terbentuk endapan dan supernatan yang sempurna, kemudian supernatan diendapkan kembali dengan ammonium sulfat $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4)$ 80% selama semalam. Endapan yang terbentuk didialisis dengan *membrane cellophane*, kemudian dibekukan kembali pada suhu -20°C dan dilakukan pengeringan beku (*freeze drying*) agar dihasilkan serbuk albumin *freeze drying*.

3.9.5 Pembuatan Larutan 0,5 Mc Farland

Larutan H_2SO_4 0,36 N sebanyak 99,5 ml dicampurkan dengan larutan $\text{BaCl}_2 \cdot 2(\text{H}_2\text{O})$ 1,175% sebanyak 0,5 ml dalam tabung Erlenmeyer. Kemudian dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan ini dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri (Paju *et al.*, 2013)

3.9.6 Pembuatan Suspensi *S. aureus*

Bakteri *S. aureus* yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. *S. aureus* dibuat dengan mengambil satu ose kuman dari kultur, kemudian dimasukkan ke dalam media aquades steril, lalu diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam suspensi kuman yang telah diinkubasi disesuaikan dengan standar

larutan 0,5 *Mc Farland* (1×10^8 CFU/ml) dengan menambahkan aquades steril (Suswati dan Mufida, 2009).

3.9.7 Pembuatan *Vanishing Cream* Ekstrak Etanol Biji Kakao

Diawali dengan persiapan bahan dasar basis krim seluruhnya. Kemudian menyiapkan mortir hangat sambil menimbang fase minyak yang terdiri dari asam stearat, cera albi, serta vaselin albi. Ketiga bahan pembentuk fase minyak tersebut dilebur di atas waterbath dengan suhu 80°C . Selanjutnya menimbang emulgator dan pembuatan fase air yang terdiri dari TEA, propilen glikol, dan aquades hangat dengan suhu 80°C . Setelah fase minyak terlebur sempurna, kemudian dicampurkan dengan fase air dan diaduk di dalam mortir hangat hingga homogen. Bahan aktif berupa ekstrak etanol biji kakao, dicampurkan ketika basis krim telah homogen, kemudian kembali diaduk hingga semuanya menjadi homogen.

Formula standar dasar *vanishing cream* yang digunakan menurut Wiratmo *et al.*, (2012) yaitu:

R/	Acid steararini	15 gr
	Cerae Albi	2 gr
	Vaselin Albi	8 gr
	TEA	1,5 gr
	Propilen Glikol	8 gr
	Aquades ad	79 gr
	m.f krim	100 gr

Sediaan krim yang akan digunakan dalam penelitian ini memiliki konsentrasi ekstrak etanol biji kakao yaitu 8% dibuat sebanyak 100 gr.

a. Formulasi krim ekstrak etanol biji kakao 8%

R/	Ekstrak etanol biji kakao	8 gr
	Dasar krim	92 gr
	m.f krim	100 gr

3.9.8 Tahap Perlakuan

Tikus diaklimatisasi selama tujuh hari sebelum perlakuan. Kandang tikus terbuat dari bak plastik yang diberi tutup, diberi alas berupa sekam yang diganti setiap tiga hari sekali, suhu ruangan berkisar 20-26°C. Setiap kandang diisi satu ekor tikus, diberi pakan berupa pelet komersial dan minum pada masing-masing kandang secara *ad libitum*. Pakan tikus juga ditaburkan ke *bedding* bak kandang untuk menambah minat makan. Setelah tujuh hari aklimatisasi, pada hari ke-8 tikus dipersiapkan untuk diberi perlakuan. Tikus dianestesi menggunakan *ketamine* 70 mg/KgBB dan *xylazine* 15 mg/KgBB secara intraperitoneal menggunakan spuit 1 cc. Bulu tikus bagian punggung kemudian dicukur berbentuk persegi panjang (4x5 cm²) menggunakan gunting dan *Veet Hair Removal Cream* yang didiamkan selama lima menit kemudian dibersihkan. Setelah lima belas menit dari proses anestesi, punggung tikus didesinfeksi dengan isopropil alkohol 70% kemudian diinsisi sebanyak satu buah menggunakan *surgical blade* nomor sebelas sepanjang 2,5 cm sedalam lapisan dermis \pm 2-3 mm. Suspensi kuman diinjeksikan sebanyak 0,5 ml secara intrakutan pada masing-masing tepi luka insisi. Luka insisi ditutup dengan kassa steril dan plester. Pada 24 jam berikutnya luka tikus dipastikan terinfeksi dengan salah satu tanda inflamasi yaitu kemerahan, kemudian diberikan terapi sesuai kelompok. Kelompok kontrol diberikan krim mupirosin 2%, kelompok P1 diberikan krim ekstrak etanol biji kakao 8%, kelompok P2 diberikan serbuk albumin ikan gabus, dan kelompok P3 diberikan kombinasi krim ekstrak etanol biji kakao 8% dengan serbuk albumin ikan gabus. Pemberian krim mupirosin 2% dan ekstrak biji kakao 8% sebanyak 1 gr terbagi dalam 3 dosis setiap hari, serbuk albumin ikan gabus sebanyak \pm 1 gr setiap hari. Setiap pengulangan pemberian serbuk albumin ikan gabus, luka dibersihkan terlebih dahulu dari sisa serbuk pemberian sebelumnya menggunakan *normal saline*. Perlakuan dilakukan selama tujuh hari.

3.9.9 Tahap Pengamatan Makroskopis

Variabel makroskopis yang dinilai yaitu persentase penyembuhan luka infeksi diukur menggunakan penggaris dan skor penyembuhan luka infeksi diukur

menggunakan *Vancouver scar score* (VSS) dengan indikator berupa vaskularisasi, pigmentasi, dan konsistensi pada hari terakhir perlakuan. Penilaian *Vancouver scar score* dapat dilihat pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2 *Vancouver scar score*

Karakteristik skar		Skor
Vaskularisasi	Normal	0
	Merah muda	1
	Merah	2
	Ungu	3
Pigmentasi	Normal	0
	Hipopigmentasi	1
	Campuran	2
	Hiperpigmentasi	3
Konsistensi	Normal	0
	Lentur	1
	Lunak	2
	Keras	3
	Padat	4
	Kontraktur	5

(Sumber: Mitaart, 2017)

Pengamatan dan pengukuran persentase penyembuhan luka infeksi dilakukan setiap hari selama tujuh hari. Rumus pengukuran penyembuhan menggunakan penggaris dapat dilihat pada Gambar 3.2.

$$\text{Penyembuhan luka} = \frac{\text{panjang luka awal (2,5 cm)} - \text{panjang luka saat pengukuran (cm)}}{\text{panjang luka awal (2,5 cm)}} \times 100\%$$

Gambar 3.2 Rumus penyembuhan luka

3.9.10 Tahap Pembuatan Preparat Histo Patologi Anatomi Kulit Tikus

Selesai tahap perlakuan, tikus diterminasi dengan dislokasi bagian *cervical*. Punggung yang diambil kulitnya dibersihkan dari bulu yang mulai tumbuh kembali, kulit digunting dengan ketebalan ± 3 mm, sepanjang 3 cm searah insisi luka. Kulit yang diperoleh kemudian dicuci dengan larutan NaCl, kemudian difiksasi dengan larutan *Neutral Buffer Formalin* (NBF) 10% dalam *tube* dan diberi label.

Sampel jaringan kemudian didehidrasi dengan alkohol bertingkat (70, 80%, 90%, dan 95%) dan alkohol absolut (I, II) masing-masing selama dua jam.

Selanjutnya dilakukan proses *clearing* dengan memasukkan sampel ke dalam silol (I, II dan III) masing-masing selama satu jam. Dilanjutkan dengan infiltrasi dengan parafin I, II, III pada suhu 60°C masing-masing selama satu jam. Kemudian sampel ditanam (*embedding*) dalam parafin dan *blocking* jaringan. Blok jaringan disayat menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5 µm dan diletakkan di gelas objek yang dilapisi bahan perekat.

Pewarnaan jaringan diawali dengan proses penghilangan parafin (deparafinisasi) menggunakan silol tiga kali pengulangan, masing-masing dua menit, dilanjutkan dengan pemasukan air ke dalam jaringan kembali (rehidrasi) menggunakan larutan alkohol dengan konsentrasi menurun (absolut, 95%, 90%, 80%, dan 70%), masing-masing selama lima menit, kemudian dibilas dengan air mengalir selama sepuluh menit. Selanjutnya jaringan diwarnai dengan pewarnaan hematoksin selama lima menit dan dibilas kembali dengan air mengalir selama sepuluh menit. Tahapan selanjutnya jaringan diwarnai dengan pewarnaan eosin selama dua menit, diikuti dengan larutan alkohol bertingkat, *clearing* dengan silo, dan diakhiri dengan penutupan slide jaringan menggunakan kaca penutup (*proses mounting*) dengan menggunakan bahan perekat (Nanda, 2017).

3.9.11 Tahap Pemusnahan Hewan Coba

Tikus yang sudah diambil jaringan kulitnya untuk dijadikan sampel preparat kemudian dibakar.

3.9.12 Tahap Pengamatan Mikroskopis

Pengamatan histopatologi anatomi jaringan kulit dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Pemeriksaan skor kepadatan kolagen dan jumlah fibroblas dilakukan secara acak tanpa mengetahui identitas preparat atau dengan metode *blinding*. Pengamatan dilakukan dengan memfoto preparat menggunakan kamera melalui mikroskop binokuler pada empat lapang pandang untuk kepadatan serabut kolagen dan dan lima lapang pandang untuk jumlah fibroblas. Pengamatan dilakukan dengan perbesaran 400x. Penghitungan skor kepadatan serabut kolagen dan jumlah fibroblas dilakukan oleh dua pengamat. Skor kepadatan serabut kolagen didapat dari menghitung rata-rata

skor empat lapang pandang (Rachmanita *et al.*, 2019) Jumlah fibroblas didapat dari menghitung jumlah rata-rata hasil lima lapang pandang (Kusumadharwani *et al.*, 2015).

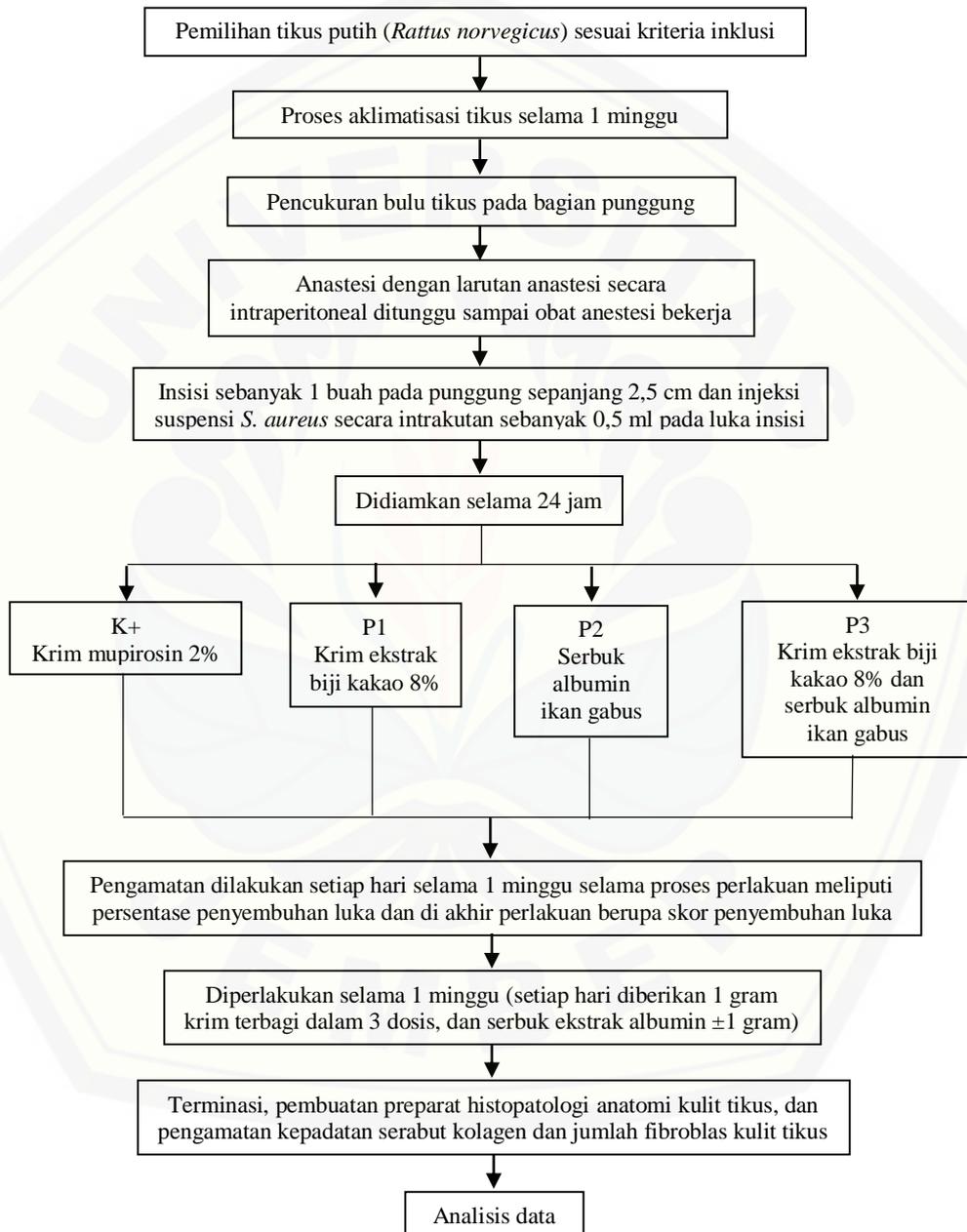
3.10 Analisis Data

Analisis data berupa analisis bivariat untuk membuktikan hipotesis penelitian ini. Analisis persentase penyembuhan luka infeksi hari ke-4 menggunakan uji komparatif parametrik *One Way Anova* karena nilai signifikansi uji normalitas dan homogenitasnya $p > 0,05$, sedangkan persentase penyembuhan luka hari ke-7 menggunakan uji komparatif non parametrik *Kruskal Wallis* karena nilai signifikansi uji normalitas dan uji homogenitasnya $p < 0,05$. Analisis jumlah fibroblas menggunakan uji komparatif parametrik *One Way Anova* dan *Post hoc Bonferroni* karena nilai signifikansi untuk uji normalitas dan uji homogenitas $p > 0,05$. Uji tersebut digunakan karena variabel terikat persentase penyembuhan luka infeksi dan jumlah fibroblas merupakan data berskala rasio. Uji normalitas menggunakan uji *Shapiro Wilk* karena jumlah sample kurang dari lima puluh sampel dan uji homogenitas menggunakan uji *Levene*.

Pada skor penyembuhan luka infeksi dan skor kepadatan serabut kolagen luka infeksi menggunakan uji komparatif *Mann Whitney*. Uji tersebut digunakan karena variabel terikat skor penyembuhan luka infeksi pada tikus merupakan data berskala ordinal, dengan table $(>2) \times (>2)$, dan syarat x^2 tidak terpenuhi.

3.11 Alur Penelitian

Alur penelitian menjelaskan langkah-langkah yang dilakukan oleh peneliti untuk mendapatkan hasil penelitian. Gambar 3.3 menjelaskan skema alur penelitian.



Gambar 3.3 Skema alur penelitian

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kombinasi krim ekstrak etanol biji kakao 8% dan serbuk albumin ikan gabus lebih efektif dibandingkan dengan terapi tunggal krim ekstrak etanol biji kakao 8% terhadap penyembuhan luka infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dilihat dari parameter kepadatan serabut kolagen dan jumlah fibroblas.

5.2 Saran

Penelitian ini memiliki beberapa kelemahan, oleh karena itu terdapat beberapa saran:

- a. Mempertimbangkan jangka waktu pembuatan ekstrak apabila menggunakan lebih dari satu ekstrak, pebutannya dapat dilakukan dalam waktu yang bersamaan agar mempersingkat waktu
- b. Memastikan ketersediaan tempat pembuatan ekstrak
- c. Penandaan batas luka menggunakan metode yang tahan lama dan tahan terhadap intervensi NaCl sebagai pembilas luka
- d. Dilakukan penelitian dengan jangka waktu yang lebih panjang untuk melihat kemungkinan hiperplasi pada luka dengan pemberian terapi serbuk albumin ikan gabus
- e. Dilakukan uji klinis untuk diaplikasikan sebagai terapi

DAFTAR PUSTAKA

- Abdassah, M. 2012. Nanopartikel Dengan Gelasi Ionik. *Farmaka*. 5(1): 45-52.
- Abdurrahmat, A. S. 2014. Luka, Peradangan, dan Pemulihan. *Jurnal Entropi*. 9(1): 729-738.
- Agustina, E, F. dan Syahrul. 2017. Pengaruh Prosedur Operasi terhadap Kejadian Infeksi pada Pasien Operasi Bersih Terkontaminasi. *Jurnal Berkala Epidemiologi*. 5(3): 351-360.
- Aisyatussoffi, N dan N. Abdulgani. 2013. Pengaruh Pemberian Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) pada Struktur Histologi Pankreas dan Kadar Glukosa Darah Mencit (*Mus musculus*) Hiperglikemik. *Jurnal Sains Dan Seni Pomits*. 2(1): 1-5.
- Akiyama, H., K. Fujii, O. Yamasaki, T. Oono, dan K. Iwatsuki. 2001. Antibacterial Action of Several Tannins Against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 48: 481-497.
- Alauddin, A. 2015. Uji Efek Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) pada Luka Sayat dengan Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diberikan Secara Oral. *Naskah Publikasi*. Pontianak: Program Studi Farmasi Universitas Tanjungpura.
- Anggraeni, D., D. Adji, dan R. Murwanti. 2015. Kesembuhan Luka Setelah Pemberian Topikal Zink Pada Tikus dengan Pakan Lemak Tinggi. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 9(2): 105-108.
- Ansori, M. R. 2015. Talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) sebagai Obat Herbal untuk Mempercepat Penyembuhan Luka. *J Agromed Unila*. 2(2): 108-112.
- Ariati, N. K. 2012. Aktivitas Bakterisida Ekstrak Cem-Cem (*Spondias pinnata* (L.f) Kurz) terhadap Bakteri *Erwinia chrysanthemi* Penyebab Penyakit Busuk Lunak Lidah Buaya. *Jurnal Kimia*. 6(1): 88-92.
- Asikin A. N., I. Kusumaningrum. 2018. Karakteristik Ekstrak Protein Ikan Gabus Berdasarkan Ukuran Berat Ikan Asal Das Mahakam Kalimantan Timur. *JPHPI*. 21(1).
- Belitz, H. D., W. Grosch, dan P. Schieberle. 2009. *Food Chemistry*. 4th. Heidelberg: Springer.

- BPOM. 2005. Standarisasi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia, Salah Satu Tahapan Penting dalam Pengobatan Obat Asli Indonesia. *Badan POM RI*. 6(4): 1-5.
- Brooks, G. F., K. C. Carroll, J. S. Butel, S. A. Morse, dan T. A. Mietzner. *Jawetz, Melnick, Adelberg's Medical Microbiology*. 26th. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Brown, A. 2018. Diagnosing and Managing Infection in Acute and Chronic Wounds. *Nursing Times (Online)*. 144: 7, 36-41.
- Budiari, S., E. Chasanah, M. T. Suhartono, dan N. S. Palupi. 2018. Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Inhibitory Activity of Crude and Fractionated Snakehead Fish (*Channa striata*) Fillet Extract. *Squalen Bull. of Mar. and Fish. Postharvest and Biotech*. 13(2): 57-67.
- Chasanah E., M. Nurilmala, A. R. Purnamasari, D. Fithriani. 2015. Komposisi Kimia, Kadar Albumin dan Bioaktivitas Ekstrak Protein Ikan Gabus (*Channa striata*) Alam dan Hasil Budidaya. *JPB Kelautan dan Perikanan*. 10(2): 123-132.
- Chasanah U. dan R. W. Nugraheni. 2017. Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Kadar Albumin Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*). *Prosiding: Peningkatan Keilmuan Solusi Tantangan Profesi Kesehatan*. 95-99.
- Chai, D., X. Liu, R. Wang, Y. Bai, dan Y. Cai. 2016. Efficacy of Linezolid and Fosfomycin in Catheter Related Biofilm Infection Caused by Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *Hindawi*. 2016.
- Cushine, T. P. T dan A. J. Lamb. 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26: 343-356.
- Damayanti, I. P. 2014. Faktor-faktor yang Berhubungan dengan Penyembuhan Luka Post Sectio Caesarea di RSUD Arifin Achmad Provinsi Riau Tahun 2013. *Jurnal Kesehatan Komunitas*. 2(5).
- Deglin, J.H., dan Vallerand, A.H. 2005. *Pedoman Obat untuk Perawat*. Edisi 4. Terjemahan oleh Kuncara, H.Y. Jakarta: Penerbit buku Kedokteran EGC.
- Delmore, B., J. M. Cohen, D. O Neill, A. Chu, V. Pham, dan E. Chiu. 2017. Reducing Postsurgical Wound Complications: A Critical Review. *Advances in Skin & Wound*. 30(6).
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Departemen Kesehatan Republik Indonesia*. Jakarta. 9-16.

- Ekawati, E. R., S. N. Husnul, dan D. Herawati. 2018. Identifikasi Kuman pada Pus Dari Luka Infeksi Kulit. *Jurnal Sain Health*. 2(1): 31-35.
- Elwers, S., A. Zambrano, C. Rohsius, R. Lieberei. 2010. Histological features of phenolic compounds in fine and bulk cocoa seed (*Theobroma cacao* L.) *Journal of Applied Botany and Food Quality*. 83: 182-188.
- Farieh, Y., 2007. Isolasi dan Uji Ekspresi Gen Proteinase Inhibitor (PIN) Dari Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Fatimah, S., F. Nadifah, dan I. Burhanudin. 2016. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Kubis (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *alba*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Biogenesis*. 4(2): 102-106.
- Fitria, L., M. Sarto. 2014. Profil Hematologi Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar Jantan dan Betina Umur 4, 6, dan 8 Minggu. *Biogenesis*. 2(2): 94-100.
- Fitriyani, E., I. M. Deviarni. 2013. Pemanfaatan Ekstrak Albumin Ikan Gabus (*Channa striata*) Sebagai Bahan Dasar Cream Penyembuh Luka. *Vokasi*. 9(3): 166-174.
- Grada, A., J. Mervis. V. Falanga. 2018. Research Techniques Made Simple: Animal Models of Wound Healing. *Journal of Investigative Dermatology*. 138: 2095-2105.
- Guo, S. dan L.A. DiPietro. 2010. Factors Affecting Wound Healing. *J Dent Res*. 89(3): 219-229.
- Hafidhah, N., R. F. Hakim, Fakhurrrazi. 2017. Pengaruh Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis* pada Berbagai Konsentrasi. *Journal Caninus Dentistry*. 2(2): 92-96.
- Handayani, S. 2013. Kandungan Flavonoid Kulit Batang dan Daun Pohon Api-Api (*Avicennia marina* (Forsk.) Vierh.) Sebagai Senyawa Aktif Antioksidan. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Hapsari, A. P., C. U. Wahyuni, dan D. Mudjiyanto. 2018. Pengetahuan Petugas Surveilans Tentang Identifikasi Healthcare-Associated Infections di Surabaya. *Jurnal Berkala Epidemiologi*. 6(2): 130-138.
- Haq, F. M., H. Santoso, dan A. Syauqi. 2018. Analisa Kadar Protein Albumin Ikan Sidat (*Anguilla bicolor*) Air Tawar Segar dan Dikukus di Maduran Lamongan. *e-Jurnal Ilmiah SAINS ALAMI (Known Nature)*. 1(1): 13-19.

- Heinrich, M., J. Barnes, J. P. Garcia, S. Gibbons, dan E. Williamson. 2018. *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy*. Edisi ketiga. Netherlans: Elsevier.
- Indrawan, M. Z., E. Nansy, M. Andrie. 2015. Uji Efek Penyembuhan Luka Fase Air Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) pada Tikus Putih Jantan Wistar yang Diberi Perlukaan. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*. 3(1): 1-11.
- Ismiarto, Y. D., A. Kurniawati, A. D. Pardamean. 2018. Perbandingan Pengaruh LIDC yang Dikombinasi dengan Argentum dan Antibiotik untuk Proses Penyembuhan Luka Terinfeksi. *JSK*. 4(1): 20-23.
- Istasaputri, K., E. Sutedja, O. Suwarsa, dan S. Sudigdoadi. 2013. Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* pada Penderita Dermatitis Atopik dan Sensitivitasnya terhadap Mupirosin Dibandingkan dengan Gentamisin. *MKB*. 45(1): 35-43.
- Jatiningsih S., IDP. Pramantara, F. Rahmawati. 2015. Evaluasi Penggunaan Infus Albumin. *Jurnal Manajemen dan Pelayanan Farmasi*. 5(2).
- Juliantina, F., D. A. Citra, B. Nirwani, T. Nurmasitoh, dan E. T. Bowo. 2009. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Anti Bakterial terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. 1(1).
- Jumiarni, W. O. dan Komalasari. 2017. Eksplorasi Jenis dan Pemanfaatan Tumbuhan Obat pada Masyarakat Suku Muna di Pemukiman Kota Wuna. *Traditional Medicine Journal*. 22(1): 45-56.
- Kalangi, S. J. R., 2013. Histologi Kulit. *Jurnal Biomedik (JBM)*. 5(3): S12-20.
- Kayaputri I. L., D. M. Sumanti, M. Djali, R. Indiarso, D. L. Dewi. 2014. Kajian Fitokimia Ekstrak Kulit Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Chimica et Natura Acta*. 2(1): 83-90.
- Khan, H. A., F. K. Baig, R. Mehboob. 2017. Nosocomial Infection: Epidemiology, Prevention, Control and Surveillance. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*. 1-5.
- Khunaifi, M. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim.

- Kromuszczyńska, J., Ł. Kołodziej, dan Alina Jurewicz. 2018. Wound Healing Complications in Patients with and without Systemic Diseases Following Hallux Valgus Surgery. *Wound Healing in Foot Surgery*. 13(6).
- Kususmawardhani, A. D., Kalsum, U., Rini, I. S. 2015. Pengaruh Sediaan Salep Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle Linn.*) terhadap Jumlah Fibroblas Luka Bakar Derajat IIA pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar. *Majalah Kesehatan FK UB*. 2(1): 16-28.
- Kuwasumi, A., N. Sagawa, S. Hayashi, H. Yokoyama, dan K. Tamura. 2012. Wound Healing in Mammals and Amphibians: Toward Limb Regeneration in Mammals. *ResearchGate*. 367: 33-49.
- Lee, K. W., Y. J. Kim, H. J. Lee, dan C. Y. Lee. 2003. Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and A Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric Food Food Chem*. 51(25): 7297-7295.
- Lucida, H., A. Bakhtiar, dan W. A. Putri. 2007. Formulasi Sediaan Antiseptik Mulut dari Katekin Gambir. *J. Sains Tek. Far*. 12(1).
- Majdanik, M., M. M. Kepa, R. D. Wojtyczka, D. Idzik, dan T. J. Wasik. 2018. Phenolic Compounds Diminish Antibiotic Resistance of *Staphylococcus aureus* Clinical Strains. *Int J Environ Res Public Health*. 15(10): 2321.
- Marjiyanto, L. Murtutik, A. Suwarni. 2013. Hubungan Kadar Albumin dengan Penyembuhan Luka pada Pasien Post Operasi Laparatomy di Ruang Mawar Rumah Sakit Slamet Riyadi Surakarta. *Jurnal Ilmu Keperawatan*. 1(1): 1-85.
- Marsaoly, S. F. A. 2016. Infeksi Luka Post Operasi pada Pasien Post Operasi di Bangsal Bedah RS PKU Muhammadiyah Bantul. *Naskah Publikasi*. Yogyakarta: Prodi Ilmu Keperawatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Matsumoto, Y., K. Kaihatsu, K. Nishino, M. Ogawa, N. Kato, dan A. Yamaguchi. 2012. Antibacterial and Antifungal Activites of New Acylated Derivatives of Epigallocatechin Gallate. *Antimicrobials, Resistance and Chemotherapy*. 3(53).
- Meikahani, R. dan E. S. Kriswanto. 2015. Pengembangan Buku Saku Pengenalan Pertolongan dan Perawatan Cedera Olahraga untuk Siswa Sekolah Menengah Pertama. *Jurnal Pendidikan Jasmani Indonesia*. 11(1): 15-22.

- Miklasinska, M., M. Kepa, R. D. Wojtyczka, D. Idzik, A. Dziedzic, dan T. J. Wasik. 2016. Catechin Hydrate Augments the Antibacterial Action of Selected Antibiotics against *Staphylococcus aureus* Clinical Strains. *Molecules*. 21(2): 244.
- Mitaart, D. M. Hatibie, dan D. Noersasongko. 2017. Perbandingan Penyembuhan Luka Insisi Menggunakan Pisau Bedah dan Pisau Elektrokauter Dinilai dengan Vancouver scar Score pada Operasi Luka Bersih. *Jurnal Biomedik (JBM)*. 9(3): 191-197.
- Morison, M. J. 2004. *Manajemen Luka*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- Murray, P. R. 2013. *Medical Microbiology*. 7th edition. Philadelphia: Elsevier Inc.
- Murray, R. K., D. K. Granner, dan V. W. Rodwell. 2006. *Harper's Illustrated biochemistry*. 27th. New York: The McGraw-Hill Companies inc. Terjemahan oleh Brahm. 2012. Biokimia Harper. 27. Jakarta: ECC Medical Publisher.
- Mustafa, A., H. Sujuti, N. Permatasari, dan M. A. Widodo. 2013. Determination of Nutrient Contents and Amino acid Composition of Pasuruan *Channa striata* Extract. *International Journal of Science and Technology (IJSTE)*. 2(4): 1-11.
- Nanda Y., M. N. Salim, dan C. D. Iskandar. 2017. Histopatologi Kulit Mencit (*Mus musculus*) Fase Remodeling pada Penyembuhan Luka Sayat Dengan Salep Getah Jarak (*Jatropha curcas* Linn). *JIMVET*. 1(4): 780-78.
- Napanggala, A., Susianti, dan Apriliana, E. 2014. Effect of *Jatropha's* (*Jatropha curcas* L.) Sap Topically in The Level of Cuts Recovery on White Rats Sprague dawley Strain. *Medical Journal of Lampung University*. 3(5)
- Negut, I., V. Grumezescu, A. M. Grumezescu. 2018. Treatment Strategies for Infected Wounds. *Molecules*. 23(2392): 1-23.
- Nerchan, E., J. F. Mallo, N. T. S. Mallo. 2015. Pola Luka pada Kematian Akibat Kekerasan Tajam di Bagian Ilmu Kedokteran Forensik dan Medikolegal RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado Periode 2013. *Junal e-Clinic*. 3(2): 640-645.
- Ningrum T. P., H. S. Mediani, C. Isabella. 2017. Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Kejadian Wound Dehiscence pada Pasien Post Laparatomi. *JKP*. 5(2).

- Nugroho, A. Y. 2016. Perbandingan Efektivitas Terapi Albumin Ekstrak Ikan Gabus Murni dibanding Human Albumin 20% Terhadap Kadar Albumin dan pH Darah pada Pasien Hipoalbuminemia. *Tesis*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Nurseha, D. 2013. Pengembangan Tindakan Pencegahan Infeksi Nosokomial Oleh Perawat di Rumah Sakit Berbasis Health Belief Model. *Jurnal Ners*. 8(1): 64-71.
- Nurani, D., F. Keintjem, dan F. N. Losu. 2015. Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Proses Penyembuhan Luka Post Sectio Caesarea. *Jurnal Ilmiah Bidan*. 3(1).
- Oekar, N. K., E. M. Widyasari, E. Isabela. 2010. Karakteristik Fisiko-Kimia Radiofarmaka ^{99m}Tc -Human Serum Albumin (HAS)-Nanosfer. *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia*. 11(1): 35-44.
- Oktaviani, D. J., S. Widiyastuti, D. A. Maharani, A. N. Amalia, A. M. Ishak, dan A. Zuhrotun. 2019. Review: Bahan Alami Penyembuh Luka. *Majalah Farmasetika*. 4(3): 45-56.
- Paju, N., Yamlean, P., dan Kojong, N. 2013. Uji Efektivitas Salep ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus*. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*. 2(1): 51-61.
- Pappas, a. 2011. *Nutrition and Skin*. New York: Springer Science and Business Media.
- Perwitahati, D. 2013. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao*) terhadap *Staphylococcus epidermidis* Secara in Vitro dan in Vivo. *Skripsi*. Jember: Pendidikan Ilmu Dokter Universitas Jember.
- Pratiknya, A. W. 2008. *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
- Primadina, N., A. Basori, D. S Perdanakusuma. 2019. Proses Penyembuhan Luka Ditinjau Dari Aspek Mekanisme Seluler Dan Molekuler. *Qanun Medika*. 3(1): 31-43.
- Priyo, W. 2017. Manfaat Nanopartikel di Bidang Kesehatan. *Majalah Farmasetika*. 2(4): 1-3.
- Purnama, H., Sriwidodo, S. Ratnawulan. 2017. Review Sistematis: Proses Penyembuhan dan Perawatan Luka. *Farmaka*. 15(2).

- Purwaningsih, D., W. Agung, dan I. Megaputera. 2013. Formulasi Sediaan Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao*) Sebagai Natural Antioxidant Melalui Teknologi Mikroenkapsulasi Dengan Metode Spray-Dryin. *PKM-P*.
- Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. 2004. *Panduan Lengkap Budi Daya Kakao*. Jakarta: PT. AgroMedia Pustaka.
- Puslitkoka. 2015. Puslitkoka & Pengembangan Klon Menjalankan Mandat Pemerintah. <https://cocoainfo.wordpress.com/2015/01/10/puslitkoka-dan-pengembangan-klon/#more-385> diakses pada tanggal 7 Oktober 2019.
- Rachmanita, R. T., H. Primarizky, F. Fikri, B. Setiawan, B. Agustono, dan A. L. Saputro. 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): 36-41.
- Ramlah, S. 2016. Karakteristik Mutu dan Citarasa Cokelat Kaya Polifenol. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*. 11(1): 233-32.
- Ratnah, St. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Kakao Bebas Lemak (*Theobroma cacao* L.) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Media Farmasi*. 13(1).
- Riski, K., Fakhurrazi, M. Abrar. 2017. Isolasi Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Ikan Asin Talang-Talang (*Scomberoides commersonianus*) di Kecamatan Leupung Kabupaten Aceh Besar. *JIMVET*. 1(3): 366-374.
- Rivai, F., T. Koentjoro, dan A. Utarini. 2013. Determinan Infeksi Luka Operasi Pascabedah Sesar. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*. 8(5): 235-240.
- Rizka, A., V. S. Budipramana, dan D. Fauziah. 2013. Kepadatan Kolagen tipe 1 pada Luka Operasi Tikus Wistar yang Mengalami Anemia karena Perdarahan Akut. *Journal Unair*. 1-12.
- Rodyah, S. A. U. 2015. *Hubungan Lingkungan Kerja Perawat Dengan Tingkat Kepatuhan Pelaksanaan 5 momen Hand Higiene Di Ruang Rawat Inap Rumah Sakit Umum Kaliwates PT Rolas Nusantara Medika Jember*. Jember: Program Studi Ilmu Keperawatan Universitas Jember.
- Rustanti, E., A. Jannah, dan A. G. Fasya. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Katekin dari Daun Teh (*Cameliasinensis L.var assamica*) terhadap Bakteri *Micrococcusluteus*. *Alchemy*. 2(2): 138-149.
- Said, S., N. A. Taslim, B. Bahar. 2013. *Gizi dan Penyembuhan Luka*. Makassar: Indonesia Academic Publishing.

- Satyo, A. C. 2006. Aspek Medikolegal Luka pada Forensik Klinik. *Majalah Kedokteran Nusantara*. 39(4): 430-432.
- Setiabudy, Rianto. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi V (cetak ulang dengan perbaikan). Jakarta: Gaya Baru.
- Shodikin, A. M., Suswati, E., Mufina, D. C. 2006. *Diktat Mikrobiologi Bakteri Staphylococcus*. Jember: Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Jember.
- Sub Direktorat Statistik Tanaman Perkebunan. 2017. *Statistik Kakao Indonesia*. Jakarta: Badan Pusat Statistik.
- Subianto, C., I. Srianta, dan N, Kusumawati. 2013. Pengaruh Proporsi Air dan Etanol sebagai Pelarut terhadap Aktivitas Antioksidan Angkak Biji Durian dengan Metode Phosphomolybdenum dan DPPH. *Jurnal teknologi Pangan dan Gizi*. 12(2): 75-80.
- Sugiyono. 2014. *Metode Penelitian Pendidikan Pendekatan Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D*. Bandung: Alfabeta.
- Suhariyanto, B. 2011. Antibiotik Topikal untuk Penyakit Kulit pada Wisatawan. *Makalah Kuliah Umum*. Surabaya: Pengembangan Pendidikan Keprofesian Berkelanjutan. 22-23 Oktober 2011.
- Sumbayak, E. M. 2015. Fibroblas: Struktur dan Peranannya dalam Penyembuhan Luka. *Jurnal Kedokteran Meditek*. 21(57).
- Suparyanto. 2010. Rancangan Penelitian Eksperimen (Experiment Design Research). <http://dr-suparyanto.blogspot.com/2010/08/rancangan-penelitian-eksperimen.html>. (24 Oktober 2019)
- Suprayitno, E. 2009. *Penggunaan Albumin Ikan Gabus (Ophiocephalus striatus) pada Penutupan Luka*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Susanto, F. X., 1994. *Tanaman Kakao Budidaya dan Pengolahan Hasil*. Yogyakarta: Kanisius
- Suswati, E. dan Mufida, D. 2009. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Syamsuddin, I. K. 2013. Uji Aktivitas ANtibakteri Ekstrak Etanol Biji (*Theobroma cacao*) terhadap *Staphylococcus aureus* Secara in Vivo. *Skripsi*. Jember: Pendidikan Ilmu Dokter Universitas Jember.

- Tambunan, S., E. Asni, Z. Malik, Ismawati. 2014. Histopatologi Aorta Torasika Tikus Putih (*Rattus norvegicus* strain wistar) Jantan setelah Pemberian Diet Aterogenik Selama 12 Minggu. *Jom FK*. 2(1): 1-14.
- Tamrin, N. Asyik, E. P. Heriyanto. 2016. Analisis Kadar Katekin dan Evaluasi Aktivitas Antioksidan Beberapa Produk Berbahan Utama Bubuk Kakao. *Jurnal Rekap Pangan*. 10(1).
- Tjay, T. H. dan Rahardja, K. 2007. *Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan, dan Efek Sampingnya*. Edisi VI. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Towaha, J. 2014. Kandungan Senyawa Polifenol Pada Biji Kakao dan Kontribusinya terhadap Kesehatan. *SIRINOV*. 2(1): 1-16.
- Tungadi, R., F. Attamimi, E. F. Sabu, dan E. Nugraha. 2011. Percepatan Penyembuhan Luka oleh Krim Ikan Gabus (*Ophiocephalus striatus*) terhadap Luka Kulit Kelinci secara Histopatologi. *Jurnal Imu Kefarmasian Indonesia*. 9(2): 91-97.
- Tungadi, R., W. Susanty, P. Wicita, dan E. Pido. 2018. Transdermal Delivery of Snakehead Fish (*Ophiocephalus striatus*) Nanoemulgel Containing Hydrophobic Powder for Burn Wound. *Pharmaceutical Sciences*. 24: 313-323.
- Vasanthakumari, R. 2007. *Textbook of Microbiology*. New Delhi: BI Publications Pvt Ltd.
- Wardiana, E. 2014. Faktor-Faktor yang Berpengaruh Terhadap Kandungan Polifenol pada Biji dan Produk Berbasis Kakao. *Bunga Rampai Inovasi Teknologi Bioindustri Kakao*. 1-22.
- Widjianingsih, E. dan B. Wirjatmadi. 2013. Hubungan Tingkat Konsumsi Gizi dengan Proses Penyembuhan Luka Pascaoperasi Sectio Cesarea. *Media Gizi Indonesia*. 9(1): 1-5.
- Widyastuti, Y. dan R. Widyaningsih. 2016. Hubungan Antara Index Masa Tubuh (Imt) dan Kadar Hemoglobin dengan Proses Penyembuhan Luka Post Operasi *Laparotomi*. *Indonesian Journal on Medical Science*. 3(2): 48-53.
- Wiratmo, Racmawati, Holiday, dan Maria. 2012. *Buku Petunjuk Praktikum Preskripsi II. Edisi Tahun Ajaran 2012-2013*. Jember: Bagian Farmasi Komunitas Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Yanhendri dan S. W. Yenny. 2012. Berbagai Bentuk Sediaan Topikal dalam Dermatologi. *CDK-194*. 39(6): 423-430.

Yanuar, Y. 2001. Aktivitas Antitoksik Katekin α -Glukosida Hasil Reaksi Transfer Enzimatis. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Yumas, M. 2017. Pemanfaatan Limbah Kulit Ari Biji Kakao (*Theobroma cacao*) sebagai Sumber Antibakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*. 12(2): 7-20.



Lampiran 1. Keterangan Persetujuan Etik Penelitian

11



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER
KOMITE ETIK PENELITIAN
Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember
68121 – Email : fk_unej@telkom.net

KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK
ETHICAL APPROVA
Nomor : 1.395 /H25.1.11/KE/2020

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :

EFEKTIVITAS KOMBINASI EKSTRAK ETANOL BIJI KAKAO DAN ALBUMIN IKAN GABUS TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA INFEKSI

Nama Peneliti Utama : Rachel Fellensia.
Name of the principal investigator

NIM : 162010101042

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
And approved the above mentioned proposal.

Jember, 28 Februari 2020
Ketua Komisi Etik Penelitian

Suni Riyanti, Sp.PK



CS Scanned with CamScanner

Tanggapan Anggota Komisi Etik

(Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lainnya)

Review Proposal :

1. Perlakuan terhadap hewan coba memegang prinsip 3R (*Replacement, Reduce, Refinement*).
2. Penggunaan dan penyimpanan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* harus diperhatikan oleh peneliti untuk mencegah terjadinya infeksi nosokomial.
3. Pembuatan luka sayat harus dilakukan oleh tenaga ahli yang kompeten untuk mengurangi bias penelitian.
4. Pembacaan preparat histologi dilakukan oleh tenaga ahli dengan metode blinding.
5. Mohon diperhatikan oleh peneliti, pembuangan limbah medis dan B3 agar tidak mencemari lingkungan.

Saran :

- a) Kandang terdiri dari 1 tikus untuk mengurangi resiko infeksi yang dapat menjadi bias dalam penelitian.
- b) Kandang dijaga kebersihannya agar tidak menjadi sumber infeksi pada luka perlakuan hewan coba

Mengetahui
Ketua Komisi Etik Penelitian



dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Jember, 11 Februari 2020

Reviewer

dr. Ayu Munawaroh Aziz, M.Biomed

Tanggapan Anggota Komisi Etik

(Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lainnya)

Review Proposal :

- 1) Pemilihan, perawatan, perlakuan, pengorbanan dan pemusnahan hewan coba mengacu pada buku pedoman etik penelitian kesehatan (penggunaan hewan coba dengan prinsip 3R : *Replacement, Reduce, Refinement*).
- 2) Harap diperhatikan kontrol kualitas pembuatan ekstrak etanol biji kakao dan albumin ikan gabus agar didapatkan kadar yang diinginkan.
- 3) Perlakuan pembuatan luka infeksi dilakukan oleh orang yang terampil.
- 4) Harap diperhatikan kontrol kualitas pembuatan preparat jaringan kulit agar didapat sediaan yang memenuhi syarat pembacaan.
- 5) Pembacaan preparat dilakukan oleh orang yang kompeten, minimal oleh 2 orang serta menggunakan metode blinding.
- 6) Harap diperhatikan mengenai *general precaution* (penggunaan APD) saat melakukan penelitian menggunakan agen infeksius, diperhatikan juga lingkungan / tempat dilakukan penelitian agar tidak mencemari lingkungan sekitar.
- 7) Harap diperhatikan pembuangan limbah medis dan limbah B3 agar tidak mencemari lingkungan.

Mengetahui
Ketua Komisi Etik Penelitian



Dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Jember, 13 Februari 2020

Reviewer

dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed

Lampiran 2. Keterangan Bebas Plagiasi



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN
Jalan Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto, Kotak Pos Jember 68121
Telepon (0331) 337877, 324446, Faksimile (0331) 337877
Laman: fk.unej.ac.id Email: fk@unej.ac.id

SURAT REKOMENDASI BEBAS PLAGIASI
Nomor : **1782** /UN25.11/ET/2020

Komisi Bimbingan KTI dan Publikasi, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya peningkatan kualitas dan originalitas karya tulis ilmiah mahasiswa berupa skripsi, telah melakukan pemeriksaan plagiasi atas skripsi mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Jember di bawah ini:

Nama : Rachel Feliensia
NIM : 162010101042
Angkatan : 2016
Judul Skripsi : Efektivitas Kombinasi Ekstrak Etanol Biji Kakao dan Albumin Ikan Gabus terhadap Penyembuhan Luka Infeksi

Bersama ini kami merekomendasikan dan menyatakan "Bebas Plagiasi"
Demikian surat rekomendasi ini dibuat agar dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Mengetahui,
Wakil Dekan I,

Anon Caesarina Novi M. Ph.D.
NIP 198203092008122002

Jember, **20 JUL 2020**
Ketua,

Dr. dr. Yunita Armiyanti, M.Kes.
NIP 197406042001122002



Scanned with CamScanner

Lampiran 3. Data Penelitian

Data A. Penyembuhan luka infeksi hari ke-1 sampai hari ke-7

Hari 1

Kelompok	Panjang Luka pada Tikus (cm)						Rata-Rata ± SD (cm)
	I	II	III	IV	V	VI	
K (Mup)	1,9	2,2	1,9	2,4	1,7	2,2	2,05 ± 0,26
P1 (Kak)	2	2	1,9	1,7	1,8	1,15	1,76 ± 0,32
P2 (Gab)	1,8	2,1	2,1	2	2,15	1,7	1,98 ± 0,18
P3 (Kak + Gab)	2,05	1,85	2,1	1,4	2,5	1,9	1,97 ± 0,36

Hari 2

Kelompok	Panjang Luka pada Tikus (cm)						Rata-Rata ± SD (cm)
	I	II	III	IV	V	VI	
K (Mup)	1,8	1,45	1,75	1,7	1,6	1,45	1,63 ± 0,15
P1(Kak)	1,8	1,85	1,4	1,7	1,7	0,9	1,56 ± 0,36
P2 (Gab)	1,4	1,85	2	1,95	1,9	1,5	1,77 ± 0,25
P3 (Kak + Gab)	1,95	1,7	1,6	0,8	2,3	1,8	1,69 ± 0,50

Hari 3

Kelompok	Panjang Luka pada Tikus (cm)						Rata-Rata ± SD (cm)
	I	II	III	IV	V	VI	
K (Mup)	0,7	0,9	0,8	1,1	1,15	0,45	0,85 ± 0,26
P1 (Kak)	1,7	1,55	0,95	1,65	0,95	0,55	1,23 ± 0,47
P2 (Gab)	0,95	1,8	1,75	1,5	1,3	1,15	1,41 ± 0,34
P3 (Kak + Gab)	1,1	1,35	1,15	0,7	2,05	1,25	1,27 ± 0,44

Hari 4

Kelompok	Panjang Luka pada Tikus (cm)						Rata-Rata ± SD (cm)
	I	II	III	IV	V	VI	
K (Mup)	0,7	0	0,3	0,4	1	0,15	0,43 ± 0,37
P1 (Kak)	0,3	1,3	0,65	1,45	0,2	0,4	0,72 ± 0,53
P2 (Gab)	0,7	1,65	0,95	1,5	1,2	1,1	1,18 ± 0,35
P3 (Kak + Gab)	0,75	1	0,95	0	1,75	0,95	0,9 ± 0,56

Data B. Persentase penyembuhan luka infeksi hari ke-4

Kontrol (Krim Mupirosin 2%)

Panjang Luka Infeksi Hari ke-1	Panjang Luka Infekai Hari ke-4	Selisih Panjang Luka Infeksi	Persentase Penyembuhan Luka Infeksi (%)
2,5	0,7	1,8	72
2,5	0	2,5	100
2,5	0,3	2,2	88
2,5	0,4	2,1	84
2,5	1	1,5	60
2,5	0,15	2,35	94

Krim Ekstrak Etanol Biji Kakao 8%

Panjang Luka Infeksi Hari ke-1	Panjang Luka Infekai Hari ke-4	Selisih Panjang Luka Infeksi	Persentase Penyembuhan Luka Infeksi (%)
2,5	0,3	2,2	88
2,5	1,3	1,2	48
2,5	0,65	1,85	74
2,5	1,45	1,05	42
2,5	0,2	2,3	92
2,5	0,4	2,1	84

Serbuk Albumin Ikan Gabus

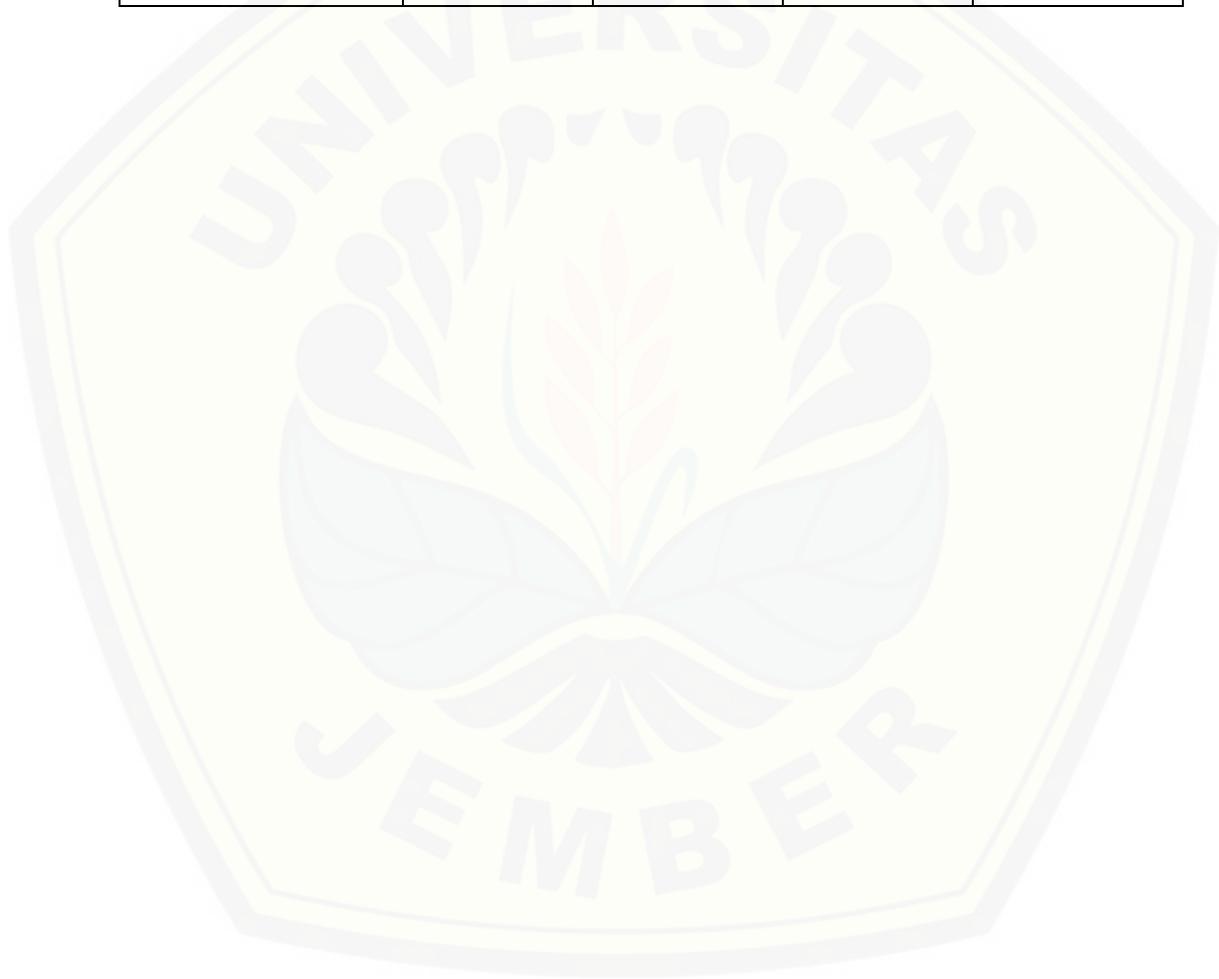
Panjang Luka Infeksi Hari ke-1	Panjang Luka Infekai Hari ke-4	Selisih Panjang Luka Infeksi	Persentase Penyembuhan Luka Infeksi (%)
2,5	0,7	1,8	72
2,5	1,65	0,85	34
2,5	0,95	1,55	62
2,5	1,5	1	40
2,5	1,2	1,3	52
2,5	1,1	1,4	56

Kombinasi Krim Ekstrak Etanol Biji Kakao 8% dan Serbuk Albumin Ikan Gabus

Panjang Luka Infeksi Hari ke-1	Panjang Luka Infekai Hari ke-4	Selisih Panjang Luka Infeksi	Persentase Penyembuhan Luka Infeksi (%)
2,5	0,75	1,75	70
2,5	1	1,5	60
2,5	0,95	1,55	62
2,5	0	2,5	100
2,5	1,75	0,75	30
2,5	0,95	1,55	62

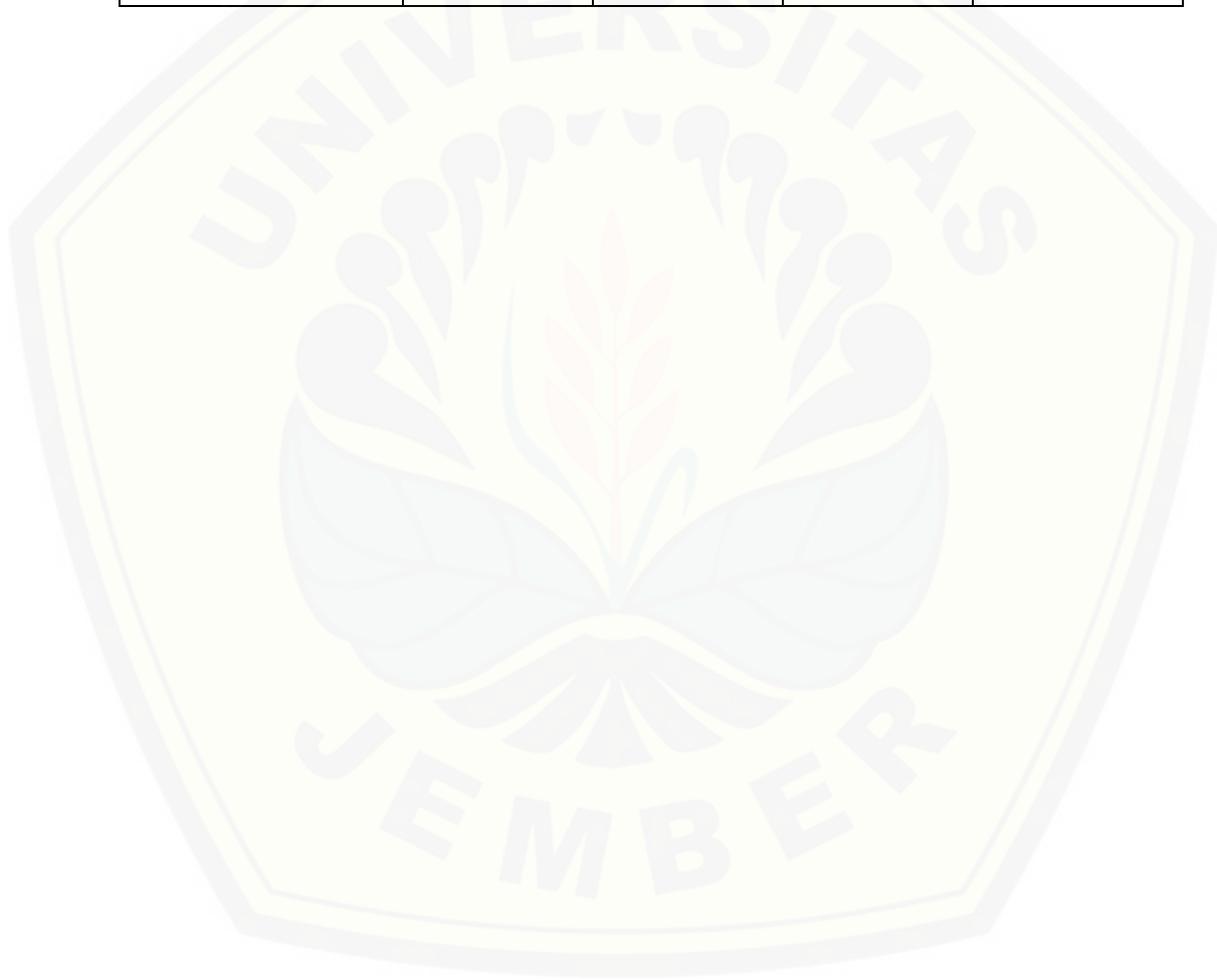
Rerata Persentase Penyembuhan Luka Hari ke-4

Perlakuan	Rerata Panjang Luka Hari ke-1 (cm)	Rerata Panjang Luka Hari ke-4 ± SD (cm)	Selisih Panjang Luka (cm)	Persentase Penyembuhan Luka ± SD (%)
K (Mup)	2,5	0,43 ± 0,37	2,07	83 ± 14,74
P1 (Kak)	2,5	0,72 ± 0,53	1,78	71,2 ± 21,34
P2 (Gab)	2,5	1,18 ± 0,35	1,32	52,8 ± 14
P3 (Kak + Gab)	2,5	0,9 ± 0,56	1,6	64 ± 22,41



Rerata Persentase Penyembuhan Luka Infeksi Hari Ke-7

Perlakuan	Rerata Panjang Luka Hari ke-1 (cm)	Rerata Panjang Luka Hari ke-7 ± SD (cm)	Selisih Panjang Luka (cm)	Persentase Penyembuhan Luka ± SD (%)
K (Mup)	2,5	0 ± 0	2,5	100 ± 0
P1 (Kak)	2,5	0 ± 0	2,5	100 ± 0
P2 (Gab)	2,5	0,25 ± 0,40	2,25	90 ± 15,95
P3 (Kak + Gab)	2,5	0 ± 0	2,5	100 ± 0



Data D. Skor penyembuhan luka infeksi hari ke-7 menggunakan *vancouver scar score* (VSS)

Kelompok		Vaskularisasi	Pigmentasi	Konsistensi	Skor Total
K1		0	0	0	0
K2		0	0	0	0
K3		0	0	0	0
K4		0	0	0	0
K5		0	0	0	0
K6		0	0	0	0
P1.1		0	0	0	0
P1.2		0	0	0	0
P1.3		0	0	0	0
P1.4		0	0	0	0
P1.5		0	0	0	0
P1.6		0	0	0	0
P2.1		0	0	0	0
P2.2		0	3	4	7 (sedang)
P2.3		0	0	0	0
P2.4		0	0	0	0
P2.5		0	0	0	0
P2.6		0	3	0	3 (ringan)
P3.1		0	0	0	0
P3.2		0	0	0	0
P3.3		0	0	0	0
P3.4		0	0	0	0
P3.5		0	0	0	0
P3.6		0	0	0	0

Data E. Skor Kepadatan Serabut Kolagen

Kelompok Kontrol (Krim Mupirosin 2%)

Kelompok	Lapang pandang I	Lapang pandang II	Lapang pandang III	Lapang pandang IV	Jumlah	Rata-Rata \pm SD
K1	2	2	2	3	9	2,25 \pm 0,5
K2	2	2	2	2	8	2 \pm 0
K3	2	2	2	2	8	2 \pm 0
K4	2	3	2	2	9	2,25 \pm 0,5
K5	1	3	2	3	9	2,25 \pm 0,96
K6	1	3	3	1	8	2 \pm 1,15
Jumlah total						12,75
Rata-rata total						2,13 \pm 0,14

Kelompok Perlakuan 1 (Krim ekstrak etanol biji kakao 8%)

Kelompok	Lapang pandang I	Lapang pandang II	Lapang pandang III	Lapang pandnag IV	Jumlah	Rata-Rata \pm SD
P1.1	1	3	2	2	8	2 \pm 0,82
P1.2	2	2	3	1	8	2 \pm 0,82
P1.3	1	1	1	1	4	2 \pm 0
P1.4	1	1	1	1	4	1 \pm 0
P1.5	2	2	2	2	8	1 \pm 0
P1.6	2	2	2	2	8	2 \pm 0
Jumlah total						10
Rata-rata total						1,67 \pm 0,52

Kelompok Perlakuan 2 (Serbuk albumin ikan gabus)

Kelompok	Lapang pandang I	Lapang pandang II	Lapang pandang III	Lapang pandnag IV	Jumlah	Rata-Rata \pm SD
P2.1	2	2	2	3	9	2,25 \pm 0,5
P2.2	3	2	2	3	10	2,5 \pm 0,58
P2.3	2	2	2	2	8	2 \pm 0
P2.4	3	2	2	2	9	2,25 \pm 0,5
P2.5	2	2	2	2	8	2 \pm 0
P2.6	2	2	2	2	8	2 \pm 0
Jumlah total						13
Rata-rata total						2,17 \pm 0,20

Kelompok Perlakuan 3 (Kombinasi rim ekstrak etanol biji kakao dan serbuk albumin ikan gabus)

Kelompok	Lapang pandang I	Lapang pandang II	Lapang pandang III	Lapang pandnag IV	Jumlah	Rata-Rata \pm SD
P3.1	1	3	2	2	8	$2 \pm 0,82$
P3.2	2	2	2	2	8	2 ± 0
P3.3	2	2	2	3	9	$2,25 \pm 0,5$
P3.4	2	2	2	3	9	$2,25 \pm 0,5$
P3.5	3	1	2	3	9	$2,25 \pm 0,96$
P3.6	3	1	2	3	9	$2,25 \pm 0,96$
Jumlah total						13
Rata-rata total						$2,17 \pm 0,13$

Rerata Skor Kepadatan Serabut Kolagen

Perlakuan	Tikus I	Tikus II	Tikus III	Tikus IV	Tikus V	Tikus VI	Rata-Rata \pm SD
K (Mup)	2,25	2	2	2,25	2,25	2	$2,13 \pm 0,14$ (sedang)
P1 (Kak)	2	2	1	1	2	2	$1,67 \pm 0,52$ (sedang)
P2 (Gab)	2,25	2,5	2	2,25	2	2	$2,17 \pm 0,20$ (sedang)
P3 (Kak + Gab)	1,5	2	3	2	2	2,5	$2,17 \pm 0,13$ (sedang)

Data F. Jumlah Fibroblas

Kelompok Kontrol (Krim Mupirosin 2%)

Kelompok	Lapang pandang I	Lapang pandang II	Lapang pandang III	Lapang pandang IV	Lapang pandang V	Jumlah	Rata-rata ± SD
K1	45	26	17	34	42	164	32,8 ± 11,52
K2	18	22	40	36	21	137	27,4 ± 9,89
K3	22	21	36	41	32	152	30,4 ± 8,73
K4	19	35	31	27	24	136	27,2 ± 6,18
K5	29	18	21	19	30	117	23,4 ± 5,68
K6	25	30	46	42	37	180	36 ± 8,57
Jumlah total							177,2
Rata-rata total							29,53 ± 4,49

Kelompok Perlakuan 1 (Krim ekstrak etanol biji kakao 8%)

Kelompok	Lapang pandang I	Lapang pandang II	Lapang pandang III	Lapang pandang IV	Lapang pandang V	Jumlah	Rata-rata ± SD
P1.1	19	21	38	17	15	110	22 ± 9,22
P1.2	27	21	23	11	13	95	19 ± 6,78
P1.3	22	17	27	24	31	121	24,2 ± 5,26
P1.4	15	15	18	17	19	84	16,8 ± 1,79
P1.5	30	33	21	35	24	143	28,6 ± 5,94
P1.6	18	26	15	20	13	92	18,4 ± 5,03
Jumlah total							129
Rata-rata total							21,5 ± 4,38

Kelompok Perlakuan 2 (Serbuk albumin ikan gabus)

Kelompok	Lapang pandang I	Lapang pandang II	Lapang pandang III	Lapang pandang IV	Lapang pandang V	Jumlah	Rata-rata ± SD
P2.1	41	43	30	29	26	169	33,8 ± 7,66
P2.2	19	33	26	20	32	130	26 ± 6,52
P2.3	23	19	27	27	25	121	24,2 ± 3,25
P2.4	18	43	32	28	28	149	29,8 ± 9,01
P2.5	31	23	20	24	28	126	25,2 ± 4,32
P2.6	15	32	33	38	42	160	32 ± 10,32
Jumlah total							171
Rata-rata total							28,5 ± 3,94

Kelompok Perlakuan 3 (Kombinasi krim ekstrak etanol biji kakao 8% dan serbuk albumin ikan gabus)

Kelompok	Lapang pandang I	Lapang pandang II	Lapang pandang III	Lapang pandang IV	Lapang pandang V	Jumlah	Rata-rata ± SD
P3.1	33	28	31	30	35	157	31,4 ± 2,70
P3.2	26	29	37	32	25	149	29,8 ± 4,87
P3.3	23	30	17	29	24	123	24,6 ± 5,22
P3.4	38	40	43	31	43	195	39 ± 4,95
P3.5	26	25	28	29	25	133	26,6 ± 1,82
P3.6	44	23	19	17	24	127	25,4 ± 10,75
Jumlah total							177,4
Rata-rata total							29,47 ± 5,35

Rerata Jumlah Fibroblas

Perlakuan	Tikus I	Tikus II	Tikus III	Tikus IV	Tikus V	Tikus VI	Rata-Rata ± SD
K (Mup)	32,8	27,4	30,4	27,2	23,4	36	29,53 ± 4,49
P1 (Kak)	22	19	24,2	16,8	28,6	18,4	21,5 ± 4,38
P2 (Gab)	33,8	28	24,2	29,8	25,2	32	28,5 ± 3,94
P3 (Kak + Gab)	31,4	29,8	24,6	39	26,6	25,4	29,47 ± 5,35

Data G. Berat Badan Tikus

Kelompok	Berat Badan Tikus (gr)					
	I	II	III	IV	V	VI
K (Mup)	200	215	175	183	200	230
P1 (Kak)	240	193	200	210	170	210
P2 (Gab)	170	220	185	230	215	190
P3 (Kak+Gab)	225	215	205	185	200	200

Lampiran 4. Foto Penyembuhan Luka Infeksi Tikus

Kelompok Kontrol (Krim Mupirosin 2%)



Hari ke-1



Hari ke-7

Kelompok Krim Ekstrak Etanol Biji Kakao 8%

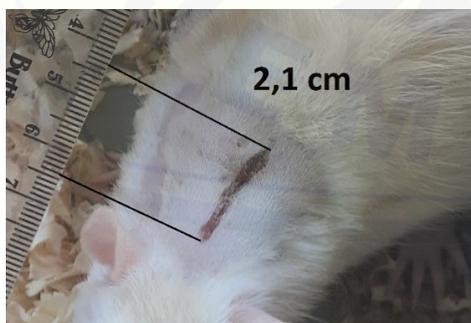


Hari ke-1

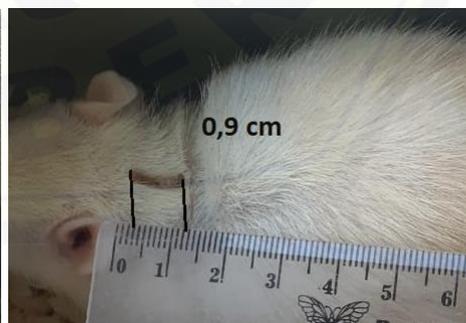


Hari ke-7

Kelompok Serbuk Albumin Ikan Gabus



Hari ke-1



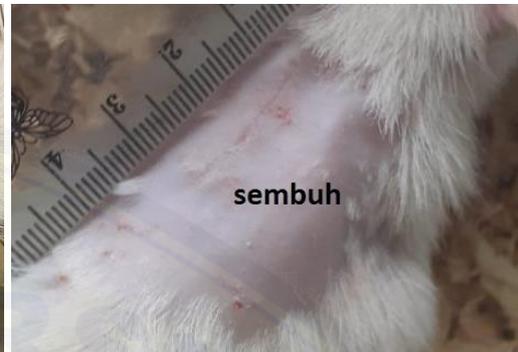
Hari ke-7

Kelompok Kombinasi Krim Ekstrak Etanol Biji Kakao 8% dan Serbuk Albumin Ikan Gabus



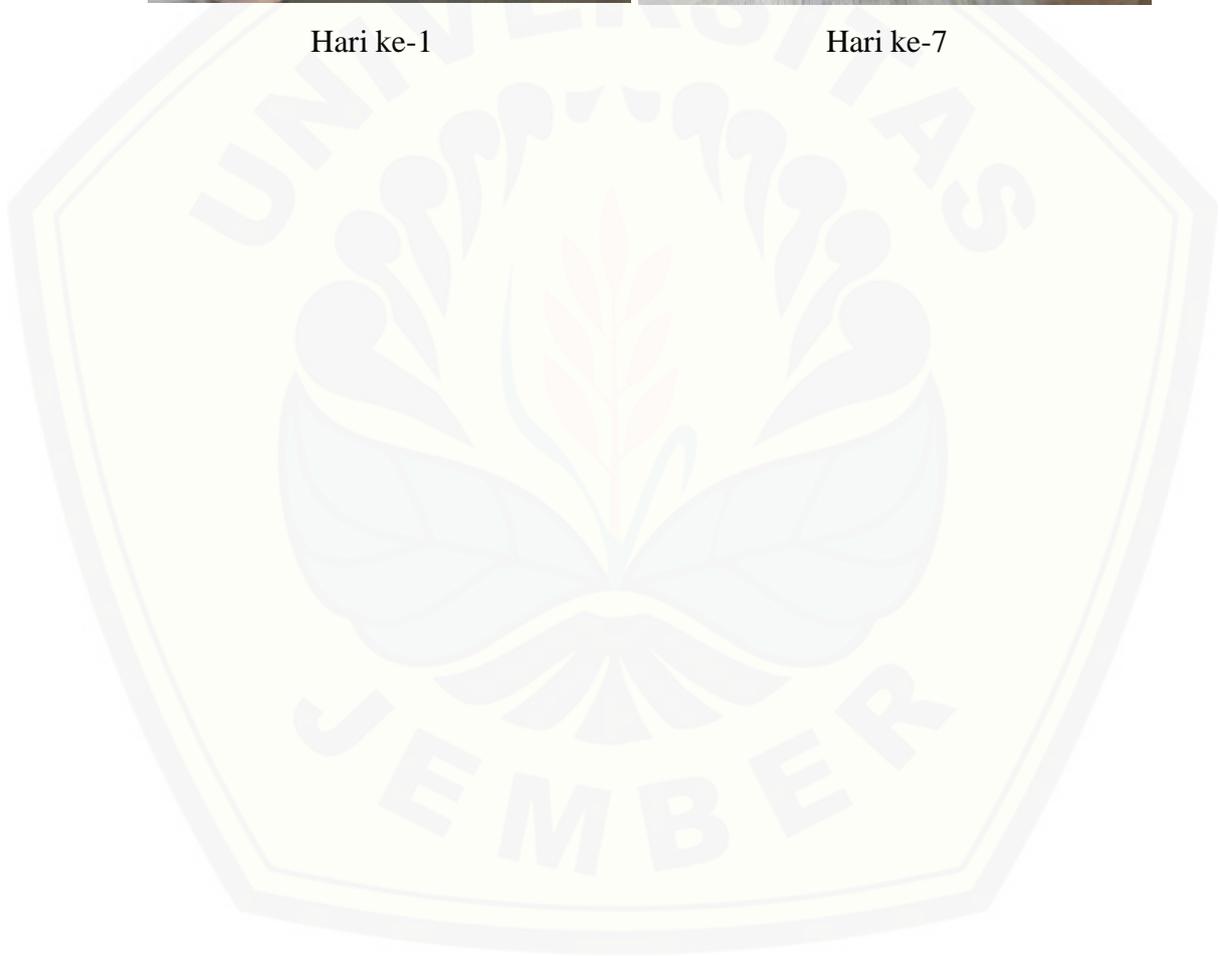
2,1 cm

Hari ke-1



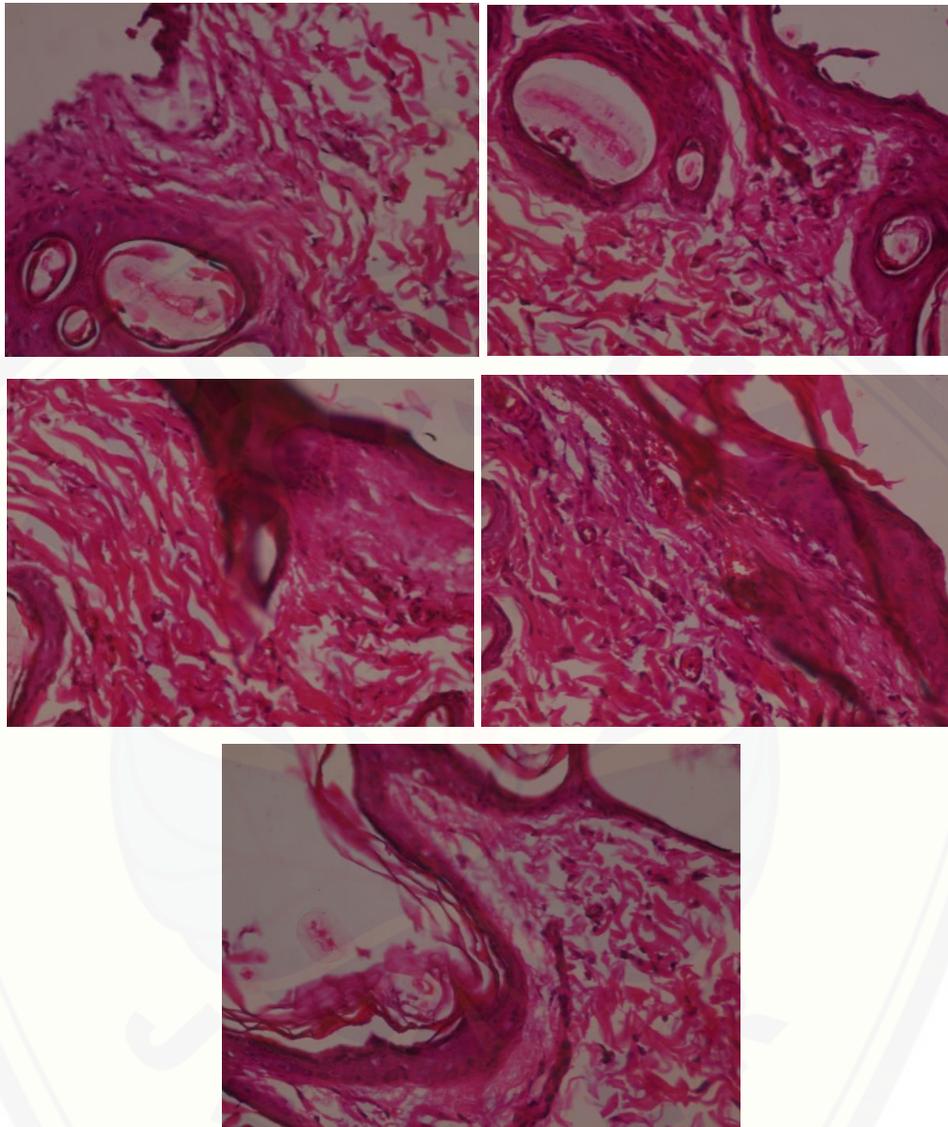
sembuh

Hari ke-7

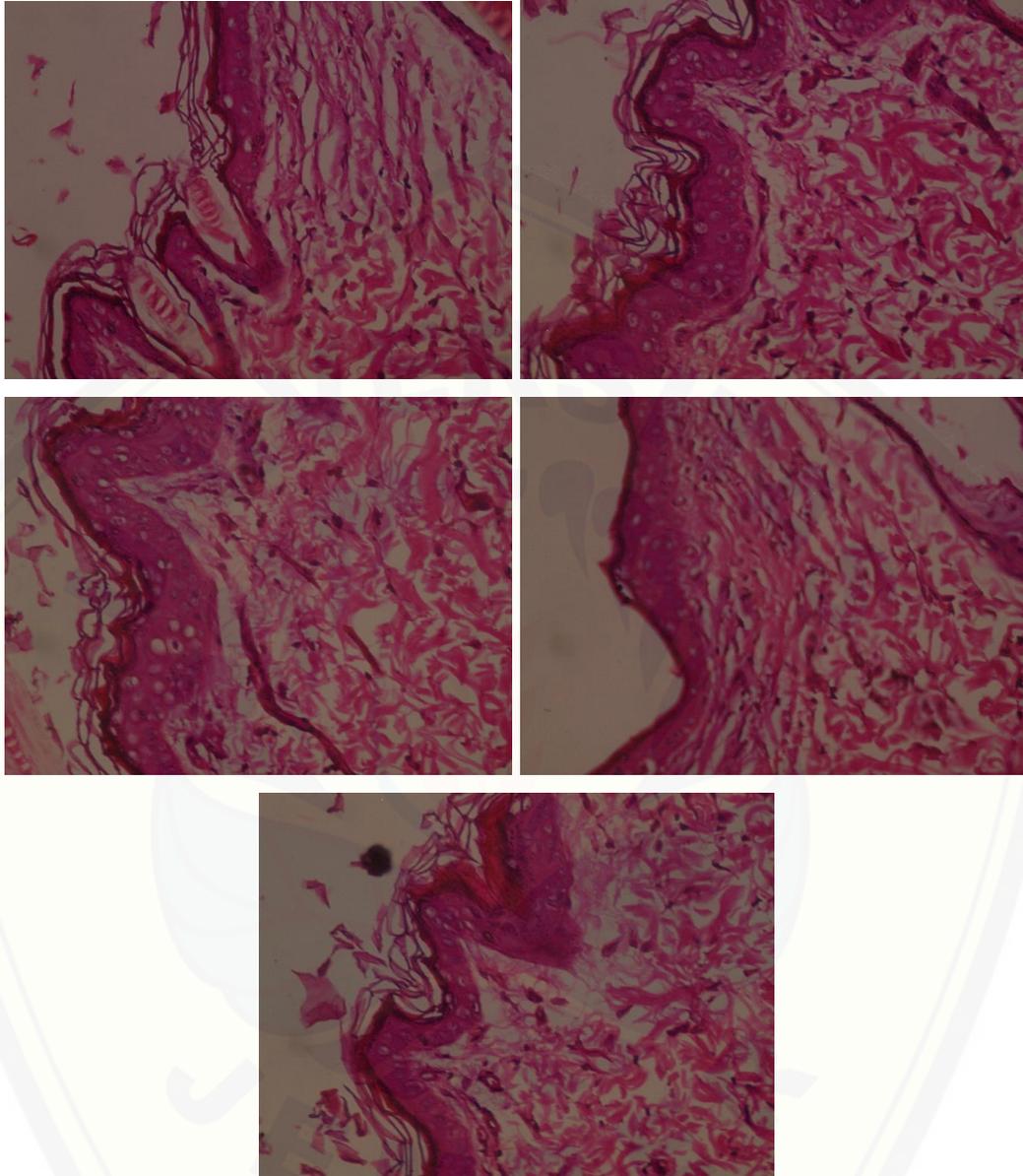


Lampiran 5. Foto Preparat Jaringan Kulit Tikus

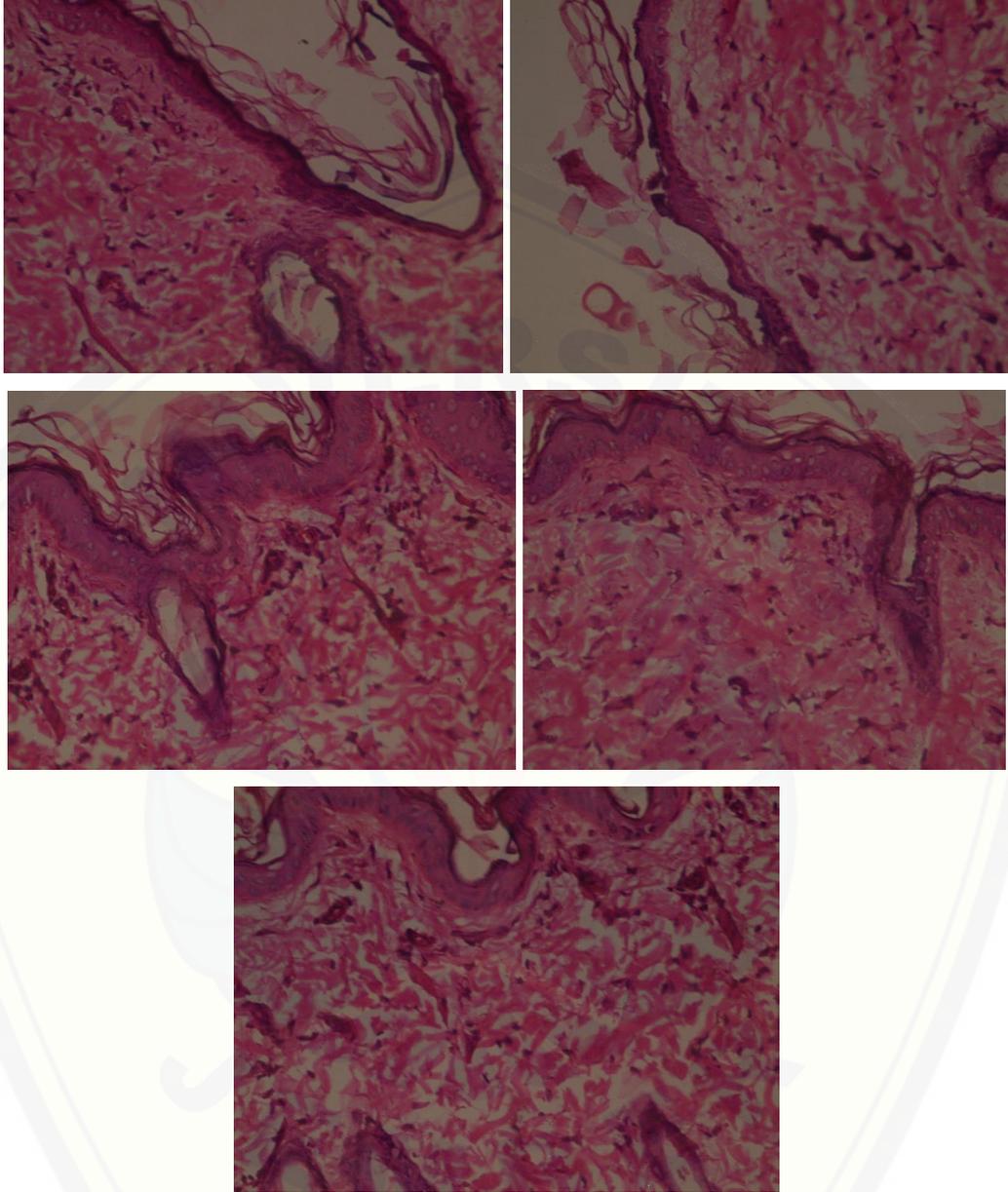
Kelompok Kontrol (Krim Mupirosin 2%)



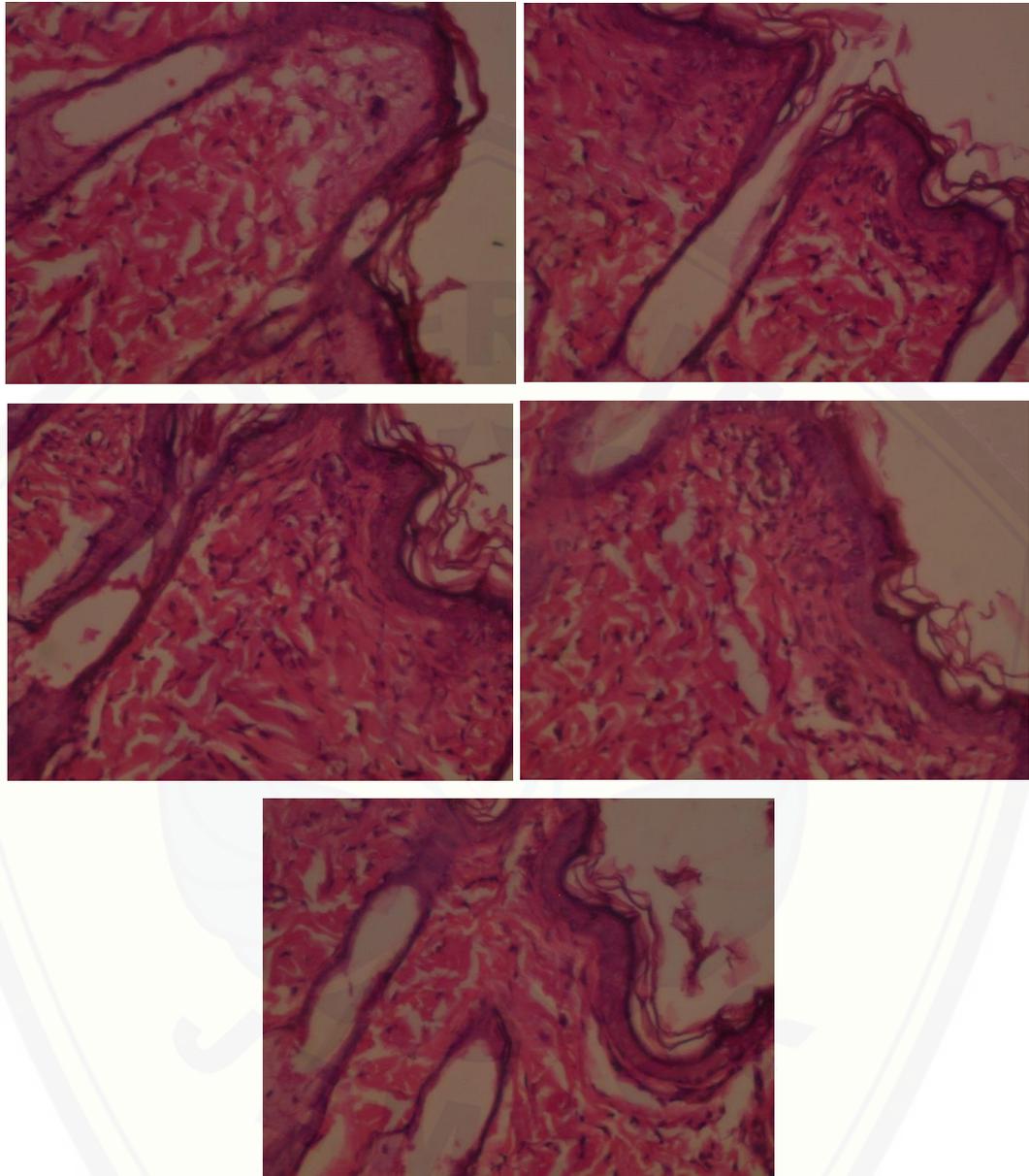
Kelompok Krim Ekstrak Etanol Biji Kakao 8%



Kelompok Serbuk Albumin Ikan Gabus



Kelompok Kombinasi Krim Ekstrak Etanol Biji Kakao 8% dan Serbuk Albumin Ikan Gabus



Lampiran 6. Foto Dokumentasi Penelitian

Keterangan	Gambar
<p>Proses maserasi serbuk biji kakao</p>	<div style="display: flex; flex-wrap: wrap; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;">  <p>(a)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>(b)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>(c)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>(d)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>(e)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>(f)</p> </div> </div> <p>a: perendaman serbuk kakao dalam larutan hexan b: penyaringan residu larutan hexan dan kakao c: residu kakao yang dipisahkan dari larutan hexan d: perendaman residu kakao dalam larutan etanol 90% e: penyaringan filtrat kakao f: evaporasi filtrat kakao dari larutan etanol 90%</p>

Proses pembuatan krim ekstrak etanol biji kakao 8%



(a)

(b)



(c)

(d)

a: fase minyak krim

b: pencampuran fase minyak dan fase air krim

c: pencampuran krim dasar dengan ekstrak etanol biji kakao

d: krim ekstrak etanol biji kakao 8% yang telah jadi

Proses pembuatan serbuk albumin ikan gabus



(a)

(b)



(c)

(d)



(e)

(f)



(g)

(h)



(i)

- a: pengukusan daging ikan gabus
b: ikan gabus yang telah dikukus
c: pemerasan daging ikan gabus
d: ekstrak ikan gabus hasil perasan
e: ekstrak ikan gabus yang telah direndam dengan amonium sulfat 50%
f: ekstrak ikan gabus yang telah direndam dengan amonium sulfat 80%
g: dialisis ekstrak ikan gabus
h: *freeze drying* ekstrak ikan gabus
i: serbuk ikan gabus hasil *freeze drying*

<p>Pemberian perlakuan luka insisi dan injeksi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i></p>	
<p>Pemberian pelakuan terapi dan pengukuran panjang luka</p>	
<p>Proses terminasi dan pengambilan jaringan kulit tikus</p>	

Pengamat histologi jaringan dengan mikroskop



Lampiran 7. Analisis Data

6.1 Persentase Penyembuhan Luka Infeksi

6.1.1 Analisis normalitas *Saphiro Wilk* Persentase Penyembuhan Luka Infeksi

Hari ke-4

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Persentase	1	.194	6	.200*	.958	6	.801
	2	.224	6	.200*	.860	6	.190
	3	.150	6	.200*	.977	6	.935
	4	.263	6	.200*	.910	6	.437

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

a. Lilliefors Significance Correction

Hari ke-7

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Persentase	Kontrol	.	6	.	.	6	.
	Krim Ekstrak Etanol Biji Kakao	.	6	.	.	6	.
	Serbuk Albumin Ikan Gabus	.401	6	.003	.702	6	.007
	Krim dan Serbuk	.	6	.	.	6	.

a. Lilliefors Significance Correction

6.1.2 Analisis homogenitas *Levene* Persentase Penyembuhan Luka Infeksi

Hari ke-4

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Persentase	Based on Mean	.494	3	20	.690
	Based on Median	.291	3	20	.831
	Based on Median and with adjusted df	.291	3	14.848	.831
	Based on trimmed mean	.467	3	20	.708

Hari ke-7

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Persentase	Based on Mean	25.974	3	20	.000
	Based on Median	2.358	3	20	.102
	Based on Median and with adjusted df	2.358	3	5.000	.188
	Based on trimmed mean	19.844	3	20	.000

6.1.3 Analisis *Anova* dan *Kruskal Wallis* Persentase Penyembuhan LukaAnalisis *Anova* Persentase Penyembuhan Luka Hari ke-4**ANOVA**

Persentase

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2921.833	3	973.944	2.841	.064
Within Groups	6856.667	20	342.833		
Total	9778.500	23			

Analisis *Kruskal Wallis* Persentase Penyembuhan Luka Hari ke-7

Ranks			
	Kelompok	N	Mean Rank
Persentase	Kontrol	6	13.50
	Krim Ekstrak Etanol Biji Kakao	6	13.50
	Serbuk Albumin Ikan Gabus	6	9.50
	Krim dan Serbuk	6	13.50
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	Persentase
Kruskal-Wallis H	6.261
df	3
Asymp. Sig.	.100

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

6.2 *Vancouver scar scale* (VSS)6.2.1 Analisis *Mann-Whitney Vancouver scar score* (VSS)

Kelompok Kontrol (Krim mupirosin 2%) dan Kelompok Perlakuan 1 (Krim ekstrak etanol krim kakao 8%)

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
VSS	Kontrol	6	6.50	39.00
	Krim Ekstrak Etanol Biji Kakao	6	6.50	39.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	VSS
Mann-Whitney U	18.000
Wilcoxon W	39.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Kelompok Kontrol (Krim mupirosin 2%) dan Kelompok Perlakuan 2 (Serbuk albumin ikan gabus)

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
VSS	Kontrol	6	5.50	33.00
	Serbuk Albumin Ikan Gabus	6	7.50	45.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	VSS
Mann-Whitney U	12.000
Wilcoxon W	33.000
Z	-1.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.140
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.394 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Kelompok Kontrol (Krim mupirosin 2%) dan Kelompok Perlakuan 3 (Kombinasi ekstrak etanol biji kakao 8% dan serbuk albumin ikan gabus)

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
VSS	Kontrol	6	6.50	39.00
	Krim dan Serbuk	6	6.50	39.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	VSS
Mann-Whitney U	18.000
Wilcoxon W	39.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Kelompok Perlakuan 1 (Krim ekstrak etanol biji kakao 8%) dan Perlakuan 2 (Serbuk albumin ikan gabus)

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
VSS	Krim Ekstrak Etanol Biji Kakao	6	5.50	33.00
	Serbuk Albumin Ikan Gabus	6	7.50	45.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	VSS
Mann-Whitney U	12.000
Wilcoxon W	33.000
Z	-1.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.140
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.394 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Kelompok Perlakuan 1 (Krim ekstrak etanol biji kakao 8%) dan Kelompok Perlakuan 3 (Kombinasi krim ekstrak etanol biji kakao 8% dan serbuk albumin ikan gabus)

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
VSS	Krim Ekstrak Etanol Biji Kakao	6	6.50	39.00
	Krim dan Serbuk	6	6.50	39.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	VSS
Mann-Whitney U	18.000
Wilcoxon W	39.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Kelompok Perlakuan 2 (Serbuk albumin ikan gabus) dan Kelompok Perlakuan 3 (Kombinasi krim ekstrak etanol biji kakao 8% dan serbuk albumin ikan gabus)

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
VSS	Serbuk Albumin Ikan Gabus	6	7.50	45.00
	Krim dan Serbuk	6	5.50	33.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	VSS
Mann-Whitney U	12.000
Wilcoxon W	33.000
Z	-1.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.140
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.394 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

6.3 Kepadatan Serabut Kolagen

6.3.1 Analisis *Mann Whitney* Kepadatan Serabut Kolagen Luka Infeksi

Kelompok Kontrol (Krim mupirosin 2%) dan Kelompok Perlakuan 1 (Krim ekstrak etanol krim kakao 8%)

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kolagen	Kontrol	6	8.50	51.00
	Krim Ekstrak Etanol Biji Kakao	6	4.50	27.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Kolagen
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	27.000
Z	-2.166
Asymp. Sig. (2-tailed)	.030
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.065 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Kelompok Kontrol (Krim mupirosin 2%) dan Kelompok Perlakuan 2 (Serbuk albumin ikan gabus)

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kolagen	Kontrol	6	6.25	37.50
	Serbuk Albumin Ikan Gabus	6	6.75	40.50
	Total	12		

Test Statistics^a

	Kolagen
Mann-Whitney U	16.500
Wilcoxon W	37.500
Z	-.267
Asymp. Sig. (2-tailed)	.789
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.818 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Kelompok Kontrol (Krim mupirosin 2%) dan Kelompok Perlakuan 3 (Kombinasi ekstrak etanol biji kakao 8% dan serbuk albumin ikan gabus)

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kolagen	Kontrol	6	6.00	36.00
	Krim dan Serbuk	6	7.00	42.00
	Total	12		

Test Statistics^a

Kolagen	
Mann-Whitney U	15.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-.561
Asymp. Sig. (2-tailed)	.575
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.699 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Kelompok Perlakuan 1 (Krim ekstrak etanol biji kakao 8%) dan Perlakuan 2 (Serbuk albumin ikan gabus)

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kolagen	Krim Ekstrak Etanol Biji Kakao	6	4.50	27.00
	Serbuk Albumin Ikan Gabus	6	8.50	51.00
	Total	12		

Test Statistics^a

Kolagen	
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	27.000
Z	-2.152
Asymp. Sig. (2-tailed)	.031
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.065 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Kelompok Perlakuan 1 (Krim ekstrak etanol biji kakao 8%) dan Kelompok Perlakuan 3 (Kombinasi krim ekstrak etanol biji kakao 8% dan serbuk albumin ikan gabus)

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kolagen	Krim Ekstrak Etanol Biji Kakao	6	4.17	25.00
	Krim dan Serbuk	6	8.83	53.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Kolagen
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	25.000
Z	-2.447
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.026 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Kelompok Perlakuan 2 (Serbuk albumin ikan gabus) dan Kelompok Perlakuan 3 (Kombinasi krim ekstrak etanol biji kakao 8% dan serbuk albumin ikan gabus)

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kolagen	Serbuk Albumin Ikan Gabus	6	6.33	38.00
	Krim dan Serbuk	6	6.67	40.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Kolagen
Mann-Whitney U	17.000
Wilcoxon W	38.000
Z	-.178
Asymp. Sig. (2-tailed)	.859
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.937 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

6.4 Jumlah Fibroblas

6.4.1 Analisis Normalitas *Saphiro Wilk* Jumlah Fibroblas

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Fibroblas	Kontrol	.183	6	.200*	.979	6	.948
	Krim Ekstrak Etanol Biji Kakao	.216	6	.200*	.937	6	.636
	Serbuk Albumin Ikan Gabus	.237	6	.200*	.912	6	.451
	Krim dan Serbuk	.204	6	.200*	.880	6	.270

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

a. Lilliefors Significance Correction

6.4.2 Analisis Homogenitas *Levene* Jumlah Fibroblas

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Fibroblas	Based on Mean	.070	3	20	.975
	Based on Median	.059	3	20	.981
	Based on Median and with adjusted df	.059	3	15.641	.981
	Based on trimmed mean	.069	3	20	.976

6.4.3 Analisis *Anova* Jumlah Fibroblas

ANOVA

Fibroblas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	268.513	3	89.504	4.287	.017
Within Groups	417.587	20	20.879		
Total	686.100	23			

6.4.4 Analisis *Post Hoc* Bonferroni Jumlah Fibroblas**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Fibroblas

Bonferroni

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	Krim Ekstrak Etanol Biji Kakao	8.0333*	2.6381	.038	.311	15.755
	Serbuk Albumin Ikan Gabus	1.0333	2.6381	1.000	-6.689	8.755
	Krim dan Serbuk	.0667	2.6381	1.000	-7.655	7.789
	Krim Ekstrak Etanol Biji Kakao	-8.0333*	2.6381	.038	-15.755	-.311
Krim Ekstrak Etanol Biji Kakao	Serbuk Albumin Ikan Gabus	-7.0000	2.6381	.092	-14.722	.722
	Krim dan Serbuk	-7.9667*	2.6381	.041	-15.689	-.245
	Serbuk Albumin Ikan Gabus	-1.0333	2.6381	1.000	-8.755	6.689
Serbuk Albumin Ikan Gabus	Krim Ekstrak Etanol Biji Kakao	7.0000	2.6381	.092	-.722	14.722
	Krim dan Serbuk	-.9667	2.6381	1.000	-8.689	6.755
	Krim dan Serbuk	-.0667	2.6381	1.000	-7.789	7.655
Krim dan Serbuk	Krim Ekstrak Etanol Biji Kakao	7.9667*	2.6381	.041	.245	15.689
	Serbuk Albumin Ikan Gabus	.9667	2.6381	1.000	-6.755	8.689
	Krim dan Serbuk	-.0667	2.6381	1.000	-7.789	7.655

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

6.5 Analisis *Anova* Keseragaman Hewan Coba**ANOVA**

Berat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	74.833	3	24.944	.060	.980
Within Groups	8381.667	20	419.083		
Total	8456.500	23			

