



**PENGARUH EKSTRAK DAN SERBUK MENTIMUN (*Cucumis sativus*)
TERHADAP JUMLAH MAKROFAG PADA PENYEMBUHAN
LUKA BAKAR DERAJAT II B PADA TIKUS WISTAR**

SKRIPSI

Oleh

**Lucky Puspitasari
NIM 1220101028**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**



**PENGARUH EKSTRAK DAN SERBUK MENTIMUN (*Cucumis sativus*)
TERHADAP JUMLAH MAKROFAG PADA PENYEMBUHAN
LUKA BAKAR DERAJAT II B PADA TIKUS WISTAR**

SKRIPSI

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

Oleh

Lucky Puspitasari
NIM 122010101028

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah Swt. Atas rahmat dan hidayah yang telah diberikan kepada saya;
2. Ayahanda Sunarto dan Ibunda Sri Wahjuni tercinta yang selalu mendukung, memberikan kasih sayang, harapan, dukungan, serta pengorbanan yang tidak terhingga hingga saya berada pada kondisi saat ini;
3. Kakakku Dedy Wahyu Herdiyanto tercinta yang selalu membantu dan memberikan kebahagiaan yang tiada tara;
4. Pakde Sis dan Ibuk Nanik yang selalu mendukung dan mendoakan saya;
5. Keluarga PANACEA yang bersama-sama menjalani suka dan duka selama 3 tahun ini;
6. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai perguruan tinggi yang telah memberikan ilmunya;
7. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTO

لَتَّبِيْنَ اَمَعَ جَزَهُ اَوْ يُعْطَى مِ سَنَلْ لِ اَنْ رُ : لِمَلْمُ اَلْبُ طَا ، حَمَةَ اَلْبُ طَالِبُ : لُعَلْمُ اَلْبُ طَا

“Orang yang menuntut ilmu berarti menuntut rahmat, orang yang menuntut ilmu berarti menjalankan rukun Islam dan Pahala yang diberikan kepada sama dengan para Nabi”.

(HR. Dailani dari Anas r.a)^{*)}

^{*)} Murtaza M. 2014. *Kumpulan 70 Hadist Pilihan*. Jakarta.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Lucky Puspitasari

nim : 122010101028

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengaruh Ekstrak dan Serbuk Mentimun (*Cucumis sativus*) terhadap Jumlah Makrofag pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat II B pada Tikus Wistar” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahaan 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, 7 Desember 2015

Yang menyatakan,

Lucky Puspitasari

NIM 122010101028

SKRIPSI

**PENGARUH EKSTRAK DAN SERBUK MENTIMUN (*Cucumis sativus*)
TERHADAP JUMLAH MAKROFAG PADA PENYEMBUHAN
LUKA BAKAR DERAJAT II B PADA TIKUS WISTAR**

Oleh

Lucky puspitasari
122010101028

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : dr. Ulfa Elfiah M.Kes, Sp. BP-RE

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Rena Normasari, M.Biomed

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Ekstrak dan Serbuk Mentimun (*Cucumis sativus*) terhadap Jumlah Makrofag pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat II B pada Tikus Wistar” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Senin, 21 Desember 2015

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji,

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II

dr. Muh. Hasan, M.Kes, Sp.OT
NIP 196904111999031001

dr. Bagus Hermansyah, M.Biomed
NIP 198304052008121001

Dosen Penguji III,

Dosen Penguji IV,

dr. Ulfa Elfiah, M.Kes, Sp.BP-RE
NIP 197607192001122001

dr. Rena Normasari, M.Biomed
NIP 198305122008122002

Mengesahkan,

Dekan,

dr. Enny Suswati, M.Kes
NIP 197002141999032001

RINGKASAN

Pengaruh Ekstrak dan Serbuk Mentimun (*Cucumis sativus*) terhadap Jumlah Makrofag pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat II B pada Tikus Wistar; Lucky Puspitasari, 122010101028; 2015: 58 halaman; Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Luka bakar merupakan salah satu trauma yang sering terjadi pada kehidupan sehari-hari, baik karena kelalaian individu maupun sebagai kecelakaan massal. Berdasarkan data terakhir, terdapat 265.000 kematian setiap tahun disebabkan oleh luka bakar. Perawatan lokal luka bakar idealnya menggunakan bahan yang bertindak sebagai antimikroba dan dapat bertindak juga sebagai antiinflamasi, serta memberikan suasana *moist* sehingga akan mempercepat proses penyembuhan. Perawatan luka bakar umumnya menggunakan krim topikal silver sulfadiazine (SSD) atau krim gentamicin topical, tetapi ada kemungkinan kecil terjadi alergi dan keracunan perak pada penggunaan SSD dan juga mulai muncul resistensi terhadap penggunaan gentamicin. Ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) terbukti dapat mempercepat proses epitelisasi dan kontraksi luka secara signifikan pada perawatan luka sayat. Kandungan mentimun yang sesuai untuk *dressing* luka bakar meliputi air, flavonoid, tanin, triterpen, saponin, vitamin A, C, K, karoten, dan zeaxantin karena memiliki sifat sebagai antimikroba, antiinflamasi, antioksidan, dan dapat memberikan suasana *moist* pada luka bakar dan mampu mempercepat penyembuhan luka bakar. Sedangkan kandungan yang diduga meningkatkan jumlah makrofag dalam penyembuhan luka bakar adalah komponen antimikroba seperti flavonoid, tanin, dan triterpen, serta agen keratolitik, yaitu asam salisilat dan asam glikolat. Penelitian ini membuktikan pengaruh gel ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) dan gel serbuk mentimun (*Cucumis sativus*) terhadap jumlah makrofag pada penyembuhan luka bakar derajat II B tikus Wistar pada hari ke-3 dan ke-10.

Dalam penelitian ini, jenis penelitian yang dilakukan adalah *true experimental* dengan rancangan *post test only control group*. Pengambilan sampel dilakukan secara acak dengan sampel penelitiannya tikus putih Wistar jantan usia 2-3 bulan, dengan berat 100-200 gram. Jumlah kelompok penelitian ada 8 yaitu kelompok tikus yang diberi luka bakar yang diterminasi pada akhir hari ke-3 dan ke-10, dengan masing-masing kelompok terdiri dari kelompok kontrol negatif yang hanya diberi normal salin, kelompok kontrol positif dengan pemberian gentamicin topikal, kelompok perlakuan 1 dengan pemberian gel ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*), serta kelompok perlakuan 2 dengan pemberian gel serbuk mentimun (*Cucumis sativus*). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah makrofag yang dilihat secara mikroskopik setelah diberikan gel ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*), gel serbuk mentimun (*Cucumis sativus*), gentamicin topikal, dan normal salin. Analisis data yang digunakan adalah uji *One Way ANOVA* yang signifikan dengan $p < 0,05$.

Berdasarkan hasil penelitian, jumlah makrofag yang paling banyak, baik pada kelompok terminasi hari ke-3 dan hari ke-10, terdapat pada kelompok perlakuan dengan gel serbuk mentimun (*Cucumis sativus*). Kemudian diikuti oleh kelompok perlakuan dengan gel ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*), kelompok kontrol positif dengan gentamicin topikal, dan yang terakhir kelompok kontrol negatif yang hanya menggunakan normal salin. Menurut hasil analisis data, diperoleh hasil bahwa kelompok gel ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) dan gel serbuk (*Cucumis sativus*) mempunyai perbedaan yang bermakna terhadap kelompok gentamicin topikal maupun normal salin. Hal ini menunjukkan bahwa gel ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) dan gel serbuk mentimun (*Cucumis sativus*) memiliki potensi sebagai *dressing* luka bakar.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah Swt. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak dan Serbuk Mentimun (*Cucumis sativus*) terhadap Jumlah Makrofag pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat II B pada Tikus Wistar”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

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

1. dr. Enny Suswati, M.Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Ulfa Elfiah, M.Kes., Sp. BP-RE, selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Rena Normasari, M.Biomed, selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
3. dr. Moh. Hasan, M.Kes, Sp.OT dan dr. Bagus Hermansyah, M.Biomed, selaku Dosen Penguji yang telah memberikan petunjuk dan saran penyelesaian untuk menyempurnakan skripsi ini;
4. dr. Rini Riyanti, Sp. PK, selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
5. Ardhina M.N. dan Gabriella A., selaku rekan kerja dalam penelitian;
6. Calysta C. S., yang telah mendukung dan membantu dalam penelitian;
7. Seluruh angkatan 2012 (PANACEA) Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
8. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menerima kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca maupun masyarakat.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.2.1 Rumusan Masalah Umum	4
1.2.2 Rumusan Masalaha Khusus	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Luka Bakar	7
2.1.1 Definisi.....	7
2.1.2 Patofisiologi	7

2.1.3	Klasifikasi Luka Bakar	9
2.1.4	Fase Penyembuhan Luka Bakar	12
2.1.5	Perawatan Luka Bakar	14
2.2	Makrofag	17
2.2.1	Definisi	17
2.2.2	Fungsi Makrofag	18
2.2.3	Proses fagositosis	19
2.3	Mentimun	20
2.3.1	Taksonomi Mentimun (<i>Cucumis sativus</i>)	20
2.3.2	Morfologi	21
2.3.3	Kandungan	22
2.4	Kerangka Konseptual	24
2.5	Hipotesis	25
BAB 3.	METODE PENELITIAN	26
3.1	Jenis Penelitian	26
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian	26
3.3	Populasi dan Sampel Penelitian	26
3.3.1	Populasi	26
3.3.2	Sampel	26
3.3.3	Besar Sampel Penelitian	27
3.4	Variabel Penelitian	27
3.4.1	Variabel Bebas	27
3.4.2	Variabel Terikat	28
3.4.3	Variabel Terkendali	28
3.5	Definisi Operasional	28
3.6	Rancangan Penelitian	30
3.7	Alat dan Bahan	32
3.7.1	Alat	32
3.7.2	Bahan	33

3.8	Prosedur Penelitian	33
3.8.1	Pemilihan Sampel Tikus	33
3.8.2	Persiapan Sampel Tikus	33
3.8.3	Pembuatan Ekstrak Mentimun (<i>Cucumis sativus</i>)	34
3.8.4	Pembuatan Gel Ekstrak Mentimun (<i>Cucumis sativus</i>) ..	34
3.8.5	Pembuatan Serbuk Mentimun (<i>Cucumis sativus</i>)	35
3.8.6	Pembuatan Gel Serbuk Mentimun (<i>Cucumis sativus</i>) ...	35
3.8.7	Tahap Perlakuan	36
3.8.8	Pembuatan Preparat Histopatologi	37
3.8.9	Pengamatan Histopatologi	37
3.9	Analisis Data	38
3.10	Alur Penelitian	39
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	40
4.1	Hasil Penelitian	40
4.2	Analisis Data	45
4.3	Pembahasan	47
BAB 5.	PENUTUP	53
5.1	Kesimpulan	53
5.2	Saran	53
DAFTAR PUSTAKA		
LAMPIRAN		

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Rata-Rata Jumlah Makrofag Terminasi Akhir Hari Ke-3	42
4.2 Rata-Rata Jumlah Makrofag Terminasi Akhir Hari Ke-10	44
4.3 Hasil Uji <i>Post Hoc Multiple Comparison Test</i> dengan Metode <i>LSD</i> pada Terminasi Hari Ke-3	46
4.4 Hasil Uji <i>Post Hoc Multiple Comparison Test</i> dengan Metode <i>LSD</i> pada Terminasi Hari Ke-10	47

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Gambar Skematis dan Gambar Klinis Zona Cidera pada Luka Bakar ..	9
2.2 Kedalaman Luka Bakar	9
2.3 Gambar Skematis dan Gambar Klinis Luka Bakar Derajat I	10
2.4 Gambar Skematis dan Gambar Klinis Luka Bakar Derajat II A	11
2.5 Gambar Skematis dan Gambar Klinis Luka Bakar Derajat II B	11
2.6 Gambar Skematis dan Gambar Klinis Luka Bakar Derajat III	12
2.7 Fase Penyembuhan Luka	12
2.8 Estimasi Luas Luka Bakar dengan Menggunakan Rumus <i>Rule Of Nine</i>	16
2.9 Monosit dan Makrofag	18
2.10 Macam-Macam Bentuk dan Varietas Mentimun	21
2.11 Kerangka Konseptual	24
3.1 Lapang Pandang yang Digunakan untuk Menghitung	29
3.2 Rancangan Penelitian	30
3.3 Alur Penelitian	39
4.1 Luka Bakar pada Kulit Tikus	40
4.2 Makrofag pada Sediaan Histopatologi Kulit Tikus Terminasi Hari Ke-3	41
4.3 Grafik Rata-Rata Jumlah Makrofag Hari Ke-3 dan Ke-10	43
4.4 Makrofag pada Sediaan Histopatologi Kulit Tikus Terminasi Hari Ke-10	44

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Keterangan Persetujuan Etik	59
B. Hasil Analisis Data	61
B1. Analisis Deskriptif Terminasi Hari Ke-3	61
B2. Analisis Uji Normalitas dengan <i>Shapiro-Wilk</i> Terminasi Hari Ke-3	62
B3. Analisis Uji Homogenitas dengan <i>Levene</i> Terminasi Hari Ke-3	63
B4. Analisis Uji Signifikansi dengan <i>One Way ANOVA</i> Terminasi Hari Ke-3	63
B5. Analisis Uji <i>Pos Hoc</i> dengan <i>LSD</i> Terminasi Hari Ke-3	63
B6. Analisis Deskriptif Terminasi Hari Ke-10	64
B7. Analisis Uji Normalitas dengan <i>Shapiro-Wilk</i> Terminasi Hari Ke-10	66
B8. Analisis Uji Homogenitas dengan <i>Levene</i> Terminasi Hari Ke-10	66
B9. Analisis Uji Signifikansi dengan <i>One Way ANOVA</i> Terminasi Hari Ke-10	66
B10. Analisis Uji <i>Pos Hoc</i> dengan <i>LSD</i> Terminasi Hari Ke-10	66
B11. Analisis Uji Normalitas K(-) Terminasi Hari Ke-3 dan Ke-10 dengan <i>Saphiro-Wilk</i>	67
B12. Analisis Signifikansi Perbandingan K(-) Terminasi Hari Ke-3 dan Ke 10 dengan <i>Independent T-Test</i>	67
B13. Analisis Uji Normalitas P1 Terminasi Hari Ke-3 dan Ke-10 dengan <i>Saphiro-Wilk</i>	68
B14. Analisis Signifikansi Perbandingan P1 Terminasi Hari	

Ke-3 dan Ke 10 dengan <i>Independent T-Test</i>	68
B15. Analisis Signifikansi Perbandingan P1 Terminasi Hari Ke-3 dan Ke 10 dengan <i>Man Whitney</i>	69
B16. Analisis Uji Normalitas P2 Terminasi Hari Ke-3 dan Ke-10 dengan <i>Saphiro-Wilk</i>	69
B17. Analisis Signifikansi Perbandingan P2 Terminasi Hari Ke-3 dan Ke 10 dengan <i>Independent T-Test</i>	70
B18. Analisis Uji Normalitas K(+) Terminasi Hari Ke-3 dan Ke-10 dengan <i>Saphiro-Wilk</i> dengan	70
B19. Analisis Signifikansi Perbandingan K(+) Terminasi Hari Ke-3 dan Ke 10 <i>Independent T-Test</i>	71
C. Tabel Pengamatan Jumlah makrofag	72
D. Gambar Alat, Bahan, dan Proses Penelitian	67

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka bakar merupakan salah satu trauma yang sering terjadi pada kehidupan sehari-hari, baik karena kelalaian individu maupun sebagai kecelakaan massal. Berdasarkan data terakhir, terdapat 265.000 kematian setiap tahun disebabkan oleh luka bakar, bahkan pada tahun 2004, terjadi sekitar sebelas juta kejadian luka bakar yang memerlukan perawatan di rumah sakit. Kebanyakan kasus luka bakar terjadi di negara-negara berkembang dengan pendapatan rendah hingga menengah, dan setengah dari kasus tersebut terjadi di negara-negara Asia Tenggara, termasuk Indonesia (WHO, 2014).

Pada tahun 2013, terdapat 450.000 kasus luka bakar yang mendapat perawatan medis dan 40.000 dari jumlah tersebut mendapat perawatan intensif di rumah sakit. Di Indonesia belum ada angka pasti mengenai keseluruhan jumlah korban luka bakar. Data dari unit luka bakar Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo Jakarta didapat 275 kasus luka bakar pada tahun 2011-2012 (American Burn Association, 2007; Hidayat, 2013).

Trauma karena luka bakar dapat terjadi dimana saja. Sekitar 72% kecelakaan yang menyebabkan luka bakar terjadi di rumah, 9% di tempat kerja, 5% di jalan, 5% di tempat rekreasi, dan 9% lainnya. Sedangkan penyebab terjadinya luka bakar 43% karena kobaran api, 34% uap panas, 9% kontak, 4% listrik, 3% bahan kimia, dan 7% lainnya. Hal ini berarti semua orang berisiko mengalami luka bakar, utamanya wanita dan anak-anak yang memiliki risiko kejadian luka bakar yang tinggi karena sebagian besar kasus (60%) disebabkan oleh air panas yang terjadi akibat kecelakaan rumah tangga dan umumnya merupakan luka bakar parsial, tetapi dapat juga mengenai seluruh ketebalan kulit (derajat III) (American Burn Association, 2007; WHO, 2014).

Luka bakar adalah trauma pada kulit atau jaringan lain yang disebabkan oleh panas ataupun radiasi, listrik maupun kontak langsung dengan bahan kimia dan dapat diperberat dengan adanya cairan yang mudah terbakar contohnya bensin, gas kompor rumah tangga, cairan dari tabung pemantik api, sehingga menyebabkan luka bakar pada seluruh atau sebagian tebal kulit (WHO, 2014).

Luka bakar dibagi menjadi tiga derajat, yaitu derajat I (*epidermal*), derajat II (*partial thickness*), dan derajat III (*full thickness*). Semua luka bakar (kecuali derajat I), memerlukan perawatan kompleks karena luka bakar merupakan luka terbuka yang merusak epidermis dan jaringan dibawahnya sehingga dapat menimbulkan proses inflamasi, infeksi, dan pada kondisi yang lebih berat akan menyebabkan terjadinya penguapan cairan tubuh disertai panas atau energi. Oleh karena itu, luka bakar memerlukan penanganan yang cepat dan khusus (American Burn Association, 2007; WHO, 2014).

Perawatan lokal luka bakar menggunakan bahan yang bertindak sebagai antimikroba, antiinflamasi, dan antioksidan, serta memberikan suasana *moist* sehingga akan mempercepat proses penyembuhan. Di berbagai fasilitas kesehatan, perawatan luka bakar umumnya menggunakan krim topikal silver sulfadiazin (SSD). Meskipun SSD telah terbukti aman dalam penggunaannya sebagai krim topikal untuk perawatan luka, tetap ada kemungkinan kecil terjadi alergi dan keracunan perak. Selain krim topikal SSD, gel gentamicin topikal juga sering dipakai sebagai profilaksis infeksi pada kasus luka bakar karena mempunyai spektrum luas terhadap bakteri gram negatif, tetapi saat ini juga sudah mulai terdapat resistensi terhadap gentamicin. Oleh karena itu, hingga saat ini, masyarakat masih terus berusaha mengembangkan berbagai macam pengobatan, termasuk dengan menggunakan bahan alami atau herbal sebagai agen terapeutik termasuk untuk merawat luka.

Mentimun (*Cucumis sativus*) adalah salah satu bahan makanan yang dikenal oleh masyarakat luas. Selain dikonsumsi sebagai bahan makanan, mentimun juga dikonsumsi masyarakat sebagai obat, salah satunya untuk mengatasi hiperkolesterolemia dan hipertensi. Mentimun yang kandungan airnya tinggi

digunakan masyarakat untuk mendinginkan badan dan bermanfaat untuk mengatasi iritasi kulit. Sebagai kosmetik, mentimun sering dipakai masker wajah, dibuat krim, dan sabun kecantikan. Mentimun bermanfaat untuk membuat kulit tetap halus dan putih (Uzodike dan Onouha, 2009).

Selain fungsi yang telah disebutkan di atas, terdapat penelitian yang membuktikan efektivitas mentimun untuk perawatan luka. Pada penelitian tersebut ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) terbukti dapat mempercepat proses epitelisasi dan kontraksi luka secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol yang tanpa perlakuan (Patil, *et al.*, 2012).

Pada sebuah penelitian lain tentang luka bakar juga telah dibuktikan efektifitas mentimun untuk mempercepat penyembuhan luka bakar akibat paparan asam pada kornea marmut. Berdasarkan penelitian tersebut, terbukti ekstrak mentimun beserta kulitnya secara signifikan mempercepat penyembuhan luka bakar karena asam pada kornea marmut. Kandungan mentimun berupa asam laktat, asam glikolat, serta asam salisilat diduga peneliti sebagai komponen yang dapat memicu percepatan dalam kaskade penyembuhan luka bakar (Uzodike dan Onouha, 2009).

Mentimun mengandung senyawa flavonoid, tanin, triterpen, saponin, dan vitamin C yang dapat berfungsi sebagai antimikroba sehingga membantu membunuh bakteri dan mikroba lain pada luka bakar. Semakin banyak bakteri yang dibunuh, semakin banyak juga hasil degradasi bakteri berupa LPS yang akan berfungsi sebagai kemoatraktan makrofag sehingga semakin banyak juga makrofag yang memasuki lokasi peradangan. Selain senyawa tersebut, mentimun juga mengandung asam α -hidroksil, yaitu asam laktat dan asam glikolat yang dapat menghancurkan sel-sel mati dan asam β -hidroksil, yaitu asam salisilat yang berfungsi sebagai antiseptik, antiinflamasi, antinyeri, dan komponen keratolitik yang berfungsi untuk *debridement* alami sehingga dapat merangsang penarikan makrofag lebih banyak lagi (Uzodike dan Onouha, 2009; Patil *et al.*, 2012; Whfoods.org, 2015).

Makrofag dapat melepaskan GM-CSF yang akan menstimulasi proliferasi, *survival*, maturasi, serta aktivasi granulosit dan makrofag sehingga akan semakin

banyak lagi jumlah makrofag yang ada di lokasi radang. Jika terdapat banyak makrofag di lokasi peradangan, partikel asing (bakteri) dan sel-sel yang mati dapat difagositosis dalam waktu yang lebih singkat dan semakin banyak *growth factor* yang dilepaskan sehingga proses penyembuhan luka dapat segera memasuki fase proliferasi dan mempercepat proses penyembuhan luka bakar, serta tidak terjadi inflamasi yang berlebihan (Hidayat, 2013).

Berdasarkan penelitian tersebut, telah terbukti efektivitas mentimun sebagai antiinflamasi, antioksidan, serta antimikroba, dan fungsi tersebut yang dibutuhkan sebagai bahan yang efektif sebagai media pembalut luka untuk luka bakar, tapi hingga saat ini belum ada penelitian lebih lanjut mengenai efektivitas dari mentimun (*Cucumis sativus*) sebagai media pembalut luka terhadap penyembuhan luka bakar derajat II B dilihat dari perubahan histopatologinya.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, rumusan masalah penelitian ini adalah sebagai berikut.

1.2.1 Rumusan Masalah Umum

Bagaimana pengaruh gel ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) dan gel serbuk mentimun (*Cucumis sativus*) terhadap jumlah makrofag pada penyembuhan luka bakar derajat II B tikus Wistar?

1.2.2 Rumusan Masalah Khusus

- a) Bagaimana perbandingan jumlah makrofag pada luka bakar derajat II B antara pemberian gel ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) dengan gel serbuk mentimun (*Cucumis sativus*) pada tikus Wistar pada hari ke-3?

- b) Bagaimana perbandingan jumlah makrofag pada luka bakar derajat II B antara pemberian gel ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) dengan gel serbuk mentimun (*Cucumis sativus*) pada tikus Wistar pada hari ke-10?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah tersebut, tujuan dari makalah ini adalah sebagai berikut.

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan pengaruh gel ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) dan gel serbuk mentimun (*Cucumis sativus*) terhadap jumlah makrofag pada penyembuhan luka bakar derajat II B tikus Wistar.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a) Membuktikan perbedaan jumlah makrofag pada luka bakar derajat II B antara pemberian gel ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) dengan gel serbuk mentimun (*Cucumis sativus*) pada tikus Wistar pada hari ke-3.
- b) Membuktikan perbedaan jumlah makrofag pada luka bakar derajat II B antara pemberian gel ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) dengan gel serbuk mentimun (*Cucumis sativus*) pada tikus Wistar pada hari ke-10.

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a) Menambah pengetahuan peneliti mengenai pengaruh pemberian gel ekstrak dan serbuk mentimun (*Cucumis sativus*) terhadap jumlah makrofag pada penyembuhan luka bakar derajat II B kulit tikus Wistar.

- b) Memberikan sumbangan bagi ilmu pengetahuan dan teknologi kedokteran bahwa gel ekstrak dan serbuk mentimun (*Cucumis sativus*) dapat digunakan sebagai salah satu pengobatan luka bakar di masa mendatang.
- c) Memberikan sumbangan pengetahuan bagi perkembangan penelitian dalam bidang penyembuhan luka.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Luka Bakar

2.1.1 Definisi

Luka bakar adalah kerusakan atau kehilangan jaringan yang disebabkan oleh kontak dengan sumber panas seperti api, air panas, bahan kimia, listrik, dan radiasi (Moenadjat, 2001).

Luka bakar memiliki berbagai penyebab antara lain thermal, bahan kimia, listrik, radiasi, dan cedera karena suhu yang sangat rendah. Luka bakar thermal yang paling sering terjadi bisa disebabkan kobaran api, air panas, uap panas, dan kontak dengan logam panas. Luka bakar bahan kimia bisa disebabkan asam atau basa kuat yang digunakan industri, serta bahan pembersih di rumah tangga. Luka bakar listrik terjadi saat ada kontak dengan arus listrik sehingga mengalir tubuh. Luka bakar radiasi disebabkan kontak dengan bahan radioaktif di industri atau dunia kedokteran, misalnya radioterapi (Moenadjat, 2001).

2.1.2 Patofisiologi

Derajat luka bakar dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain konduksi jaringan yang terkena, waktu kontak, dan pigmentasi permukaan. Selain itu respon setiap jaringan berbeda, seperti saraf dan pembuluh darah yang kurang tahan terhadap konduksi, sedangkan tulang adalah jaringan yang paling tahan. Secara keseluruhan, sel tubuh dapat menahan temperatur hingga 44⁰C. Pada temperatur 44⁰C hingga 51⁰C terjadi kerusakan jaringan yang berlipat ganda untuk setiap kenaikan suhu tiap derajat celcius dan waktu kontak yang dapat ditoleransi. Pada temperatur diatas 51⁰C terjadi

denaturasi protein sehingga terjadi kerusakan jaringan hebat. Temperatur diatas 70°C kerusakan seluler secara cepat (Sabiston, 2009).

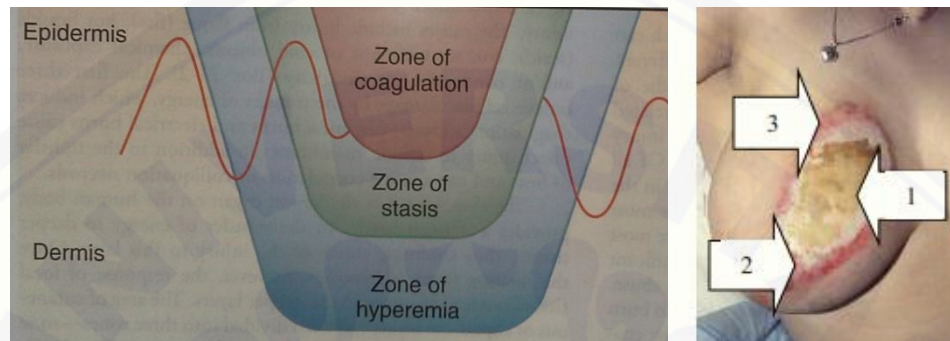
Kulit yang mengalami trauma panas mengalami tiga fase yaitu cedera fisik, cedera biokimia, dan respon penolakan jaringan nekrotik. Fase pertama, cedera fisik, meliputi cedera langsung dan tidak langsung. Cedera langsung terjadi segera setelah permukaan kulit terpapar sumber panas yang menghasilkan nekrosis pada kulit terpapar. Panas tidak bisa segera hilang dari kulit walau sumber panas sudah dihilangkan dan berlanjut menghasilkan efek panas kumulatif cedera tidak langsung yang berlangsung sekitar 6-12 jam (Hidayat, 2013).

Fase kedua, cedera biokimia lokal melalui dua tahapan yaitu reaksi biokimia panas dan reaksi radang biokimia. Tahap reaksi biokimia panas terjadi 1-2 jam pasca luka bakar. Tahap ini dimulai dengan peningkatan permeabilitas kapiler yang signifikan pada jaringan yang cedera, berdekatan dengan jaringan nekrosis akibat cedera langsung. Hal ini mengakibatkan eksudasi cairan intravaskuler ke arah permukaan kulit dan ruang interstisial selama iskemi jaringan serta terjadi pelepasan substansi kimia secara meluas tidak hanya di lokal jaringan cedera tetapi juga merusak jaringan sekitarnya. Dalam 2 jam hingga 72 jam pasca luka bakar, reaksi biokimia panas berlanjut menjadi reaksi radang biokimia berupa rangkaian reaksi radang yang mempengaruhi jaringan sehat di sekitar cedera (Hidayat, 2013).

Pada 72 jam pasca luka bakar, jaringan luka memasuki fase reaksi penolakan, dimana respon jaringan sehat yang menyebabkan kehancuran dan jaringan nekrosis dan sel pada lesi. Proses ini didasari tiga patogenesis pada jaringan cedera yaitu disintegrasi histosit nekrotik, regenerasi histiosit sehat, dan infeksi mikroba (Hidayat, 2013).

Secara histopatologik, luka bakar memiliki tiga area terlibat yaitu zona koagulasi, zona stasis, dan zona hiperemi. Zona koagulasi terletak dekat dengan sumber panas dan meliputi jaringan mati yang membentuk eskar luka bakar. Zona stasis terletak dekat daerah nekrosis dan viabel tetapi beresiko mengalami nekrosis dan kerusakan iskemik karena gangguan perfusi. Zona hiperemi merupakan jaringan

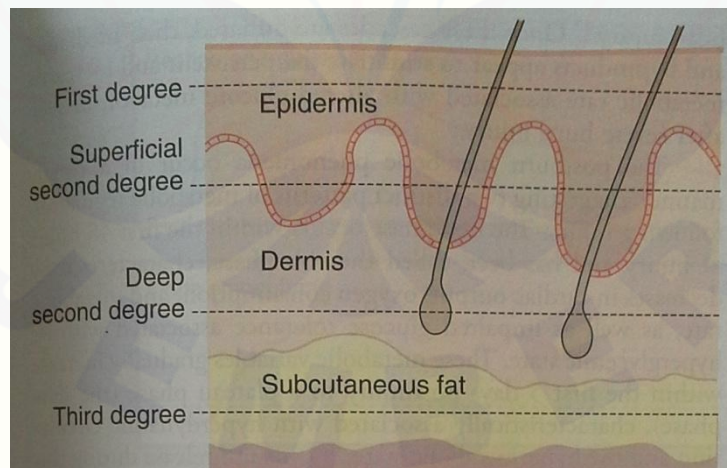
yang relatif sehat dengan peningkatan aliran darah dan vasodilatasi sebagai respon terhadap cedera. Ketiga zona tersebut berbentuk tiga dimensi sehingga jika terjadi kehilangan jaringan pada zona statis maka luka semakin dalam dan luas (Hidayat, 2013).



Gambar 2.1 Gambar skematis dan gambar klinis zona cedera pada luka bakar. 1) Zona koagulasi. 2) Zona stasis. 3) Zona hiperemi (Sabiston, 2009; Hidayat, 2013)

2.1.3 Klasifikasi Luka Bakar

Luka bakar dapat diklasifikasikan menurut ketebalan luka dan jaringan yang terlibat. Klasifikasi luka bakar sebagai berikut.



Gambar 2.2 Kedalaman Luka Bakar. Luka bakar derajat I terbatas hingga epidermis, luka bakar derajat II meluas hingga dermis, dan luka bakar derajat III mengenai seluruh ketebalan epidermis dan dermis, beserta jaringan lemak di bawahnya (Sabiston, 2009)

a) Luka bakar derajat satu

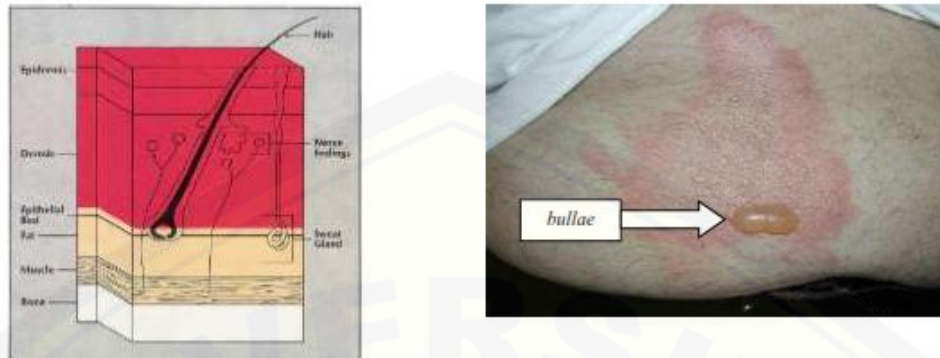
Pada luka bakar derajat satu hanya melibatkan epidermis dan memiliki karakteristik eritema, nyeri, jaringan yang terlibat minimal, fungsi proteksi kulit masih baik, dan edema di kulit minimal. Gejala akan membaik dalam 48-72 jam, serta dalam 5-10 hari epidermis yang rusak akan mengelupas dan tidak berbekas (Doherty, 2010).



Gambar 2.3 Gambar skematis dan gambar klinis luka bakar derajat I. Kulit masih intak, warna kemerahan, tidak terdapat bula, dan terasa nyeri (Hidayat, 2013)

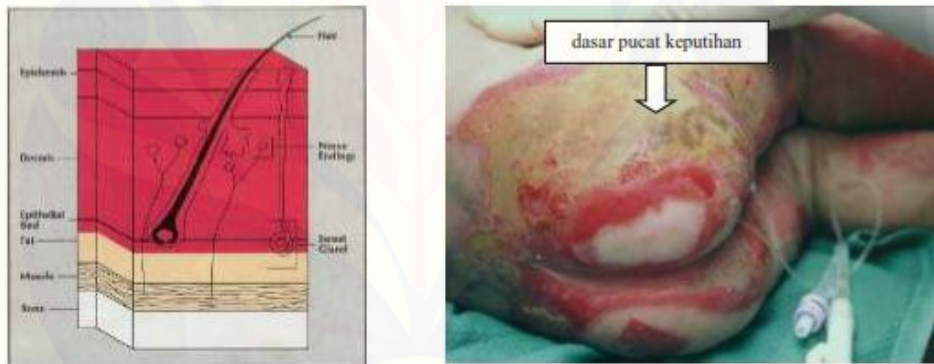
b) Luka bakar derajat dua atau *partial thickness*

Luka bakar derajat dua melibatkan epidermis dan sebagian dermis. Luka bakar derajat dua dibagi menjadi superfisial (II A) dan dalam (II B). Luka bakar derajat dua superfisial memiliki karakteristik terbentuknya bula dan sangat nyeri, serta akan sembuh dengan bekas minimal dalam 10-14 hari.



Gambar 2.4 Gambar skematis dan gambar klinis luka bakar derajat II A. Luka dengan dasar kemerahan, terdapat bula, dan terasa sangat nyeri (Hidayat, 2013)

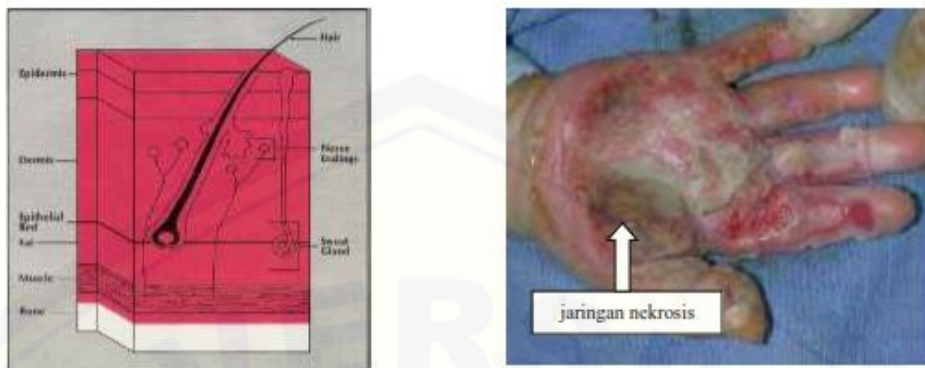
Luka bakar derajat dua dalam memiliki penampakan kemerahan atau lapisan putih dengan dermis tinggal sedikit dan kerusakan kelenjar keringat dan folikel rambut, serta waktu penyembuhan lebih lama 4-8 minggu (Doherty, 2010).



Gambar 2.5 Gambar skematis dan gambar klinis luka bakar derajat II B. Luka dengan dasar pucat keputihan, terdapat bula, dan kurang nyeri (Hidayat, 2013)

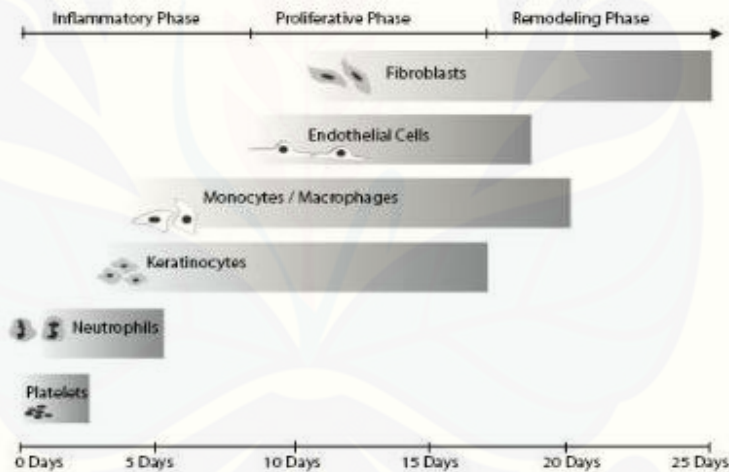
c) Luka bakar derajat tiga atau *full thickness*

Luka bakar derajat tiga memiliki karakteristik putih, kering, dapat pula kecoklatan atau hitam, hilangnya sensasi di kulit yang trauma akibat rusaknya ujung saraf sensorik, dan menurunnya pengisian kapiler. Seluruh jaringan dermis rusak sehingga tidak mungkin reepitelisasi. Selain itu juga akan timbul eskar yang merupakan koagulasi protein dermis dan epidermis (Doherty, 2010).



Gambar 2.6 Gambar skematis dan gambar klinis luka bakar derajat III. Luka dengan dasar kehitaman, kulit nekrosis, dan tidak nyeri (Hidayat, 2013)

2.1.4 Fase Penyembuhan Luka Bakar



Gambar 2.7 Fase penyembuhan luka. Proses penyembuhan luka berdasarkan waktu dan karakteristik sel yang tampak pada setiap waktu penyembuhan tersebut (Hidayat, 2013).

Proses penyembuhan luka bakar seperti penyembuhan luka pada umumnya yang melibatkan proses seluler dan biokimia. Ada tiga fase dalam penyembuhan luka yaitu fase inflamasi, proliferasi, dan remodeling yang saling tumpang tindih satu sama lain (Hidayat, 2013).

Fase yang pertama adalah fase inflamasi yang dimulai segera setelah trauma hingga hari ke-5 pasca trauma. Pada fase ini terjadi proses hemostasis, pencegahan infeksi dan kolonisasi bakteri, serta mulai pembentukan jaringan granulasi. Pada proses hemostasis terjadi pengaktifan kaskade jalur ekstrinsik dan intrinsik yang pada akhir proses terjadi konversi fibrinogen menjadi fibrin. Selain itu platelet dari proses hemostasis akan menghasilkan faktor pertumbuhan, seperti *platelet derived growth factor* (PDGf) dan *transforming growth factor- β* (TGF- β). Pencegahan infeksi pada luka dilakukan oleh netrofil dan makrofag. Migrasi netrofil ditemukan pada dua hari pertama akibat peningkatan permeabilitas kapiler dan penarikan oleh berbagai mediator inflamasi, seperti prostaglandin, IL-1, TNF, C5a, TGF- β , dan liposakarida. Makrofag menuju luka setelah 48-72 jam dan dominan setelah 3 hari pasca trauma. Pada akhir proses inflamasi terbentuk jaringan granulasi kemerahan, lunak, dan granuler oleh fibroblas yang mulai proliferasi dan sel endotel pembuluh darah yang mulai angiogenesis (Hidayat, 2013).

Fase proliferasi dimulai hari ke-4 hingga hari ke-21 pasca trauma. Pada fase ini terjadi proses reepitelisasi, pembentukan jaringan granulasi oleh fibroblas, dan angiogenesis. Proses pertama adalah reepitelisasi yang ditandai migrasi keratinosit ke daerah luka yang dipengaruhi oleh regresi jaringan desmosom, terbentuknya filamen aktin di dalam sitoplasma keratinosit, dan interaksi dengan protein sekretori. Jaringan granulasi yang kaya akan jaringan fibroblas, makrofag, dan sel endotel mulai terbentuk pada hari ke-4 pasca trauma. Fibroblas menyediakan kerangka untuk migrasi keratinosit diinduksi oleh makrofag yang menghasilkan PDGf dan TGF- β . Fibroblas akan menghasilkan matriks ekstraseluler yang nantinya akan digantikan kolagen tipe III. Sel endotel akan menghasilkan pembuluh darah baru dengan bantuan protein sekretori VEGF, FGF, dan TSP-1. Fase proliferasi akan berakhir setelah kolagen menggantikan matriks temporer (Hidayat, 2013).

Fase terakhir adalah fase remodeling atau maturasi dimulai pada hari ke-21 pasca trauma hingga sekitar 1 tahun. Proses yang terjadi adalah kontraksi luka, remodelling kolagen, degradasi kolagen berlebih, dan penyusunan serat kolagen untuk

meningkatkan kekuatan jaringan baru. Kontraksi luka terjadi akibat aktifitas miofibroblas yang merupakan fibroblas yang mengandung komponen mikrofilamen aktin intraseluler. Remodeling kolagen berupa penggantian kolagen tipe III dengan tipe I dengan bantuan matrix metalloproteinase (MMP) yang disekresi fibroblas, makrofag, dan sel endotel. Degradasi kolagen berlebih oleh enzim kolagenase. Penyusunan serat kolagen membutuhkan lysil hydroxylase untuk mengubah lisin menjadi hidroksilisin yang menyebabkan terjadinya cross-linking antar kolagen. Proses inilah yang akan meningkatkan *tensile-strength* sehingga luka tidak mudah terkoyak. Proses ini berjalan cepat pada enam minggu pertama dan perlahan dalam 1-2 tahun. Hasil akhir fase remodeling adalah jaringan baru yang memiliki kekuatan 70% dari awal (Hidayat, 2013).

2.1.5 Perawatan Luka Bakar

Terapi luka bakar memiliki beberapa tahapan sebagai berikut.

a) Resusitasi Akut (Awal)

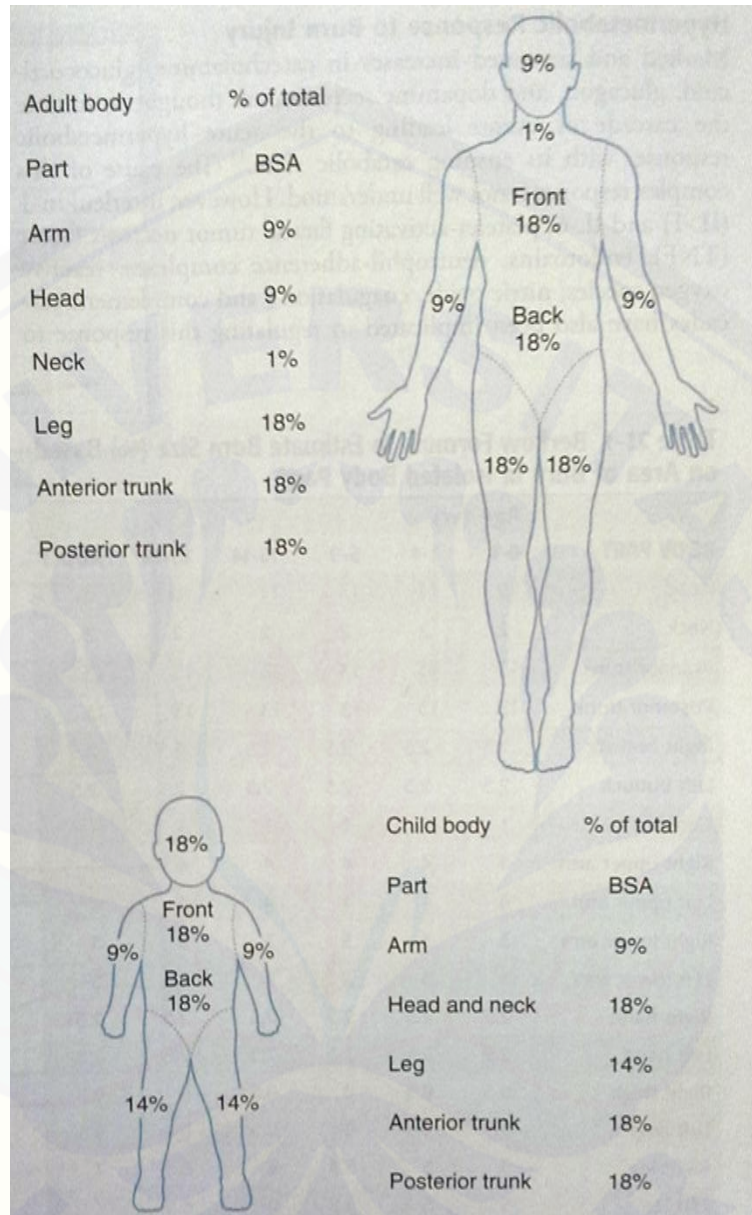
Pada tahap awal terapi luka bakar harus dilakukan pemeriksaan “ABCDE” (*airway, breathing, circulation, disability, exposure*). Manajemen *airway* adalah prioritas utama terutama jika dicurigai adanya trauma inhalasi. Intubasi endotrakeal harus segera dilakukan pada pasien trauma inhalasi walau penampakan awal tampak normal karena dapat terjadi edema jalan nafas nantinya yang akan menyulitkan pemasangan intubasi. Manajemen *breathing* dapat dilakukan dengan pemberian oksigen terutama untuk gangguan pernafasan akibat asap. Manajemen *circulation* dilakukan dengan resusitasi cairan dengan kristaloid, pengontrolan cairan dengan pemasangan kateter, serta akses vaskuler di vena perifer besar. Resusitasi cairan menggunakan formula Parkland yaitu $4 \text{ ml RL (ringer laktat)} \times \text{berat badan (kg)} \times \text{luas luka bakar}$. Setengah cairan diberikan 8 jam pertama dan setengah lainnya pada 16 jam berikutnya. Manajemen *disability* untuk memeriksa kesadaran pasien dan

exposure untuk mencari apakah trauma lain. Perlu diperhatikan untuk mencegah hipotermia pada pasien (McPhee, 2012).

b) Penentuan Luas Luka Bakar

Penentuan luas luka bakar menggunakan rumus *rule of nine* seperti Gambar 2.8 berikut.





Gambar 2.8 Estimasi luas luka bakar dengan menggunakan rumus *Rule of Nine*. Persentase luas luka bakar pada tiap regio merupakan kelipatan dari sembilan, kecuali leher (dewasa) dan kaki (anak-anak) dan jika luka bakar berbentuk pulau-pulau, maka setiap pulau seluas telapak tangan dihitung 1% (Sabiston, 2009).

c) Post Resusitasi dan Perawatan Luka Bakar

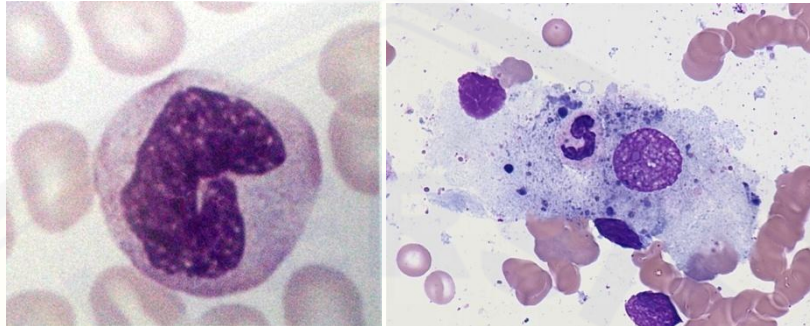
Manajemen lanjutan adalah pencegahan hipotermia, hipovolemia, mengatasi sakit, dan pemberian nutrisi pendukung terutama untuk luka bakar besar. Perlu juga diperhatikan pencegahan infeksi pada pasien. Oleh karena itu pasien memerlukan perawatan luka dengan agen antibiotik topikal, debridemen jaringan mati, dan penutupan luka bakar yang sesuai. Agen antibiotik berpengaruh besar terhadap derajat kesakitan luka bakar karena infeksi masih sering menjadi masalah utama luka bakar. Antibiotik topikal yang sering digunakan adalah silver sulfadiazin yang efektif sebagai agen antibakteri gram positif dan negatif. Selain itu, krim gentamisin juga bisa diberikan karena seringnya infeksi akibat kuman gram negatif pada luka bakar. Setelah pemberian antibiotik topikal dapat dilakukan penutupan luka dengan kasa yang diganti dua kali sehari. Debridemen jaringan mati wajib dilakukan untuk mencegah infeksi (Doherty, 2010).

2.2 Makrofag

2.2.1 Definisi

Makrofag adalah salah satu sel radang atau leukosit yang dihasilkan oleh sumsum tulang sebagai salah satu pertahanan tubuh melawan infeksi. Makrofag berasal dari sel premonosit yang meninggalkan sumsum tulang dan masuk ke dalam sirkulasi menjadi monosit, kemudian saat ada rangsangan kemotaksis dari toksin bakteri atau virus, produk degeneratif dari jaringan yang meradang, produk reaksi komplemen, ataupun dari beberapa produk pembentukan plasma, monosit tersebut akan memasuki jaringan dan menjadi makrofag dengan ukuran yang lebih besar, yaitu 10-20 mikrometer dan akan menangkap mikroba yang menginvasi luka, serta menghancurkan debris sehingga proses penyembuhan dapat segera dimulai. Monosit dalam sirkulasi hanya dapat bertahan selama 10-20 jam, sedangkan makrofag yang

sudah terdapat di jaringan mampu bertahan selama beberapa bulan sebagai salah satu pertahanan tubuh (Guyton dan Hall, 2007).



Gambar 2.9 Monosit dan Makrofag. Monosit yang berada dalam darah saat masuk ke dalam jaringan akan teraktivasi menjadi makrofag dengan bentuk yang lebih besar dan bertugas memfagositosis (Moss dan Hoffbrand, 2013)

2.2.2 Fungsi Makrofag

Fungsi utama dari makrofag adalah memfagositosis yaitu proses pencernaan seluler terhadap agen yang mengganggu oleh sel fagosit, termasuk jaringan yang rusak atau mati, benda-benda asing dan kuman bakteri yang masuk ke dalam jaringan tubuh. Makrofag mulai terakumulasi pada situs inflamasi setelah 48-72 jam untuk menggantikan fungsi fagositosis PMN. Kelebihan makrofag dibandingkan PMN adalah makrofag mampu memfagositosis lebih baik dari PMN, serta mampu bertahan selama berbulan-bulan, sedangkan PMN hanya mempunyai siklus hidup selama 3-5 hari. Makrofag juga berperan pada proses penyembuhan luka karena dapat menghasilkan zat bioaktif yaitu *transforming growth factor β* (TGF- β) dan interleukin 1 (IL-1) yang bersifat kemoatraktan terhadap makrofag lain, fibroblas, PMN, dan keratinosit, *granulocyte-macrophage colony stimulating factor* (GM-CSF) yang akan menstimulasi proliferasi, *survival*, maturasi, dan aktivasi granulosit dan makrofag, *epidermal growth factor* (EGF) yang menstimulasi sekresi kolagenase oleh fibroblas, serta *growth factor* yang berguna untuk proliferasi sel, sintesis protein, dan protease molekul intraseluler. Selain itu, pada keadaan hipoksia, makrofag juga akan

memacu proses angiogenesis dan menstimulasi migrasi, serta pertumbuhan sel endotel dengan mensekresi *fibroblast growth factor 2* (FGF-2) sehingga makrofag merupakan sel utama dalam proses penyembuhan luka yang mendorong fase inflamasi memasuki fase proliferasi (Guyton dan Hall, 2007; Hidayat, 2013).

2.2.3 Proses fagositosis

Proses fagositosis dimulai saat ada partikel asing atau agen mengganggu lain yang masuk ke dalam sel dan sel fagosit akan mendekati, serta melekatkan diri pada partikel tersebut. Kemudian sel fagosit akan menjulurkan pseudopodia untuk membungkus partikel tersebut dan ruangan ini akan berinvaginasi ke dalam rongga sitoplasma dan melepaskan diri dari membran sel bagian luar untuk membentuk gelembung fagositik atau yang biasa disebut fagosom di dalam sitoplasma. Selanjutnya, fagosom bersentuhan dan menyatu dengan lisosom dan granula sitoplasmik lainnya, dan akan disekresi enzim-enzim pencernaan yang bersifat sebagai bakterisida yang akan mencerna partikel asing sebelumnya (Guyton dan Hall, 2007).

Proses fagositosis dipengaruhi oleh tiga hal yaitu, struktur alami dalam jaringan, selubung protein pelindung, dan sistem imun tubuh. Pertama, jika permukaan dalam jaringan kasar, maka proses fagositosis akan cenderung meningkat, dan sebaliknya, jika permukaan dalam jaringan bersifat halus, maka akan menahan proses fagositosis. Kedua, jaringan mati dan partikel asing yang tidak memiliki selubung protein pelindung seperti pada sel-sel tubuh, maka akan menjadi subjek untuk difagositosis. Ketiga, jika imun tubuh dapat membentuk antibodi, maka antibodi tersebut akan melekat pada subjek yang akan difagositosis (membran bakteri) sehingga proses fagositosis akan semakin mudah terjadi (Guyton dan Hall, 2007).

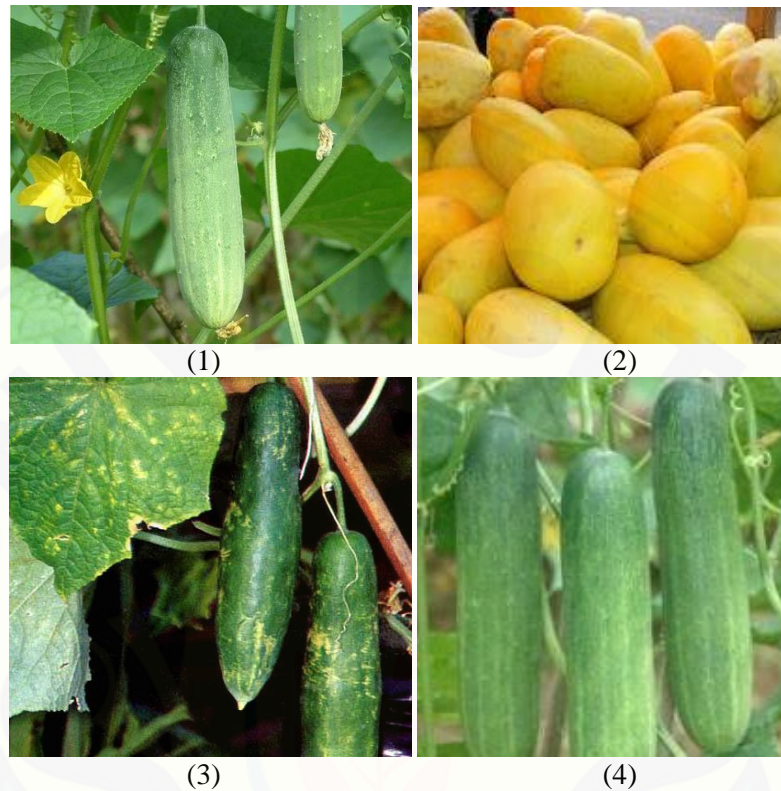
2.3 Mentimun (*Cucumis sativus*)

2.3.1 Taksonomi Mentimun (*Cucumis sativus*)

Klasifikasi tanaman mentimun berdasarkan taksonomi adalah sebagai berikut (Sharma, 2002).

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisio	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Dilleniidae
Ordo	: Violales
Famili	: Cucurbitaceae
Genus	: <i>Cucumis</i>
Species	: <i>Cucumis sativus</i>

2.3.2 Morfologi



Gambar 2.10 Macam-macam bentuk dan varietas mentimun. 1) Mentimun wantong. 2) Mentimun suri. 3) mentimun wuku. 4) Mentimun biasa (Imdad, 2001).

Mentimun merupakan tanaman semusim yang memiliki sifat menjalar. Tanaman ini dapat memiliki panjang hingga dua meter serta dapat tumbuh di tempat yang lembab atau kering subur. Tanaman ini memiliki batang lunak, berair, berbuku-buku, berambut halus, dan berwarna hijau segar (Imdad dan Abdjad, 2001).

Mentimun memiliki akar tunggang dan bulu-bulu akar. Daya tembus akar mentimun memiliki kedalaman sekitar 60-80 cm. Kedalaman akar yang relatif pendek menyebabkan tanaman mentimun sensitif terhadap perubahan air (Rukmana, 1994).

Bunga mentimun merupakan monoceus, bunga jantan dan betina berada dalam satu pohon. Bunga mentimun memiliki bentuk terompet dengan warna putih atau

kuning cerah. Perbedaan antara bunga jantan dan betina yaitu bakal buah yang membengkak di bawah mahkota bunga pada bunga betina (Rukmana, 1994).

Buah mentimun biasanya berbentuk bulat panjang atau bulat pendek. Kulit buahnya bisa berbintil-bintil maupun halus dengan warna antara hijau keputih-putihan, hijau muda dan hijau gelap. Di dalam buah terdapat biji berwarna putih atau putih kekuningan dengan bentuk pipih (Rukmana, 1994).

2.3.3 Kandungan

Mentimun mengandung bahan-bahan yang berfungsi sebagai antioksidan, antimikroba, dan antiinflamasi, serta dapat mempercepat proses penyembuhan luka. Bahan-bahan tersebut meliputi tanin, saponin, dan triterpens, yaitu curcubitacin A, B, C, D, dan E yang berperan sebagai antimikroba, dan flavonoid golongan flavonol, yaitu quercetin dan kaemferol, serta golongan flavons, yaitu apigenin dan luteolin yang banyak terdapat pada kulit mentimun dan berfungsi sebagai antiinflamasi, antimikroba, antioksidan, dan dapat meningkatkan migrasi miofibroblas ke daerah luka, serta meningkatkan kontraktilitas miofibroblas sehingga dapat meningkatkan kontraksi luka dan mempercepat penyembuhan luka (Patil *et al.*, 2012; Whfoods.org, 2015).

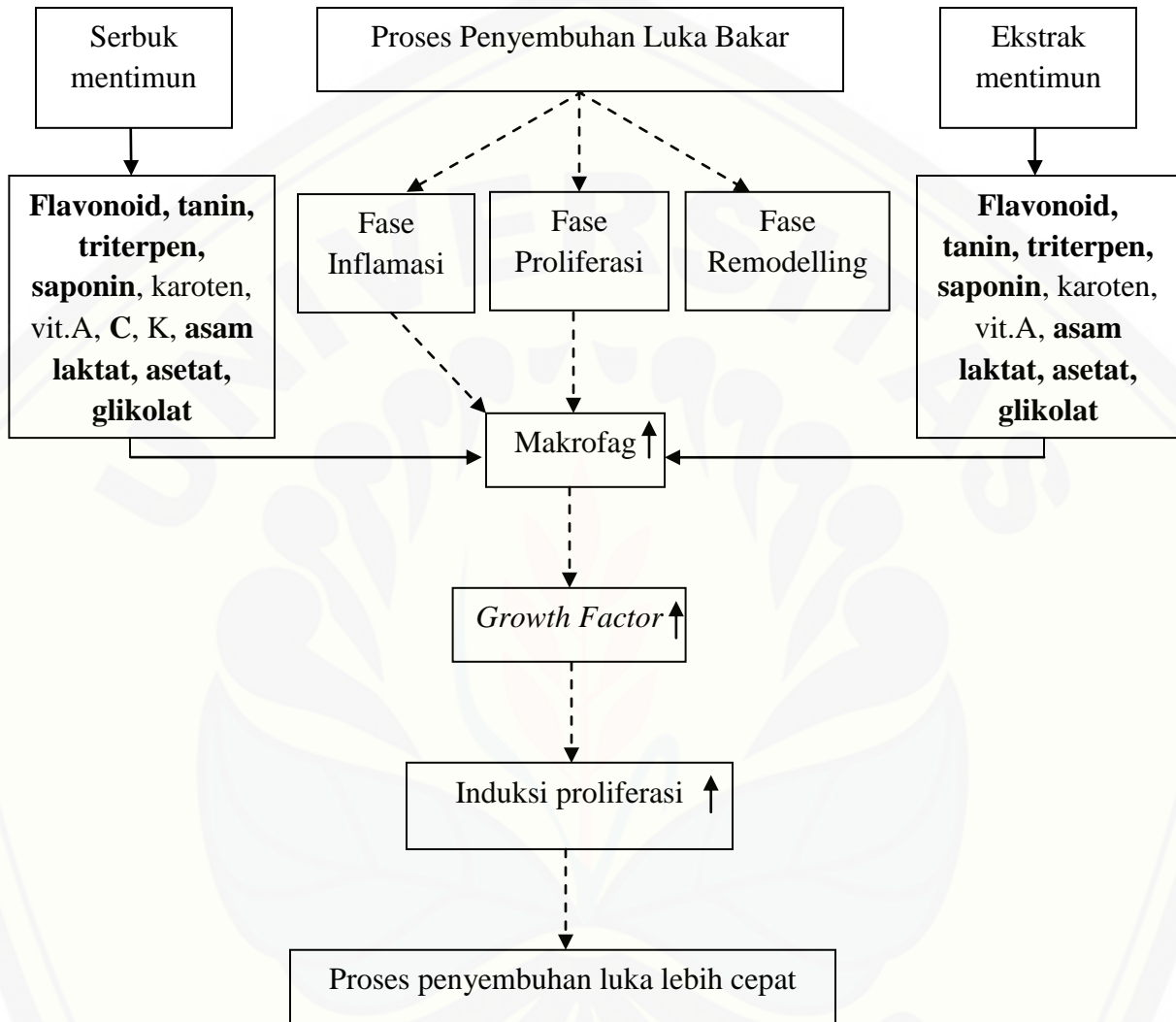
Selain unsur-unsur di atas, mentimun juga mengandung asam askorbat yang berfungsi sebagai antimikroba, antioksidan, dan membantu pembentukan kolagen, kemudian juga β -karoten, α -karoten, vitamin A, zea-xanthin, dan lutein yang juga berfungsi sebagai komponen antioksidan yang menghambat aktivitas enzim pro-inflamasi seperti COX-2 dan menghambat produksi nitrit oksida (NO) berlebihan sehingga tidak terjadi inflamasi berlebihan dan proses penyembuhan luka dapat segera memasuki fase proliferasi (Whfoods.org, 2015).

Kandungan vitamin K pada mentimun dapat membantu proses hemostasis pada penyembuhan luka, sedangkan asam α -hidroksil membantu pembaruan sel kulit dengan mengangkat sel mati dan melindungi sel yang sehat, selain itu asam α -

hidroksil juga membantu meningkatkan kepadatan kolagen, kualitas serat elastis, dan ketebalan dermis papiler. Asam α -hidroksil mempunyai dua unsur dengan molekul kecil yang dapat menembus dinding sel dengan mudah, yaitu asam laktat yang berperan dalam proses pigmentasi dan asam glikolat yang berperan dalam pembentukan kolagen dan sintesis glikosaminoglikan. Selain asam α -hidroksil, mentimun juga mengandung komponen asam β -hidroksil, yaitu asam salisilat yang berfungsi sebagai agen keratolitik, antiseptik, antiinflamasi, dan antinyeri (Uzodike dan Onouha, 2009).



2.4 Kerangka Konseptual



Gambar 2.11 Kerangka Konseptual

Keterangan :

- > Alur yang diteliti
- - - - -> Bukan alur yang diteliti

Senyawa flavonoid, tanin, triterpen, saponin, dan vitamin C dalam mentimun dapat berfungsi sebagai antimikroba sehingga membantu membunuh bakteri dan mikroba lain pada luka bakar. Semakin banyak bakteri yang dibunuh, semakin banyak juga hasil degradasi bakteri berupa LPS yang akan berfungsi sebagai kemoatraktan makrofag sehingga semakin banyak juga makrofag yang memasuki lokasi peradangan. Selain senyawa tersebut, mentimun juga mengandung asam α -hidroksil, yaitu asam laktat dan asam glikolat yang dapat menghancurkan sel-sel mati dan asam β -hidroksil, yaitu asam salisilat yang berfungsi sebagai antiseptik, antiinflamasi, antinyeri, dan komponen keratolitik yang berfungsi untuk *debridement* alami sehingga dapat merangsang penarikan makrofag lebih banyak lagi.

Makrofag dapat melepaskan GM-CSF yang akan menstimulasi proliferasi, *survival*, maturasi, serta aktivasi granulosit dan makrofag sehingga akan semakin banyak lagi jumlah makrofag yang ada di lokasi radang. Jika terdapat banyak makrofag di lokasi peradangan, partikel asing (bakteri) dan sel-sel yang mati dapat difagositosis dalam waktu yang lebih singkat dan semakin banyak *growth factor* yang dilepaskan sehingga proses penyembuhan luka dapat segera memasuki fase proliferasi dan mempercepat proses penyembuhan luka bakar, serta tidak terjadi inflamasi yang berlebihan.

2.5 Hipotesis

- a) Terdapat jumlah makrofag lebih banyak pada luka bakar derajat II B yang diberi gel serbuk mentimun (*Cucumis sativus*) dari pada yang diterapi menggunakan gel ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) pada tikus Wistar pada hari ke-3.
- b) Terdapat jumlah makrofag lebih banyak pada luka bakar derajat II B yang diberi gel serbuk mentimun (*Cucumis sativus*) dari pada yang diterapi menggunakan gel ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) pada tikus Wistar pada hari ke-10.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *true experimental laboratories* dengan rancangan *post test only control group*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada beberapa tempat, yaitu Laboratorium Farmakologi Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Laboratorium Biofarmasi Fakultas Farmasi, Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi, dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Penelitian ini dilakukan dalam waktu 1 bulan.

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus dengan jenis Wistar.

3.3.2 Sampel

Tikus Wistar diperoleh dari peternakan tikus di Malang. Tikus dipilih berdasarkan kriteria inklusi, yaitu tikus dengan jenis kelamin jantan, seberat 100-200 gram dengan usia kurang lebih 2-3 bulan, dalam keadaan sehat dan normal, serta kulit yang sehat tanpa adanya luka dan penyakit kulit, dan kriteria eksklusi, yaitu tikus yang mengalami penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi di

laboratorium maupun tikus yang sakit dengan penampakan rambut kusam, rontok atau botak, aktivitas kurang atau tidak aktif, dan keluar eksudat tidak normal dari mata, mulut, anus, atau genital.

3.3.3 Besar Sampel Penelitian

Jumlah tikus yang digunakan sebagai sampel penelitian ditentukan berdasarkan rumus Federer sebagai berikut.

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

$$(8-1)(n-1) \geq 15$$

$$7n-7 \geq 15$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sampel} &= p \times n \\ &= 8 \times 3 \\ &= 24 \end{aligned}$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, dalam penelitian ini terdapat 8 perlakuan dengan 3 replikasi pada setiap perlakuan sehingga dibutuhkan sampel sebanyak 24 ekor.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang dalam penelitian ini adalah pemberian gel ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*), gel serbuk mentimun (*Cucumis sativus*), gentamicin topikal, dan normal salin.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah makrofag yang dilihat secara mikroskopik setelah diberikan gel ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*), gel serbuk mentimun (*Cucumis sativus*), gentamicin topikal, dan normal salin.

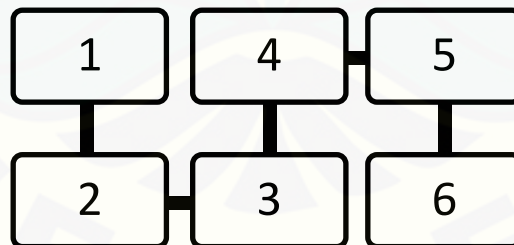
3.4.3 Variabel Terkendali

Jenis dan pemeliharaan hewan coba, pembuatan gel ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*), pembuatan gel serbuk mentimun (*Cucumis sativus*), pembuatan luka bakar derajat II B (*deep partial thickness*), lama perlakuan, cara pengamatan, dan prosedur penelitian.

3.5 Definisi Operasional

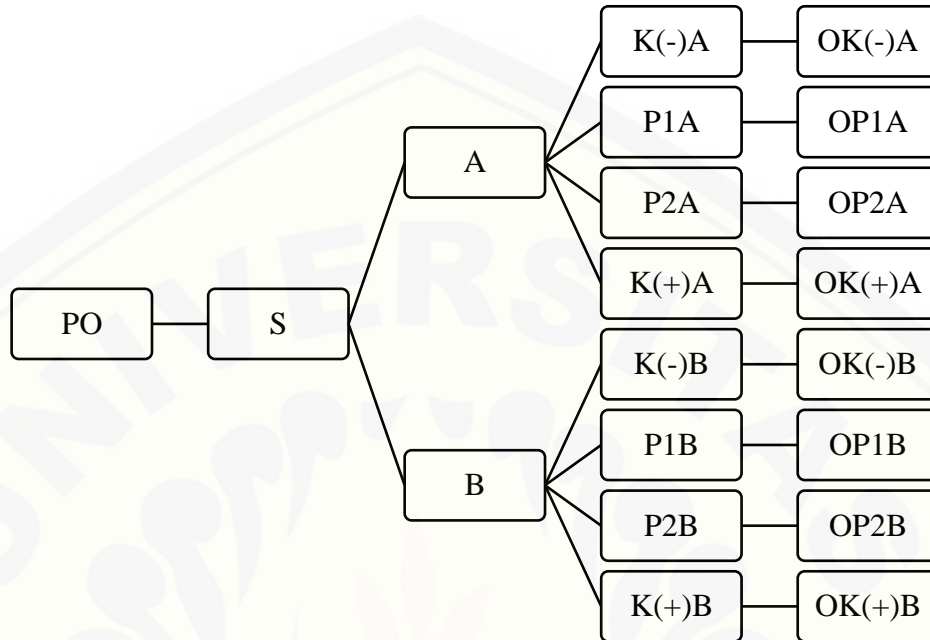
- a) Gel ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) adalah gel dari mentimun yang diekstrak dengan menggunakan metode maserasi dalam pelarut etanol 96% dan diuapkan dengan rotavapor, kemudian dicampur dengan basis gel sehingga menghasilkan gel dengan kadar 10%.
- b) Gel serbuk mentimun (*Cucumis sativus*) adalah gel dari mentimun yang dihaluskan dengan menggunakan blender dan dikeringkan dengan *freeze dryer*, kemudian dicampur dengan basis gel sehingga menghasilkan gel dengan kadar 10%.
- c) Luka bakar derajat II B (*deep partial thickness*) adalah luka bakar dengan kerusakan lapisan epidermis hingga retikulare dermis. Pada tikus, kerusakan akibat luka bakar derajat II B ini mencapai kedalaman 72% kulit atau 0,84-0,95 mm. Luka bakar ini diperoleh dari uang logam berbahan *aluminium bronze* dengan berat 5,34 gram, tebal 1,83 mm, dan diameter 24 mm, yang panaskan dalam *dry oven* dengan suhu 70°C selama 5 menit, kemudian bahan tersebut ditempelkan pada kulit punggung tikus Wistar selama 10 detik.

- d) Gentamicin topikal adalah obat golongan antimikroba aminoglikosida dalam bentuk gel dan pada dosis pemakaian topikal 0,1% efektif sebagai bakterisidal terhadap bakteri gram negatif dan profilaksis infeksi pada luka bakar. Pada penelitian ini yang digunakan adalah salep mata gentamicin 0,3% (Gunawan *et al.*, 2009).
- e) Sediaan yang diamati diambil dari jaringan kulit yang terkena luka bakar hingga lapisan subkutan. Pengambilan jaringan hingga lapisan subkutan memudahkan dalam pembuatan sediaan histopatologi. Selain itu, sediaan ini dapat membedakan antara luka bakar derajat II (*partial thickness*) dan luka bakar derajat III (*full thickness*). Bagian luka yang diambil adalah bagian tepi luka yang telah diberikan perawatan selama 3 dan 10 hari.
- f) Makrofag merupakan sel radang yang berisi granula fagositosis berwarna kecoklatan di dalam sitoplasma makrofag, dengan diameter 21 μm dan bersifat fagositik. Makrofag yang terlihat berbentuk ireguler dan berwarna kebiruan. Pengamatan makrofag dilakukan secara histopatologi dengan pewarnaan Hematosilin dan Eosin (H.E.) di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x pada 6 lapang pandang secara sistematis sesuai dengan Gambar 3.1 (Kietnan, 2008).



Gambar 3.1 Lapang pandang yang digunakan untuk menghitung

3.6 Rancangan Penelitian



Gambar 3.2 Rancangan penelitian

- PO : Populasi tikus jenis Wistar
- S : Sampel yang merupakan 24 ekor tikus yang dipilih berdasarkan rumus replikasi
- A : Kelompok yang diterminasi pada hari ke-3
- B : Kelompok yang diterminasi pada hari ke-10
- K(-)A : Kelompok kontrol (-) A yang dibersihkan dengan normal salin, kemudian ditutup dengan menggunakan *transparent film* berukuran 4 x 4 cm yang direkatkan dengan hipafix dan plester. Kelompok ini diterminasi pada hari ke-3 setelah diberikan perawatan.
- P1A : Kelompok perlakuan 1 A yang dibersihkan dengan normal salin dan diberi gel ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) secara merata, kemudian ditutup dengan menggunakan *transparent film* berukuran

4 x 4 cm yang direkatkan dengan hipafix dan plester. Kelompok ini diterminasi pada hari ke-3 setelah diberikan perawatan.

P2A : Kelompok perlakuan 2 A yang dibersihkan dengan normal salin, dan diberikan gel serbuk mentimun (*Cucumis sativus*) secara merata, kemudian ditutup dengan menggunakan *transparent film* berukuran 4 x 4 cm yang direkatkan dengan hipafix dan plester. Kelompok ini diterminasi pada hari ke-3 setelah diberikan perawatan.

K(+)A : Kelompok kontrol (+) A yang dibersihkan dengan normal salin, dan diberikan gentamicin topikal secara merata, kemudian ditutup dengan menggunakan *transparent film* berukuran 4 x 4 cm yang direkatkan dengan hipafix dan plester. Kelompok ini diterminasi pada hari ke-3 setelah diberikan perawatan.

K(-)B : Kelompok kontrol (-) B yang dibersihkan dengan normal salin, kemudian ditutup dengan menggunakan *transparent film* berukuran 4 x 4 cm yang direkatkan dengan hipafix dan plester. Kelompok ini diterminasi pada hari ke-10 setelah diberikan perawatan.

P1B : Kelompok perlakuan 1 B yang dibersihkan dengan normal salin dan diberi gel ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) secara merata, kemudian ditutup dengan menggunakan *transparent film* berukuran 4 x 4 cm yang direkatkan dengan hipafix dan plester. Kelompok ini diterminasi pada hari ke-10 setelah diberikan perawatan.

P2B : Kelompok perlakuan 2 B yang dibersihkan dengan normal salin, dan diberikan gel serbuk mentimun (*Cucumis sativus*) secara merata, kemudian ditutup dengan menggunakan *transparent film* berukuran 4 x 4 cm yang direkatkan dengan hipafix dan plester. Kelompok ini diterminasi pada hari ke-10 setelah diberikan perawatan.

- K(+)_B : Kelompok kontrol (+) B yang dibersihkan dengan normal salin, dan diberikan gentamicin topikal secara merata, kemudian ditutup dengan menggunakan *transparent film* berukuran 4 x 4 cm yang direkatkan dengan hipafix dan plester. Kelompok ini diterminasi pada hari ke-10 setelah diberikan perawatan.
- OK(-)_A : Pengamatan jumlah makrofag pada preparat histopatologi kelompok kontrol (-) A.
- OP1_A : Pengamatan jumlah makrofag pada preparat histopatologi kelompok perlakuan 1 A.
- OP2_A : Pengamatan jumlah makrofag pada preparat histopatologi kelompok perlakuan 2 A.
- OK(+)_A : Pengamatan jumlah makrofag pada preparat histopatologi kelompok kontrol (+) A.
- OK(-)_B : Pengamatan jumlah makrofag pada preparat histopatologi kelompok kontrol (-) B.
- OP1_B : Pengamatan jumlah makrofag pada preparat histopatologi kelompok perlakuan 1 B.
- OP2_B : Pengamatan jumlah makrofag pada preparat histopatologi kelompok perlakuan 2 B.
- OK(+)_B : Pengamatan jumlah makrofag pada preparat histopatologi kelompok kontrol (+) B.

3.7 Alat dan bahan

3.7.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi empat kelompok, yaitu alat yang digunakan untuk membuat ekstrak mentimun, yang meliputi pisau, *blender*, gelas beker, wadah maserasi, pengaduk, spatula, kertas saring, rotavapor, dan neraca, sedangkan alat yang digunakan untuk membuat serbuk mentimun, yaitu

pisau, *blender*, gelas beker, spatula, *freeze dryer*, dan neraca. Pembuatan gel ekstrak dan serbuk mentimun membutuhkan wadah, spatula, pipet, neraca, *laminar air flow* (LAF), dan gelas beker, serta alat yang digunakan untuk uji *in vivo*, yaitu *handscoon*, jangka sorong, neraca, kertas tisu, kapas, hipafix, *transparent film*, alat pencukur rambut, gunting, pinset anatomis, spidol, spuit 5cc, pipa sonde, logam aluminium berbentuk lingkaran dengan diameter 24 mm, toples, dan *dry oven*.

3.7.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi buah mentimun varietas biasa, larutan garam, basis gel, etanol 96%, normal salin, gentamicin topikal 0,3%, dan obat anastesi (kloroform, analsik, dan eter).

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Pemilihan Sampel Tikus

Hewan coba berupa tikus jenis Wistar dengan jenis kelamin jantan dengan usia 2-3 bulan dengan berat 100-200 gram, sebanyak 24 ekor yang dibagi dalam 8 kelompok perlakuan dengan 3 ekor tikus untuk pengambilan data dalam setiap kelompoknya. Tikus yang dipilih harus sehat dan normal, demikian juga kulitnya.

3.8.2 Persiapan Sampel Tikus

Tikus diadaptasikan dengan kondisi laboratorium selama 7 hari sebelum mulai diberi perlakuan. Setiap tikus dipelihara dalam 1 kandang yang berbeda, dengan suhu ruangan atau 20°C ($\pm 3^\circ\text{C}$). Ruangan diberikan pencahayaan artifisial dengan durasi 12 jam terang dan 12 jam gelap. Tikus diberi pakan standar dan minum *adlibitum*.

3.8.3 Pembuatan Ekstrak Mentimun (*Cucumis sativus*)

Mentimun yang digunakan dalam penelitian ini adalah mentimun varietas biasa dari Jember. Ekstrak mentimun dibuat dengan menggunakan metode maserasi. Buah mentimun dicuci dengan larutan garam, kemudian dibilas dengan air mengalir, dan diiris tipis. Buah mentimun yang sudah diiris kemudian dikeringkan selama 2-3 hari dalam suhu ruangan dan dijauhkan dari cahaya matahari langsung. Setelah itu, timun yang sudah kering diblender dan diayak dengan saringan agar diperoleh serbuk yang lebih halus. Serbuk tersebut kemudian direndam atau dimaserasi dalam etanol 96% selama kurang lebih 48 jam dengan diaduk sesekali. Hasil maserasi kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring dan hasil penyaringan tersebut kemudian diuapkan dengan menggunakan rotavapor sehingga didapatkan ekstrak kental mentimun.

3.8.4 Pembuatan Gel Ekstrak Mentimun (*Cucumis sativus*)

Karbopol, trietanolamin (TEA), dan aquadest dikembangkan hingga membentuk gel. Kemudian ditambahkan propilen glikol untuk melembutkan dan membuat gel tersebut tahan lebih lama. Setelah bahan-bahan tersebut dicampurkan, kemudian ditambahkan ekstrak kental mentimun (*Cucumis sativus*) dan diaduk hingga homogen. Pembuatan gel dilakukan di ruangan steril dan berada di dalam LAF untuk meminimalisir jumlah mikroba pada gel tersebut.

Formulasi gel ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

R/ Karbopol	2,5%
Trietanolamin (TEA)	5%
Propilen glikol	5%
Aquadest ad	77,5%
Ekstrak mentimun	10%

3.8.5 Pembuatan Serbuk Mentimun (*Cucumis sativus*)

Mentimun yang digunakan dalam penelitian ini adalah mentimun varietas biasa dari Jember. Jus mentimun dibuat dengan menggunakan *blender*. Buah mentimun dicuci dengan larutan garam, kemudian dibilas dengan air mengalir, dan dipotong kecil-kecil. Buah mentimun yang sudah dipotong kecil-kecil kemudian dihaluskan dengan *blender*. Jus tersebut kemudian dikeringkan dengan menggunakan *freeze dryer* selama 48 jam dan didapatkan serbuk kering mentimun (*Cucumis sativus*). Serbuk tersebut kemudian dihaluskan dengan *diblender* dan diayak menggunakan saringan sehingga menghasilkan serbuk halus mentimun.

3.8.6 Pembuatan Gel Serbuk Mentimun (*Cucumis sativus*)

Karbopol, trietanolamin (TEA), dan aquadest dikembangkan hingga membentuk gel. Kemudian ditambahkan propilen glikol untuk melembutkan dan membuat gel tersebut tahan lebih lama. Setelah bahan-bahan tersebut dicampurkan, kemudian ditambahkan serbuk kering mentimun (*Cucumis sativus*) dan diaduk hingga homogen. Pembuatan gel dilakukan di ruangan steril dan berada di dalam LAF untuk meminimalisir jumlah mikroba pada gel tersebut.

Formulasi gel serbuk mentimun (*Cucumis sativus*) yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

R/ Karbopol	2,5%
Trietanolamin (TEA)	5%
Propilen glikol	5%
Aquadest ad	77,5%
Serbuk mentimun	10%

3.8.7 Tahap Perlakuan

a) Pembuatan Luka Bakar derajat II B

Sampel tikus dibagi secara acak menjadi 8 kelompok dan setiap kelompok terdiri dari 3 hewan coba. Tiap tikus yang memenuhi kriteria ditimbang dan dicatat hasilnya. Sebelum perlakuan, bulu tikus pada daerah punggung dicukur terlebih dahulu pada 24 jam sebelum perlakuan dan diusahakan tidak menyebabkan abrasi pada kulit saat pencukuran. Kemudian, setiap tikus dianestesi dengan menggunakan kloroform sebelum perlakuan diberikan. Setelah anestesi mulai bekerja, kulit punggung tikus dibersihkan dengan menggunakan normal salin, lalu luka bakar derajat II B diberikan dengan menggunakan logam berbentuk lingkaran. Panas pada logam dibuat dengan cara memanaskan logam tersebut dalam *dry oven* dengan suhu 70°C selama 5 menit, kemudian ditempelkan pada kulit punggung tikus selama 10 detik.

b) Perawatan Luka Bakar

Setelah diberikan luka bakar derajat II B (*deep partial thickness*) pada tikus, luka tersebut dibersihkan dengan normal salin dan diberikan perlakuan sesuai masing-masing kelompok. Pada kelompok P1A dan P1B diolesi gel ekstrak mentimun, P2A dan P2B diolesi gel serbuk mentimun, serta K(+)A dan K(+)B diolesi gentamicin topikal. Area yang sudah diolesi tersebut selanjutnya ditutup dengan *transparent film* berbentuk persegi dan difiksasi dengan menggunakan hipafix dan plester yang tidak menyebabkan iritasi, serta selama masa penelitian hewan coba dicegah agar tidak menggaruk, melepas, memakan, ataupun menjilat krim yang telah dioleskan. Preparat tersebut dioleskan pada luka bakar sebanyak 2 kali sehari selama 3 hari untuk kelompok P1A, P2A, dan K(+)A, serta 10 hari pada kelompok P1B, P2B, dan K(+)B. Selama masa perawatan luka bakar, tikus diberikan analgesik analsik secara intraoral dengan dosis 45 mg/kgBB untuk mengurangi rasa sakit akibat luka bakar.

c) Pengambilan jaringan kulit

Pada akhir hari ke-3 untuk kelompok P1A, P2A, dan K(+)A, serta hari ke-10 untuk kelompok P1B, P2B, dan K(+)B, hewan coba didekapitasi dengan menggunakan eter dan dislokasi tulang leher, kemudian jaringan kulit yang diberi perlakuan diinsisi dengan pisau bedah, dan dibuat sediaan histopatologi. Sediaan kulit yang diambil terutama adalah tepi luka karena penyembuhan luka sebagian besar berawal dari tepi luka. Jaringan kulit yang telah diambil tersebut selanjutnya direndam dalam larutan formalin 10%.

3.8.8 Pembuatan Preparat Histopatologi

Setiap sampel kulit tikus dipotong dengan mikrotom dan dibuat 2 irisan dalam 1 slide preparat dari sampel tersebut. Bagian yang diambil dari sampel tersebut terutama bagian tepi luka karena proses penyembuhan dimulai dari tepi luka. Kemudian preparat tersebut diwarnai dengan pewarnaan Hematosilin dan Eosin (H.E.).

3.8.9 Pengamatan Histopatologi

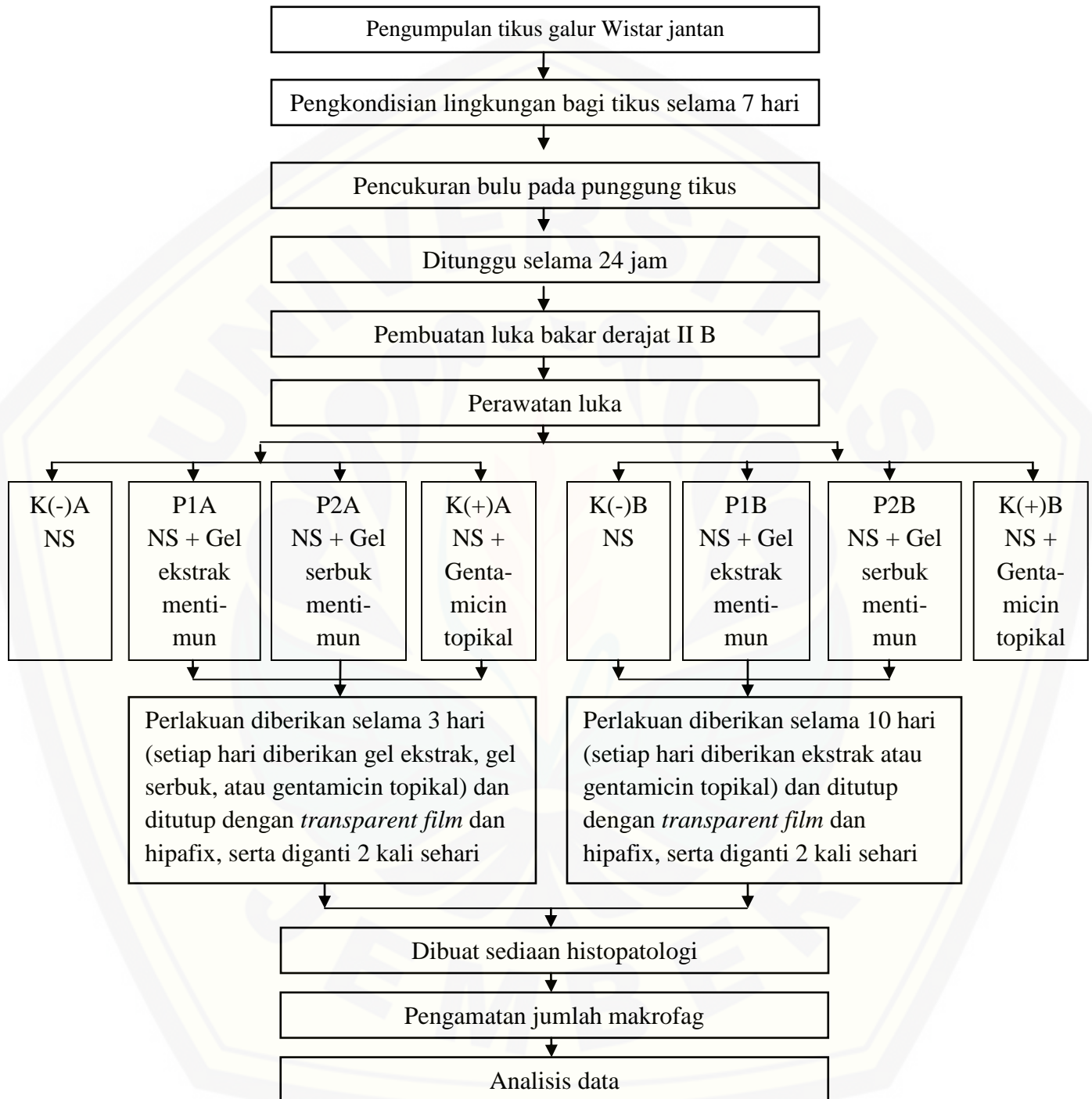
Pengamatan dilakukan untuk mengamati jumlah makrofag pada sediaan kulit dengan luka bakar. Jumlah makrofag dihitung menggunakan lensa objektif dengan perbesaran 40x. Makrofag yang dihitung adalah yang ada pada lapisan epidermis dan dermis kulit dengan luka bakar. Penghitungan dilakukan oleh 2 orang menggunakan metode *blinding* pada 6 lapang pandang secara sistemis dengan perbesaran total 400x dan dilakukan replikasi sebanyak 2 kali. Hasil penghitungan akan dirata-rata sehingga diperoleh jumlah makrofag pada tiap-tiap lapang pandang.

3.9 Analisis Data

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan, hasil dari pengamatan tersebut diuji secara statistik menggunakan *saphiro-wilk* untuk menentukan normalitas data dan selanjutnya dianalisis dengan menggunakan metode *One-Way ANOVA*. Setelah uji *One-Way ANOVA*, selanjutnya dilakukan uji *Post hoc* metode *LSD*.



3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.3 Alur penelitian