



**PENGARUH PEMBERIAN PROPOLIS SECARA TOPIKAL
TERHADAP MIGRASI SEL POLIFORMONUKLEAR
PADA LUKA SAYAT TIKUS**

SKRIPSI

**Oleh
I Gusti Ngurah Dwi Oka Pradipta
NIM 062010101001**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2010**



**PENGARUH PEMBERIAN PROPOLIS SECARA TOPIKAL
TERHADAP MIGRASI SEL POLIFORMONUKLEAR
PADA LUKA SAYAT TIKUS**

SKRIPSI

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

Oleh
I Gusti Ngurah Dwi Oka Pradipta
NIM 062010101001

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2010**

PERSEMBAHAN

Saya persembahkan skripsi ini untuk:

1. Ayahanda IGN Wikanadi Kencana Putra dan Ibunda Ni Made Ayu Ardini;
2. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
3. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Motto

Kesehatan adalah kekayaan sejati... Bukan emas atau perak *

* Mahatma Gandhi dalam Wolpert, S. 2001. *Mahatma Gandhi Sang Penakluk Kekerasan : Hidupnya dan Ajarannya*. Jakarta: Murai Kencana.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : I Gusti Ngurah Dwi Oka Pradipta

NIM : 062010101001

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengaruh Pemberian Propolis Secara Topikal Terhadap Migrasi Sel Polimorfonuklear Pada Luka Sayat Tikus” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 1 Juli 2010

Yang menyatakan,

I Gusti Ngurah Dwi Oka Pradipta

NIM 062010101001

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN PROPOLIS SECARA TOPIKAL TERHADAP
MIGRASI SEL POLIFORMONUKLEAR
PADA LUKA SAYAT TIKUS**

Oleh

I Gusti Ngurah Dwi Oka Pradipta

NIM 062010101001

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : dr. Dina Helianti, M.Kes

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Hairrudin, M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi berjudul *Pengaruh Pemberian Propolis Secara Topikal terhadap Migrasi Sel Polimorfonuklear pada Luka Sayat Tikus* telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada :

hari, tanggal : Selasa, 22 Juni 2010

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua

dr. Dina Helianti, M.Kes.
NIP. 197411042000122001

Anggota I,

Anggota II,

dr. Hairrudin, M.Kes.
NIP. 197610112003121001

dr. Rini Riyanti, Sp. PK
NIP. 197203281999032001

Mengesahkan,
Ketua Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Prof.dr. Bambang Suhariyanto, Sp.KK(K)
NIP. 194701211983031001

RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Propolis Secara Topikal terhadap Migrasi Sel Polimorfonuklear pada Luka Sayat Tikus Wistar; I Gusti Ngurah Dwi Oka Pradipta, 062010101001; 2010: 47 halaman; Fakultas Kedokteran Umum Universitas Jember.

Propolis adalah salah satu produk dari lebah yang merupakan suatu zat berupa getah yang dihasilkan oleh tunas-tunas daun dan juga bagian batang, yang merembes keluar melalui kulit tumbuhan yang dikumpulkan oleh lebah dan dicampur dengan lilin dan air liur lebah. Di dalam propolis terkandung berbagai zat yang dapat dimanfaatkan. Misalnya *Caffeic acid Phenyl ester* (CAPE) dan Flavonoid. CAPE dan Flavonoid (*Quercetin*) memiliki efek antiinflamasi yaitu dengan menghambat pelepasan asam arakhidonat dengan jalan memblok jalur siklooksigenase dan lipooksigenase. Asam arakhidonat sendiri dibutuhkan untuk pembentukan prostaglandin dan leukotrin yang bertindak sebagai mediator setiap proses radang akut. Pada umumnya, radang akut ini ditandai dengan penimbunan PMN neutrofil dalam jumlah yang banyak. Dengan demikian, adanya hambatan pada pembentukan prostaglandin dan leukotrin dapat menekan jumlah PMN neutrofil pada peradangan akut.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi pemberian ekstrak propolis pada proses penyembuhan luka terutama efek anti inflamasinya karena kandungan senyawa penting yaitu CAPE dan Flavonoid (*Quercetin*) yang terdapat di dalamnya. Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratoris yang dilakukan di laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Pada penelitian

ini, digunakan 6 kelompok perlakuan dengan jumlah sampel lima ekor. Tiap kelompok hewan coba adalah tikus putih galur wistar jantan dengan kriteria yang telah ditentukan. Semua kelompok diberi luka sayat pada paha kanan sedalam 0,5 cm dan sepanjang 2 cm. 6 kelompok tersebut dibagi menjadi dua yaitu tiga kelompok kontrol yang diberi luka sayat tanpa diberi ekstrak propolis secara topikal sedangkan tiga kelompok lainnya adalah kelompok perlakuan yang diberi luka sayat dan diberi ekstrak propolis secara topikal sebanyak 2 kali sehari. Masing-masing kelompok kontrol dikorbkan pada hari ke 1, 3 dan 7. Hasil penelitian dianalisis dengan uji *One Way ANOVA* dengan tingkat kemaknaan 95%.

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa nilai rata-rata jumlah PMN Neutrofil pada kelompok yang diberi ekstrak propolis secara topikal memiliki jumlah PMN Neutrofil yang lebih rendah dibandingkan kelompok yang tidak diberi ekstrak propolis. Hal ini berarti bahwa pada kelompok perlakuan terjadi penurunan jumlah PMN Neutrofil pasca perlakuan pada paha tikus. Jumlah PMN baik untuk kelompok kontrol dan perlakuan terdapat pada hari ke 3 dan mulai menurun pada hari ke 7 hal ini sesuai karena neutrofil merupakan sel radang akut, dan tahap peradangan akut dimulai saat terjadinya luka sampai hilangnya faktor yang memperlama peradangan yaitu berkisar antara 3-5 hari. Pada hari ke 7 terdapat penurunan jumlah PMN Neutrofil, hal ini disebabkan jumlah sel radang mulai berkurang dan neutrofil sebagian besar digantikan oleh makrofag.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah terjadi penurunan jumlah PMN Neutrofil pada sediaan histologi jaringan luka tikus putih galur wistar jantan setelah pemberian ekstrak propolis topikal pasca perlakuan pada ekor tikus.

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa karena hanya dengan berkah dan rahmat-Nya skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Propolis Secara Topikal Terhadap Migrasi Sel Polimorfonuklear Pada Luka Sayat Tikus” dapat diselesaikan sebagai syarat guna mencapai gelar Sarjana Kedokteran pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dari berbagai pihak, penulisan skripsi ini tidak akan selesai dengan baik dan tepat waktu. Oleh karena itu, penulis ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Bambang Suhariyanto, Sp. KK (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas segala fasilitas dan kesempatan yang diberikan selama menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Dina Helianti, M.Kes selaku Dosen pembimbing 1 yang telah memberikan banyak waktu, bimbingan, pengarahan, motivasi, kesabaran dan semangat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi dan studi;
3. dr. Hairrudin, M.Kes selaku Dosen Pembimbing 2 yang telah memberikan banyak waktu, bimbingan, pengarahan, motivasi, semangat dan selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan arahan dan bimbingan selama melaksanakan studi di almamater tercinta;
4. dr. Rini Riyanti, Sp.PK selaku Dosen Pembimbing 3 dan selaku Dosen Penguji yang telah memberikan waktu, bimbingan, pengarahan, motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi dan studi
5. Bapak dan Ibu Dosen, Staf dan Karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
6. Orang tua tercinta yang selalu mendukung dan memberikan seluruh kebutuhan dalam hidup;
7. Saudara saudaraku yang selalu memberi motivasi

8. Teman – teman satu penelitianku yang sudah berjuang bersama menyelesaikan skripsi ini
9. Para sahabat yang memberiku semangat dan dukungan
10. Seluruh teman-teman mahasiswa angkatan 2006 atas kebersamaannya selama ini.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan penulis demi sempurnanya skripsi ini. Harapan penulis semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak yang berkepentingan.

Jember, Juli 2010

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Inflamasi	5
2.1.1 Definisi	5
2.1.2 Macam Inflamasi	5
2.1.3 Manifestasi Klinis Inflamasi	8
2.2 Sel PMN (polimorfonuklear)	9
2.2.1 Definisi Neutrofil PMN.....	9

2.2.2 Sifat-sifat Neutrofil PMN.....	10
2.2.3 Respon Sel PMN Terhadap Radang.....	11
2.3 Luka dan Penyembuhan Luka.....	12
2.3.1 Klasifikasi Penyembuhan.....	15
2.3.2 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Penyembuhan Luka... ..	16
2.4 Propolis	16
2.4.1 Manfaat	17
2.4.2 Mekanisme Propolis Dalam Menurunkan Sel Radang	19
2.5 Kerangka Konseptual Penelitian.....	20
2.6 Hipotesis.....	22
BAB 3. METODE PENELITIAN	23
3.1 Jenis, Tempat, dan Waktu penelitian	23
3.1.1 Jenis Penelitian	23
3.1.2 Tempat Penelitian	24
3.1.3 Waktu Penelitian	24
3.2 Identifikasi Variabel Penelitian	24
3.2.1 Variabel Bebas	24
3.2.2 Variabel Terikat	24
3.2.3 Variabel Terkendali	24
3.3 Definisi Operasional Penelitian.....	25
3.4 Alat dan Bahan.....	25
3.4.1 Alat.....	25
3.4.2 Bahan.....	26
3.5 Jumlah dan Kriteria Sampel.....	26
3.5.1 Kriteria Sampel.....	26
3.5.2 Jumlah Sampel	27
3.6 Takaran Pemberian Propolis.....	27
3.7 Prosedur Penelitian	27
3.7.1 Tahap Persiapan.....	27

3.7.2 Tahap Pengelompokan.....	28
3.7.3 Tahap Pembuatan Luka.....	29
3.7.4 Tahap Perlakuan.....	29
3.7.5 Tahap Pembuatan sediaan.....	30
3.7.6 Tahap Penghitungan Jumlah PMN.....	30
3.8 Analisis Data	30
3.9 Alur Penelitian	32
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	32
4.1 HASIL PENELITIAN	32
4.2 ANALISIS PENELITIAN	35
4.3 PEMBAHASAN.....	38
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	48

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Komposisi Kimia Propolis.....	17
Tabel 4.1 Nilai rata-rata dan standar deviasi pengukuran jumlah neutrofil.....	32
Tabel 4.2 Uji homogenitas levene statistic kelompok kontrol dan perlakuan.....	34
Tabel 4.3 Uji Annova satu arah jumlah neutrofil antar kelompok	34
Tabel 4.4 Hasil uji Tukey LSD jumlah neutrofil antar kelompok	36

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Bagan Kerangka Konseptual Penelitian.....	21
Gambar 3.1 Skema Penelitian	23
Gambar 3.2 Alur Penelitian	31
Gambar 4.1 Grafik batang rata-rata jumlah Neutrofil	33
Gambar 4.2 Mekanisme kerja CAPE & Flavanoid	42

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Tahap Pembuatan Sediaan.....	48
Lampiran 2. Tahap Pengecatan	50
Lampiran 3. Tahap pembuatan Ekstrak Propolis.....	51
Lampiran 4. Hasil Penelitian	52
Lampiran 5. Analisis data.....	53
Lampiran 6. Foto-Foto Preparat.....	56

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Angka kejadian insiden luka terbuka semakin hari semakin bertambah seiring dengan semakin kompleksnya aktivitas kita sehari-hari. Dalam menjalankan kegiatan, sering kita mengalami kecelakaan yang mengakibatkan terjadinya luka. Baik luka ringan maupun luka berat. Luka dapat didahului oleh adanya trauma. Banyak jenis trauma yang dapat dialami, misalnya trauma oleh benda tajam ataupun tumpul, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik maupun gigitan hewan yang keseluruhannya dapat menimbulkan luka. Hilang atau rusaknya integritas jaringan tubuh akan memicu reaksi dari tubuh untuk mengadakan proses penyembuhan (Sjamsuhidayat & de Jong, 1997).

Segera sesudah dimulainya proses peradangan, neutrofil PMN dan makrofag akan bermigrasi ke daerah yang mengalami radang. Kedua macam sel ini berfungsi memakan dan membersihkan jaringan yang terinfeksi atau dari agen toksik (Guyton, 1996). Proses peradangan fase selular awal merupakan fase dimana terdapat sel pertama yang secara kimia tertarik ke daerah radang yaitu sel neutrofil PMN. Neutrofil PMN merupakan sel matang yang dapat menyerang dan merusak bakteri dan virus bahkan dalam sirkulasi darah. Dalam suatu proses radang, neutrofil bertugas untuk membersihkan jaringan dari agen infeksi atau toksik, sehingga dapat dijadikan acuan dalam menilai inflamasi. Neutrofilia (PMN) disebabkan produk peradangan yang memasuki aliran darah yang kemudian ditransport ke sumsum tulang dan bekerja pada kapiler sumsum dan pada neutrofil yang tersimpan untuk menggerakkan neutrofil-neutrofil ini dengan segera ke dalam sirkulasi darah sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah neutrofil pada jaringan yang meradang (Guyton & Hall, 1995:54).

Pada tahap awal penyembuhan luka diawali dengan proses peradangan yaitu suatu mekanisme pertahanan tubuh disebabkan adanya respons jaringan terhadap pengaruh-pengaruh merusak baik bersifat lokal maupun yang masuk ke dalam tubuh

(Korolkovas, 1988 ; dan Mutschler, 1991). Pada awal terjadinya luka akan terjadi vasokonstriksi awal pada arteriol yang berlangsung singkat, kemudian disertai eksudat protein dan meningkatnya permeabilitas dan eksudat sel radang di daerah luka. Reaksi radang dapat diamati dari gejala-gejala klinis. Di sekitar jaringan terkena radang terjadi peningkatan panas (kalor), timbul warna kemerah-merahan (rubor) dan pembengkakan (tumor). Kemungkinan disusul perubahan struktur jaringan yang dapat menimbulkan kehilangan fungsi (Korolkovas, 1988 ; dan Mutschler, 1991).

Hasil terbaik dari reaksi peradangan dapat dicapai jika terjadi sedikit atau tidak ada sama sekali kerusakan jaringan dibawahnya. Sebaliknya jika jumlah jaringan yang dihancurkan cukup signifikan maka resolusi tidak terjadi (Price & Wilson, 2005). Oleh karena itu proses peradangan yang berlebihan harus ditekan dengan memberikan obat yang bersifat antagonis atau anti radang (Lawler, 1992). Jaringan yang rusak harus diperbaiki oleh proliferasi sel-sel pejamu di dekatnya yang masih hidup. Perbaikan ini melibatkan beberapa komponen yang terpisah tetapi terkoordinasi. Komponen utama adalah regenerasi, sebenarnya melibatkan proliferasi unsur-unsur yang hilang, hasil akhirnya adalah penggantian unsur-unsur yang hilang dengan jenis sel yang sama.

Komplikasi dari luka yang ada dapat timbul apabila luka tersebut tidak mendapat perawatan yang layak. Ketidakutuhan jaringan akan sangat mudah untuk diinfiltrasi oleh berbagai mikroorganisme sehingga menyebabkan infeksi. Bakteri patogen antara lain *Streptococcus*, *Staphylococcus* dan *Pneumococcus* (Boyd, 1971). Infeksi tidak hanya akan memberikan dampak lokal, namun juga sistemik. Bahkan dari luka tersebut organ lain yang jauh letaknya bisa terkena imbas oleh karena infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme. Pada keadaan lain inflamasi kronis dapat timbul karena inflamasi telah berlangsung lama. Pada inflamasi kronis yang merupakan refleksi reaksi terhadap stimulus yang menetap, kerusakan jaringan yang diinduksi oleh sel inflamasi memiliki gambaran penyembuhan yang ditandai dengan penggantian jaringan rusak oleh jaringan ikat sehingga memerlukan waktu penyembuhan yang lebih lama. Untuk itulah sekarang ini pengobatan yang dengan

bahan alami mulai banyak diminati sebagai pengobatan alternatif. Salah satu bahan alami sebagai terapi biologis alternatif yang diketahui aman serta dengan efek samping minimal adalah *propolis* (Galvao *et al.*, 2007:43).

Propolis adalah suatu zat berupa getah (resin) yang dihasilkan / disekresi tunas-tunas daun dan juga bagian batang, yang merembes keluar melalui kulit tumbuhan *Conifer* (pinus, cemara) yang dikumpulkan oleh lebah dan dicampur dengan lilin dan air liur lebah. Penggunaan propolis sebagai obat sebenarnya sudah dilakukan sejak abad ke-12. Orang-orang Yunani dan Romawi telah menggunakan propolis untuk mengobati bengkak. Bagi lebah sendiri propolis berfungsi untuk menambal sarang lebah yang bocor dan memperkuat sarang tempat lebah ratu menyimpan telurnya dari hama yang menyebabkan kebusukan telur-telurnya.

Lebih dari 180 phytochemicals ada di dalam Propolis antara lain flavonoid, berbagai turunan asam organik, phytosterols, terpenoids dan lain-lain. Zat-zat ini terbukti memiliki berbagai sifat *anti-inflammatory*, *antimicrobial*, *antihistaminic*, *antimutagenic* dan *anti allergenic*. Salah satu efeknya yaitu anti inflamasi (Park, 2002), propolis memiliki efek antiinflamasi baik yang akut maupun kronik pada penyakit arthritis. Ini dikarenakan oleh salah satu kandungan pada propolis yaitu *Caffeic acid Phenyl ester* (CAPE) dan flavonoid yang berperan dalam menghambat jalur siklooksigenase dan lipooksigenase dari metabolisme arakhidonat.

Potensi antiinflamasi dari propolis diduga dapat mengurangi kondisi kerusakan akibat proses peradangan, oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antiinflamasi dari propolis dalam mengurangi migrasi sel polimorfonuklear, dengan pendekatan Histopatologi. Indikator yang digunakan dengan cara menghitung jumlah sel-sel polimorfonuklear pada daerah luka sayat.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan permasalahan dari penelitian ini adalah apakah pemberian propolis secara topikal berpotensi menurunkan migrasi sel neutrofil polimorfonuklear (PMN) pada luka sayat tikus?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi pemberian propolis secara topikal terhadap penurunan migrasi sel neutrofil polimorfonuklear (PMN) pada luka sayat tikus.

1.4 Manfaat Penelitian

Diharapkan setelah penelitian ini dapat di ambil manfaatnya, antara lain:

1. memberikan dasar ilmiah penggunaan propolis pada luka sayat dikaji dari efek-efek menguntungkannya pada luka yaitu anti-inflamasi, anti mikroba dan anti bakteri.
2. memberikan informasi tambahan kepada masyarakat tentang manfaat dari propolis.
3. memberikan dasar ilmiah dalam upaya pengembangan budidaya propolis.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Inflamasi

2.1.1. Definisi

Inflamasi ialah reaksi jaringan hidup terhadap semua bentuk jejas. Dalam reaksi ini ikut berperan pembuluh darah, saraf, dan cairan dari sel-sel tubuh di tempat jejas. Proses radang berperan dalam pemusnahan, melarutkan, dan membatasi agen penyebab jejas dan merintis jalan untuk pemulihan jaringan yang rusak pada tempat itu (Robbins & Kumar, 1995:28). Radang merupakan respon protektif setempat yang ditimbulkan oleh cedera atau kerusakan jaringan, yang berfungsi menghancurkan dan mengurangi baik agen pencedera maupun jaringan yang cedera (Dorland, 2002:1097). Sedangkan Yuwono dkk (2001) mengatakan radang adalah respon tubuh yang umum dan menguntungkan terhadap suatu iritan atau mikroorganisme.

2.1.2. Macam Inflamasi

Beberapa bentuk peradangan dapat timbul berdasarkan atas jenis eksudat yang terbentuk, organ atau jaringan tertentu yang terlibat dan lamanya proses peradangan. Berdasarkan lama proses peradangan, terdapat 3 jenis radang yaitu radang akut, kronis dan subakut. Radang akut terjadi selama eksudasi aktif (awal), radang kronis jika ada bukti perbaikan yang sudah lanjut dan radang subakut jika ada bukti awal perbaikan bersama dengan eksudasi (Price & Wilson, 1995:47).

a. Inflamasi akut

Menurut Robbins & Kumar (2007:36-37) inflamasi akut merupakan respons segera dan dini terhadap jejas yang di rancang untuk mengirimkan leukosit ke tempat jejas. Sesampainya di tempat jejas, leukosit membersihkan setiap mikroba yang menginvasi dan memulai proses penguraian jaringan nekrotik. Proses ini memiliki dua komponen utama:

1. Perubahan vaskular: perubahan dalam kaliber pembuluh darah yang mengakibatkan peningkatan aliran darah (vasodilatasi) dan perubahan struktural

yang memungkinkan protein plasma untuk meninggalkan sirkulasi (peningkatan permeabilitas vascular).

2. Berbagai kejadian yang terjadi pada sel: emigrasi leukosit dari mikrosirkulasi dan akumulasinya di fokus jejas (rekrutmen dan aktivasi selular). Sel-sel karakteristik pada jenis peradangan yaitu radang akut sel-selnya polimorf kecuali pada demam tifoid dimana sel-sel mononuclear predominan, radang subakut terdiri dari polimorf, sel-sel plasma dan limfosit, dan radang kronis dengan limfosit sel plasma dan fibroblast (Thomson & Cotton, 1997:28). Penyebab radang akut adalah sebagai berikut:

1. Organisme : bakteri, virus, jamur, parasit
2. Trauma mekanis : terpotong, terbentur
3. Zat-zat kimia : anorganik (asam-asam kuat, alkali kuat), organik, cairan tubuh yang dikeluarkan (misalnya : urine, empedu)
4. Radiasi : pengionan, ultraviolet
5. Perbedaan temperature yang besar : dingin, panas
6. Kehilangan suplai darah : infarksi
7. Reaksi imunologis : kompleks imun

Pada fase ini leukosit yang berperan hanya dua tipe yang penting. Pertama golongan terbesar adalah neutrofil PMN; sangat motil (penuh daya gerak), mempunyai banyak lisosom untuk mencernakan bakteri dan sel-sel yang mudah tidak berguna lagi dan berumur pendek. Kemudian makrofag (berasal dari monosit) yang utama; kurang motil, mengandung lebih sedikit lisosom dan menghasilkan debrid termasuk polimorf mati, bakteri dan fibrin (Lawler et al., 1992:10).

b. Inflamasi subakut

Menurut Thomson dan Cotton (1997:28-34) radang subakut merupakan peradangan yang terletak antara akut dan kronik. Sel yang predominan adalah sel plasma, tetapi di temukan juga polimorf dan limfosit. Radang ini memperlihatkan sejumlah manifestasi dari kedua jenis peradangan, dengan campuran peningkatan vaskularisasi dan oksidasi demikian juga dengan peningkatan fibrosis. Sel-sel

karakteristik pada jenis peradangan yaitu radang akut sel-selnya polimorf kecuali pada demam tifoid dimana sel-sel mononuclear predominan, radang subakut terdiri dari polimorf, sel-sel plasma dan limfosit, dan radang kronis dengan limfosit sel plasma dan fibroblast (Thomson & Cotton, 1997:28).

b. Inflamasi Kronis

Menurut Robbins & Kumar (2007:56-58) inflamasi kronis dapat dianggap sebagai inflamasi memanjang (berminggu-minggu hingga berbulan-bulan bahkan bertahun-tahun), dan terjadi inflamasi aktif, jejas jaringan, dan penyembuhan secara serentak. Berlawanan dengan inflamasi akut, yang dibedakan dengan perubahan vaskular, edema, dan infiltrat neutrofilik yang sangat banyak, inflamasi kronik ditandai dengan hal-hal berikut:

1. Infiltrasi sel mononuclear (radang kronik), yang mencakup makrofag, limfosit, dan sel plasma.
2. Destruksi jaringan, sebagian besar diatur oleh sel radang
3. Repair (perbaikan), melibatkan proliferasi pembuluh darah baru (angiogenesis) dan fibrosis.

Perubahan ini terjadi ketika respons akut tidak teratasi karena agen cedera yang menetap atau karena gangguan proses penyembuhan normal. Sebagai contoh, ulkus peptikum duodenum awalnya memperlihatkan inflamasi akut yang diikuti dengan awal perbaikan (resolusi). Namun, jejas epitel duodenum yang berulang dapat menghentikan proses resolusi ini dan menimbulkan suatu lesi yang ditandai dengan kedua inflamasi akut dan kronik.

Inflamasi kronik terjadi pada keadaan sebagai berikut;

1. Infeksi virus. Infeksi intrasel apapun secara khusus memerlukan limfosit (dan makrofag) untuk mengidentifikasi dan mengeradikasi sel yang terinfeksi.
2. Infeksi mikroba persisten, sebagian besar ditandai dengan adanya serangkaian mikroorganisme terpilih, termasuk mikobakterium (basilus turberkel)
3. Paparan yang lama terhadap agen yang berpotensi toksik

4. Penyakit auto imun, seseorang mengalami respons imun terhadap antigen dan jaringan tubuhnya sendiri.

2.1.3. Manifestasi Klinis Inflamasi

Tanpa memandang penyebab yang merupakan faktor predisposisi, respon dasar inflamasi hampir selalu sama jenisnya, yaitu:

1. mikroskopik

Berikut ini adalah urutan peristiwa yang biasa terjadi pada reaksi radang;

- a. Konstriksi arteriolar sementara
- b. Dilatasi arteriolar, kapiler dan venula
- c. Peningkatan permeabilitas dinding pembuluh
- d. Eksudasi dari cairan peradangan kaya protein-ekudat
- e. Hemokonsentrasi akibat kehilangan cairan kedalam jaringan, tetapi retensi intravaskuler dari eritrosit
- f. Marginasi leukosit yang meninggalkan arus aksial, masuk ke dalam zona plasmatic dan memagari permukaan endotel
- g. Emigrasi leukosit dan diapedesis dari eritrosit melalui dinding pembuluh
- h. Kemotaksis dari organisme oleh PMN
- i. Fagositosis dari organisme oleh PMN
- j. Timbulnya makrofag-histiosit fagosit (Thomson & Cotton, 1997:27).

2. Makroskopik

Terdapat panas (kalor), nyeri (dolor), pembengkakan (tumor) dan kemerahan (rubor) dengan kehilangan fungsi yang variable (functiolaesa) (Thomson & Cotton, 1997:27). Rentetan bertingkat (kaskade) kejadian pada inflamasi akut diintegrasikan oleh pelepasan lokal mediator kimiawi. Perubahan vascular dan rekurtmen sel menentukan tiga dari lima tanda lokal klasik inflamasi akut: panas (kalor), kemerahan (rubor)), pembengkakan (tumor). Dua gambaran kardinal tambahan pada inflamasi akut yaitu nyeri (dolor) dan hilangnya fungsi (function laesa), terjadi akibat perluasan mediator dan kerusakan yang diperantai leukosit (Robbins & Kumar, 2007:37).

Sedangkan menurut Adam (1993) gejala radang adalah sebagai berikut:

- a. Kalor : karena terjadi proses kimia yang ditimbulkan penyerangan kuman tersebut, akibat banyaknya darah yang mengalir, proses penyerangan kuman dan penangkisan sel-sel darah putih.
- b. Rubor : warna merah karena banyaknya darah dan proses kimia.
- c. Dolor : nyeri atau sakit akibat penekanan pada saraf dan kerusakan jaringan termasuk jaringan saraf motorik dan sensorik.
- d. Tumor : pembengkakan akibat banyaknya darah yang mengalir ke tempat radang.

2.2. Sel PMN (Polymorphonuclear)

2.2.1. Definisi Neutrofil PMN

Dalam keadaan segar, neutrofil PMN berdiameter 7-9 μm dan 10-12 μm dalam hapusan darah kering. Dalam darah manusia, neutrofil jumlahnya paling banyak dan merupakan 65-75 % dari jumlah seluruh leukosit. Inti sangat polimorf dan memperlihatkan berbagai bentuk yaitu oval, bentuk huruf S, bersegmen (memiliki lobus), seperti kuda (*horse shoe*). Inti umumnya terdiri 3 sampai 5 lobus berbentuk lonjong yang tidak teratur, yang saling di hubungkan oleh benang-benang kromatin yang halus. Jumlah lobus bertambah sesuai dengan bertambahnya umur sel (Juncqueira *et al.*, 1998:231).

Neutrofil membentuk pertahanan terhadap invasi mikroorganisme, terutama bakteri dan merupakan fagosit aktif terhadap partikel kecil (Juncqueira *et al.*, 1998:234).

2.2.2. Sifat-sifat Neutrofil PMN

Neutrofil merupakan sel matang yang dapat menyerang dan merusak bakteri dan virus bahkan dalam sirkulasi darah. Dalam suatu proses radang, neutrofil bertugas untuk membersihkan jaringan dari agen infeksi atau toksik. Sifat-sifat neutrofil yaitu:

1. Diapedesis

Neutrofil dapat keluar melalui pori-pori pembuluh darah dengan proses diapedesis. Walaupun ukuran pori jauh lebih kecil daripada ukuran sel, sebagian kecil sel menerobos pori, bagian yang menerobos untuk sementara mengecil sampai berukuran pori (Guyton & Hall , 1995:52).

2. Gerak Amuboid

Neutrofil bergerak menuju jaringan dengan gerak amuboid. Neutrofil dapat bergerak paling sedikit tiga kali panjangnya setiap menit (Guyton & Hall , 1995:52).

3. Kemotaksis

Zat kimia dalam jaringan menyebabkan neurofil bergerak mendekati sumber zat kimia. Fenomena ini dikenal sebagai kemotaksis. Bila jaringan meradang, sejumlah produk berbeda dapat menyebabkan kemotaksis, termasuk sejumlah toksin bakteri , produk dengeratif jaringan yang meradang itu sendiri, dan senyawa lainnya (Guyton & Hall , 1995:52).

4. Fagositosis

Fungsi Neutrofil yang paling penting adalah fagositosis. Sewaktu mendekati sebuah partikel untuk difagositosis, sel-sel neutrofil mula-mula melekat pada reseptor yang melekat pada partikel itu kemudian akan menonjolkan pseudopodia ke semua jurusan di sekeliling partikel tersebut dan akan saling bertemu satu sama lainnya pada sisi yang berlawanan dan akan bergabung sehingga terjadilah ruangan tertutup yang berisi partikel-partikel yang sudah difagositosis (Guyton & Hall , 1995:52).

2.2.3. Respon Sel PMN Terhadap Radang

Setelah peradangan dimulai, neutrofil menginvasi daerah yang meradang dengan segera untuk melaksanakan fungsinya membersihkan jaringan dari agen infeksi atau toksik. Beberapa jam sesudah dimulainya radang akut, terjadi kenaikan jumlah neutrofil dalam darah kadang-kadang sampai empat hingga lima kali lipat dari

jumlah normal 4000 sampai 5000 menjadi 15.000 sampai 25.000 neutrofil permikroliter, keadaan ini disebut neutrofilia. Neutrofilia disebabkan produk peradangan yang memasuki aliran darah, yang kemudian ditransport ke sumsum tulang dan disitu bekerja pada kapiler sumsum dan pada neutrofil yang tersimpan untuk menggerakkan neutrofil-neutrofil ini dengan segera ke dalam sirkulasi darah. Hal ini menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah neutrofil yang tersedia pada area jaringan yang meradang (Guyton & Hall , 1995:54).

Produk dari jaringan yang meradang juga menyebabkan neutrofil pindah dari sirkulasi ke dalam daerah yang meradang. Hal ini dilakukan dalam tiga fase yaitu :

- 1) Marginasi, dimana dinding kapiler dirusak oleh sel neutrofil dan menyebabkan neutrofil melekat.
- 2) Dengan meningkatnya permeabilitas kapiler dan venula kecil serta hal ini memungkinkan neutrofil lewat dengan diapedesis ke dalam ruangan jaringan.
- 3) Fenomena kemotaksis menyebabkan neutrofil bermigrasi ke arah jaringan yang cedera.

Dalam beberapa jam setelah dimulai kerusakan jaringan, area ini dipenuhi dengan neutrofil. Karena neutrofil merupakan sel yang telah matang, maka neutrofil siap melakukan fungsinya untuk membuang benda asing dari jaringan yang meradang (Guyton & Hall , 1995:54). Selama radang, lisosom neutrofil merupakan sumber fosfolipase yang penting. Aktivasi fosfolipase ini berguna untuk membebaskan asam arakhidonat dan fosfolipid sel sehingga proses peradangan dapat berlangsung (Robbins & Kumar, 1995:48).

2.3. Luka dan Penyembuhan Luka

Luka disebut juga trauma atau kerusakan, biasanya terbatas pada yang disebabkan oleh tindakan-tindakan fisik dengan terputusnya kontinuitas normal suatu struktur (Dorland, 2006:2427)

Penyembuhan luka adalah suatu kualitas dari kehidupan jaringan hal ini juga berhubungan dengan regenerasi jaringan. Fase penyembuhan luka digambarkan

seperti yang terjadi pada luka pembedahan terdiri dari fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase maturasi.

a. Fase Inflamasi

Fase ini terjadi segera setelah luka dan berakhir 3 – 4 hari. Dua proses utama terjadi pada fase ini yaitu hemostasis dan fagositosis. Hemostasis (penghentian perdarahan) akibat fase konstriksi pembuluh darah besar di daerah luka, retraksi pembuluh darah, endapan fibrin (menghubungkan jaringan) dan pembentukan bekuan darah di daerah luka. Bekuan darah dibentuk oleh platelet yang menyiapkan matrik fibrin yang menjadi kerangka bagi pengambilan sel. Scab (keropeng) juga dibentuk dipermukaan luka. Bekuan dan jaringan mati, scab membantu hemostasis dan mencegah kontaminasi luka oleh mikroorganisme. Dibawah *scab epithelial sel* berpindah dari luka ke tepi. *Epithelial sel* membantu sebagai barrier antara tubuh dengan lingkungan dan mencegah masuknya mikroorganisme.

Fase inflamasi juga memerlukan pembuluh darah dan respon seluler digunakan untuk mengangkat benda-benda asing dan jaringan mati. Suplai darah yang meningkat ke jaringan membawa bahan-bahan dan nutrisi yang diperlukan pada proses penyembuhan. Pada akhirnya daerah luka tampak merah dan sedikit bengkak. Selama sel berpindah lekosit (terutama neutrofil) berpindah ke daerah interstitial. Tempat ini ditempati oleh makrofag yang keluar dari monosit selama kurang lebih 24 jam setelah cedera atau luka. Makrofag ini menelan mikroorganisme dan sel debris melalui proses yang disebut fagositosis. Makrofag juga mengeluarkan faktor angiogenesis (AGF) yang merangsang pembentukan ujung epitel diakhir pembuluh darah. Makrofag dan AGF bersama-sama mempercepat proses penyembuhan. Respon inflamasi ini sangat penting bagi proses penyembuhan.

b. Fase Proliferasi

Fase kedua ini berlangsung dari hari ke-3 atau 4 sampai hari ke-21 setelah pembedahan. Proses kegiatan seluler yang penting pada fase ini adalah memperbaiki dan menyembuhkan luka dan ditandai dengan proliferasi sel. Peran fibroblas sangat

besar pada proses perbaikan, yaitu bertanggung jawab pada persiapan menghasilkan produk struktur protein yang akan digunakan selama proses rekonstruksi jaringan.

Pada jaringan lunak yang normal (tanpa perlukaan), pemaparan sel fibroblas sangat jarang dan biasanya bersembunyi di matriks jaringan penunjang. Sesudah terjadi luka, fibroblas akan aktif bergerak dari jaringan sekitar luka ke dalam daerah luka, kemudian akan berkembang (proliferasi) serta mengeluarkan beberapa substansi (*kolagen, elastin, hyaluronic acid, fibronectin dan proteoglycans*) yang berperan dalam membangun (rekonstruksi) jaringan baru. Fungsi kolagen yang lebih spesifik adalah membentuk cikal bakal jaringan baru (*connective tissue matrix*) dan dengan dikeluarkannya substrat oleh fibroblast, memberikan tanda bahwa makrofag, pembuluh darah baru dan juga fibroblas sebagai satu kesatuan unit dapat memasuki kawasan luka.

Sejumlah sel dan pembuluh darah baru yang tertanam di dalam jaringan baru tersebut disebut sebagai jaringan granulasi, sedangkan proses proliferasi fibroblas dengan aktifitas sintetikanya disebut fibroplasia. Respons yang dilakukan fibroblas terhadap proses *fibroplasia* adalah:

- 1) Proliferasi
- 2) Migrasi
- 3) Deposit jaringan matriks
- 4) Kontraksi luka

Angiogenesis suatu proses pembentukan pembuluh kapiler baru didalam luka, mempunyai arti penting pada proses penyembuhan luka. Kegagalan vaskuler akibat penyakit (diabetes), pengobatan (radiasi) atau obat (preparat steroid) mengakibatkan lambatnya proses sembuh karena terbentuknya ulkus yang kronis. Jaringan vaskuler yang melakukan invasi kedalam luka merupakan suatu respons untuk memberikan oksigen dan nutrisi yang cukup di daerah luka karena biasanya pada daerah luka terdapat keadaan hipoksik dan turunnya tekanan oksigen. Pada fase ini fibroplasia dan angiogenesis merupakan proses terintegrasi dan dipengaruhi oleh substansi yang dikeluarkan oleh platelet dan makrofag (*growth factors*).

Proses selanjutnya adalah epitelisasi, dimana fibroblas mengeluarkan *keratinocyte growth factor* (KGF) yang berperan dalam stimulasi mitosis sel epidermal. Keratinisasi akan dimulai dari tepi luka dan akhirnya membentuk barrier yang menutupi permukaan luka. Dengan sintesa kolagen oleh fibroblas, pembentukan lapisan dermis ini akan disempurnakan kualitasnya dengan mengatur keseimbangan jaringan granulasi dan dermis. Untuk membantu jaringan baru tersebut menutup luka, fibroblas akan merubah strukturnya menjadi myofibroblast yang mempunyai kapasitas melakukan kontraksi pada jaringan. Fungsi kontraksi akan lebih menonjol pada luka dengan defek luas dibandingkan dengan defek luka minimal. Fase proliferasi akan berakhir jika epitel dermis dan lapisan kolagen telah terbentuk, terlihat proses kontraksi dan akan dipercepat oleh berbagai growth factor yang dibentuk oleh makrofag dan platelet.

c. Fase maturasi

Fase maturasi dimulai hari ke-21 dan berakhir 1-2 tahun setelah pembedahan. Fibroblast terus mensintesis kolagen. Kolagen menjalin dirinya, menyatukan dalam struktur yang lebih kuat. Bekas luka menjadi kecil, kehilangan elastisitas dan meninggalkan garis putih.

Tujuan dari fase maturasi adalah menyempurnakan terbentuknya jaringan baru menjadi jaringan penyembuhan yang kuat dan bermutu. Fibroblas sudah mulai meninggalkan jaringan granulasi, warna kemerahan dari jaringan mulai berkurang karena pembuluh mulai regresi dan serat fibrin dari kolagen bertambah banyak untuk memperkuat jaringan parut. Kekuatan dari jaringan parut akan mencapai puncaknya pada minggu ke-10 setelah perlukaan. Sintesa kolagen yang telah dimulai sejak fase proliferasi akan dilanjutkan pada fase maturasi. Kecuali pembentukan kolagen juga akan terjadi pemecahan kolagen oleh enzim kolagenase. Kolagen muda (*gelatinous collagen*) yang terbentuk pada fase proliferasi akan berubah menjadi kolagen yang lebih matang, yaitu lebih kuat dan struktur yang lebih baik (proses remodelling).

Untuk mencapai penyembuhan yang optimal diperlukan keseimbangan antara kolagen yang diproduksi dengan yang dipecahkan. Kolagen yang berlebihan akan terjadi penebalan jaringan parut atau *hypertrophic scar*, sebaliknya produksi yang berkurang akan menurunkan kekuatan jaringan parut dan luka akan selalu terbuka. Luka dikatakan sembuh jika terjadi kontinuitas lapisan kulit dan kekuatan jaringan kulit mampu atau tidak mengganggu untuk melakukan aktivitas yang normal. Meskipun proses penyembuhan luka sama bagi setiap penderita, namun hasil yang dicapai sangat tergantung dari kondisi biologik masing-masing individu, lokasi serta luasnya luka. Penderita muda dan sehat akan mencapai proses yang cepat dibandingkan dengan kurang gizi, disertai dengan penyakit sistemik (diabetes melitus).

2.3.1 Klasifikasi Penyembuhan

Terdapat 3 macam tipe penyembuhan luka, dimana pembagian ini dikarakteristikan dengan jumlah jaringan yang hilang.

- a. *Primary Intention Healing* (penyembuhan luka primer) yaitu penyembuhan yang terjadi segera setelah diusahakan bertautnya tepi luka biasanya dengan jahitan.
- b. *Secondary Intention Healing* (penyembuhan luka sekunder) yaitu luka yang tidak mengalami penyembuhan primer. Tipe ini dikarakteristikan oleh adanya luka yang luas dan hilangnya jaringan dalam jumlah besar. Proses penyembuhan terjadi lebih kompleks dan lebih lama. Luka jenis ini biasanya tetap terbuka.
- c. *Tertiary Intention Healing* (penyembuhan luka tertier) yaitu luka yang dibiarkan terbuka selama beberapa hari setelah tindakan debridement. Setelah diyakini bersih, tepi luka dipertautkan (4-7 hari). Luka ini merupakan tipe penyembuhan luka yang terakhir.

2.3.2 Faktor-faktor Yang Mempengaruhi Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka merupakan suatu proses yang kompleks dan dinamis karena merupakan suatu kegiatan bioseluler dan biokimia yang terjadi saling

berkesinambungan. Proses penyembuhan luka tidak hanya terbatas pada proses regenerasi yang bersifat lokal saja pada luka, namun dipengaruhi pula oleh faktor intrinsik dan faktor ekstrinsik (Lelyana, 2008).

- a. Faktor Instrinsik adalah faktor dari penderita yang dapat berpengaruh dalam proses penyembuhan meliputi usia, status nutrisi dan hidrasi, oksigenasi dan perfusi jaringan, status imunologi, dan penyakit penyerta (hipertensi, DM, atherosclerosis).
- b. Faktor Ekstrinsik adalah faktor yang didapat dari luar penderita yang dapat berpengaruh dalam proses penyembuhan luka meliputi pengobatan, radiasi, stres psikologis, infeksi, iskemia dan trauma jaringan.

2.4. Propolis

Propolis berasal dari bahasa Yunani yaitu "pro" (sebelum) dan "polis" (kota). *Bee propolis* secara umum dapat diartikan "sebelum masuk sarang lebah", yang bermakna pelindung sarang lebah dari faktor-faktor berbahaya yang terdapat di luar sarang. Propolis merupakan substansi resin (sejenis getah tanaman) yang berasal dari kulit kayu dan pucuk-pucuk tanaman, terutama dari tanaman poplar (*Populus spp.*), *birch* (*Betula spp.*), atau *conifer* (sejenis pinus), yang dikumpulkan oleh lebah dan kemudian dicampur dengan lilin dan air liur lebah. Propolis digunakan untuk melindungi pintu sarang lebah yang mana akan mensterilkan setiap lebah yang masuk. Selain itu lebah juga menggunakan propolis untuk memperbaiki sarang mereka yang retak atau rusak (Bankova *et al.*, 2000).

Menurut Galvao (2007), propolis merupakan campuran yang sangat kompleks antara lilin, resin, balsam, minyak, dan sejumlah kecil pollen, yang selanjutnya dikatakan bahwa propolis itu mutunya sangat bervariasi tergantung pada tanaman, species lebah, iklim, dan lahan sehingga didapat warna propolis putih hingga kekuningan sampai merah. Bahan propolis yang diperoleh lebah jika sudah terkumpulkan diletakkan pada kantong kaki belakang lalu dibawa ke sarangnya dalam bentuk butiran halus.

Komposisi kimia propolis bervariasi, pada umumnya mengandung protein, asam amino, vitamin, dan mineral serta flavanoid (Havsteen, 1983). Flavanoid merupakan senyawa yang mempunyai potensi sebagai antioksidan. Jenis flavanoid yang terkandung dalam propolis juga beragam diantaranya quercetin, pinostrobin, kaempferol, galangin, pinocembrin, pinobaksin serta beberapa jenis senyawa yang berasal dari golongan phenolic yang lainnya yaitu *cinnamic acid*, *cinnamic alcohol*, *vanilin*, *benzyl alcohol*, *benzoic acid*, *caffeic* serta *ferulic acid*. Standarisasi propolis diperlukan untuk mengontrol kualitas dan komposisinya (Havsteen., 1983). Berikut ini tabel komposisi kimia propolis menurut Krell (1996).

Tabel 2.1 Komposisi Kimia Propolis

Kelas Komponen	Jumlah	Group komponen
Resin	45-55%	Flavonoid, asam fenolat dan esternya
Lilin dan asam lemak	25-53%	Sebagian besar dari lilin lebah dan beberapa dari tanaman
Minyak essential	10%	Senyawa folatil
Protein	5%	Protein kemungkinan berasal dari pollen dan amino bebas
Senyawa organik lain dan mineral	5%	Keton, laktan, kuinon, asam benzoat dan estranya, gula, vitamin, mineral mikro terutama Fe, Zn, Mg, Au, Ag, Hg, La

Sumber : Krell (1996)

2.4.1 Manfaat

Penggunaan propolis sebagai obat sebenarnya sudah dilakukan sejak abad ke 12. orang-orang Yunani dan Romawi telah menggunakan propolis untuk mengobati bengkak. Orang mesir selain menggunakan propolis sebagai obat, juga memakainya sebagai perekat pada pembuatan kano. Propolis memiliki zat yang dapat menyembuhkan dengan cepat dan efektif digunakan pada jaman perang BOER

sebagai penyembuh luka (Galvao, 2007). Bagi lebah sendiri propolis berfungsi melindungi seluruh sarang dan tempat lebah ratu menyimpan telurnya dari hama yang menyebabkan kebusukan telur-telurnya yaitu *Bacillus larvae*

Propolis sangat efektif untuk meningkatkan daya tahan tubuh dan melawan bakteri yang resistant terhadap antibiotik buatan manusia. Dalam sebuah tes ilmiah dengan cell-culture test terbukti Propolis paling efektif melawan bakteri patogen jenis gram positif seperti *Staphylococcus sp.* (antara lain penyebab infeksi saluran kencing), *Clostridium sp.* (antara lain penyebab gangguan perut/gastrointestinal), *Corynebacterium diphtheriae* (penyebab diphtheriae) dan jenis-jenis *Streptococcus sp.* (antara lain penyebab infeksi tenggorokan, infeksi sinus dan scarlet fever). Bakteri gram negatif yang juga efektif dilawan dengan Propolis antara lain *Klebsiella pneumonia* (penyebab pneumonia dan bronchitis) dan *Pseudomonas sp.* (antara lain penyebab infeksi pada luka).

Bukti ilmiah lain adalah seperti yang dipublikasikan di *Archives of Pediatric and Adolescent Medicine* dimana 430 anak secara random diterapi dengan Propolis selama musim dingin dan dibandingkan dengan anak lain yang diberi obat buatan pabrik. Musim dingin dipilih karena pada musim ini pada umumnya anak-anak mudah terkena infeksi saluran pernafasan. Hasil tes tersebut menunjukkan bahwa anak-anak yang diberi Propolis terkena infeksi saluran pernafasan 55 % lebih rendah dibandingkan dengan anak-anak lain yang mendapatkan obat dari pabrik

Propolis juga untuk penyembuhan dan pencegahan penyakit yang biasa terjadi pada kaum wanita, seperti peradangan atau infeksi yang menyerang saluran reproduksi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Propolis dapat mencegah perkembangan sel-sel kanker. Hasil penelitian tersebut kemudian diperkuat lagi pada tahun 1991, *Comprehensive Cancer Centre dan Institute of Cancer Research of Columbia University* mengadakan penelitian tentang *Bee Propolis* terhadap kesehatan dengan judul '*Suppression of Adenovirus type 5E1A-Mediated-Transformation and Expression of The Transformed Phenotype by Caffeic Acid Phenethyl Ester*' (CAPE). CAPE yang di ekstrak langsung dari Propolis dapat memberikan perlawanan yang

efektif terhadap infeksi virus dan beberapa jenis kanker. Penelitian selanjutnya menemukan bahwa CAPE juga memiliki efek anti inflamasi.

2.4.2. Mekanisme Propolis Dalam Menurunkan Sel Radang

Propolis dapat mengurangi terjadinya peradangan. Propolis memiliki efek antiinflamasi (Park, 2002). Ini dikarenakan oleh salah satu kandungan pada propolis yaitu *Caffeic acid Phenyl ester* (CAPE) yang berperan dalam penekanan aktivasi sel-T. CAPE memiliki efek inhibitor pada reaksi cepat dan lambat aktivasi sel-T oleh sel-T reseptor. CAPE berperan dalam menghambat *Nuclear Transcription Factor KappaB* (NF- κ B), yang memacu proliferasi serta kerja dari sel-T. Selain itu, CAPE juga menghambat pembentukan IL2 yang mana IL2 juga berperan dalam proliferasi sel-T.

Disamping pengaruhnya pada proliferasi sel-T, CAPE mempengaruhi jalur lipooksigenase pada proses peradangan. Sedangkan *Quercetin* yang merupakan salah satu jenis flavanoid yang terkandung dalam propolis mampu mempengaruhi jalur siklooksigenase. Kedua senyawa tersebut berperan sebagai penghalang jalur siklooksigenase dan lipooksigenase dari metabolisme asam arakhidonat. Menurut Robbins & Kumar (1995:40) metabolisme asam arakhidonat akan menghasilkan jalur lipooksigenase dan siklooksigenase yang berperan dalam proses radang. Lipooksigenase yang merupakan enzim utama neutrofil yang nantinya akan menghasilkan senyawa yang disebut leukotrin, sedangkan siklooksigenase menghasilkan prostaglandin yang merupakan mediator dalam reaksi radang. Adanya hambatan pada jalur lipooksigenase akan berpengaruh pada produksi leukotrien dimana leukotrien dikenal sebagai mediator dalam aktivitas leukosit yang berperan dalam menstimulasi agregasi dan kemotaksis PMN. Menurunnya produksi leukotrien karena hambatan pada jalur lipooksigenase tadi akan berpengaruh pada penurunan aktivitas fagositosis neutrofil. Dengan menghambat kerja leukotrien akan lebih poten menekan proses radang (Arundina, 2003:404).

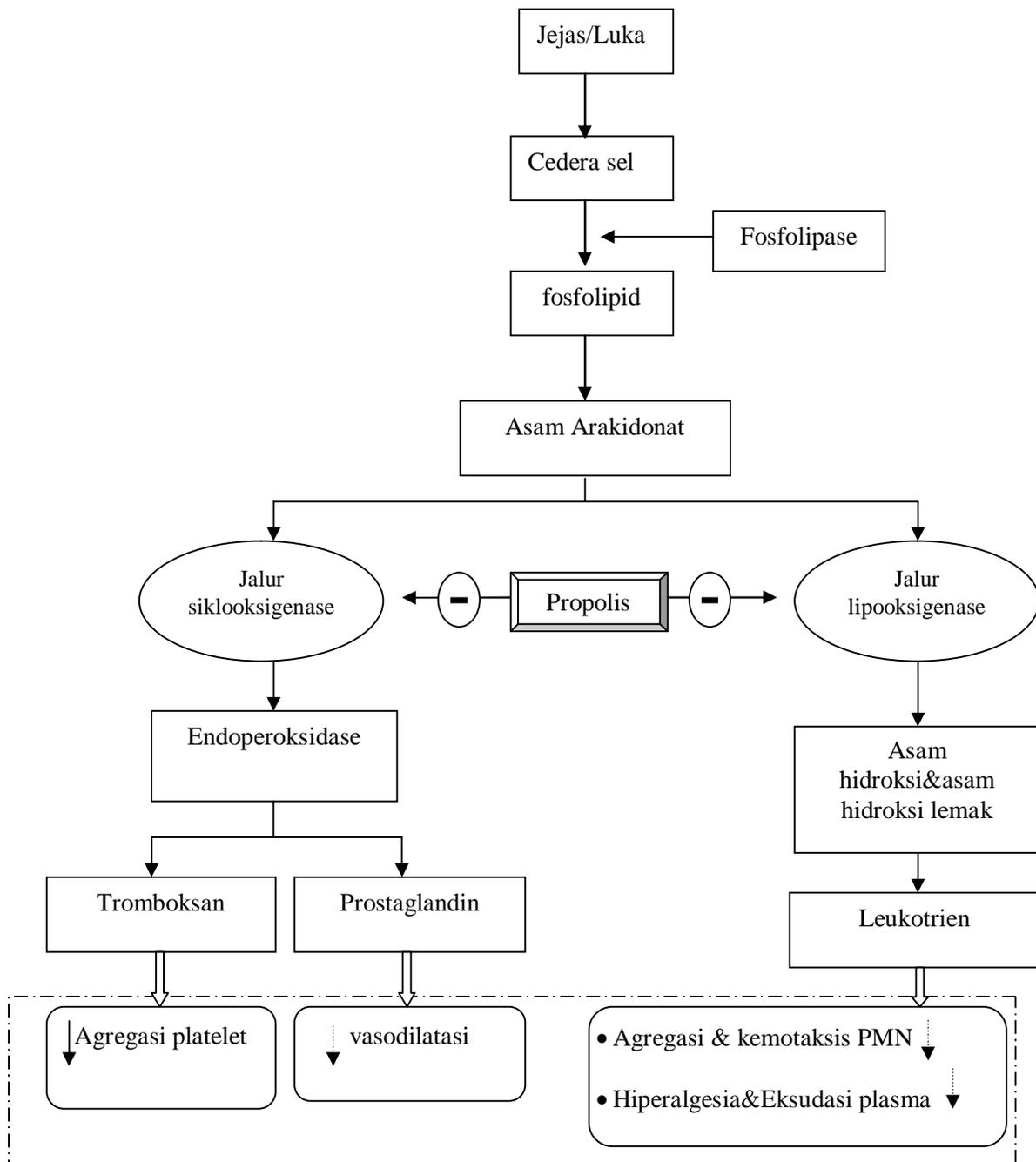
Terhambatnya jalur siklooksigenase dan lipooksigenase oleh CAPE, akan mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah akan berkurang sehingga migrasi leukosit (PMN) ke daerah radang juga menurun. Pada umumnya radang akut ini ditandai dengan penimbunan neutrofil polimorfonuklear (PMN) ke daerah radang juga menurun. Pada umumnya radang akut ini ditandai dengan penimbunan neutrofil polimorfonuklear (PMN) dalam jumlah banyak (Robbins & Kumar, 2007:37).

2.5. Kerangka Konseptual Penelitian

Adanya cedera atau masuknya mikroorganisme dapat mempengaruhi reaksi imun kita dan memberikan respon tubuh berupa radang dan penyembuhan untuk bertahan hidup.

Selama berlangsungnya fenomena radang, banyak mediator kimia yang dilepaskan secara lokal antara lain histamin, 5 hidroksitriptin (5HT), faktor kemotaktin bradikinin, kukatrien dan prostaglandin. Mediator-mediator tersebut berasal dari pemecahan asam arakidonat oleh enzim siklooksigenase. Lipooksigenase adalah enzim yang mengubah asam arakidonat menjadi senyawa leukotrien. Leukotrien mempunyai kemotaktik yang kuat atas eosinofil, neutrofil dan makrofag dan akan berinteraksi dengan asam arakidonat menghasilkan pembentukan senyawa kemotaktik sebagai mediator kimiawi yang dapat merangsang migrasi leukosit termasuk PMN ke area radang. Umumnya prostaglandin yang paling lazim ditemukan dalam tubuh ialah PGE₂, PGF₂, and PGI₂ (prostatiklin).

Komponen-komponen yang terdapat dalam propolis yaitu berbagai macam vitamin, mineral, dan asam amino yang berfungsi untuk oksigenasi dan nutrisi pada jaringan yang mengalami nekrosis, menstimulasi pertumbuhan sel-sel epitel yang baru dan meningkatkan pembentukan jaringan sehat. Selain itu flavanoid/phenol yang terkandung dalam propolis diduga dapat menghambat produksi *ciclooxigenase* (COX-2), sehingga dapat digunakan sebagai antiinflamasi. Berikut ini bagan kerangka konseptual penelitian.



Gambar 2.1 Bagan Kerangka Konseptual Penelitian

2.6. Hipotesis

Melalui berbagai teori dan fakta empirik yang kemudian dituangkan dalam kerangka konseptual peneliti, maka disusun hipotesis sebagai berikut :

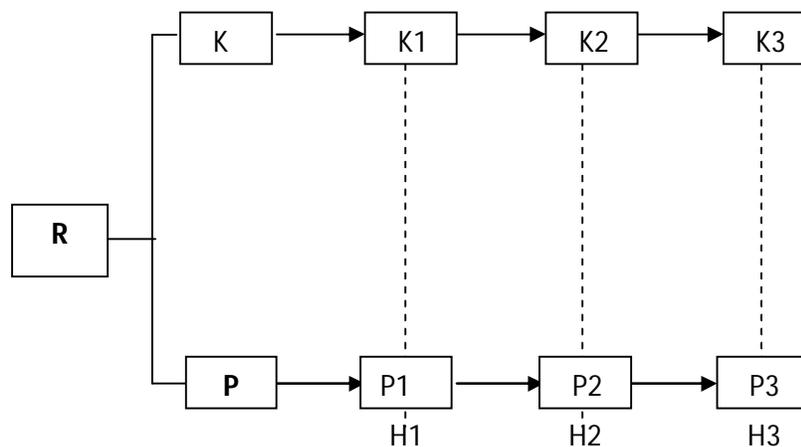
Pemberian propolis dapat menurunkan migrasi sel PMN pada luka sayat tikus.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis, Tempat, Waktu Penelitian

3.1.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimen laboratoris dengan rancangan penelitian *Post test only control group design* (Notoadmodjo, 2002:162). Secara skematis rancangan dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 3.1 Skema Penelitian

Keterangan:

- R : randomisasi
- K : kelompok kontrol
- P : kelompok perlakuan
- K1 : observasi kelompok kontrol pada hari ke-1
- K2 : observasi kelompok kontrol pada hari ke-3
- K3 : observasi kelompok kontrol pada hari ke-7
- P1 : observasi kelompok perlakuan pada hari ke-1
- P2 : observasi kelompok perlakuan pada hari ke-3
- P3 : observasi kelompok perlakuan pada hari ke-7
- H1 : hari ke-1 setelah insisi
- H3 : hari ke-3 setelah insisi

H7 : hari ke-7 setelah insisi

3.1.2 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fisiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

3.1.3 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari 2010.

3.2 Identifikasi Variabel Penelitian

3.2.1 Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah :

- a. Pemberian ekstrak propolis
- b. Luka sayat pada tikus

3.2.2 Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah migrasi sel neutrofil PMN.

3.2.3 Variabel terkontrol

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah :

- a. Makanan dan minuman hewan coba
- b. Kriteria sampel
- c. Prosedur penelitian
- d. Dosis propolis
- e. Cara insisi
- f. Besar dan lebar insisi pada paha tikus
- g. Teknik pembutan sediaan
- h. Waktu pengamatan
- i. Pengamat

3.3 Definisi Operasional Variabel

- a. Propolis yang digunakan dalam penelitian ini adalah hasil ekstraksi propolis lebah yang diperoleh melalui teknik maserasi. Teknik pengambilan ekstrak propolis diuraikan pada lampiran 3. Ekstrak propolis kemudian ditempelkan pada luka sayat yang telah dibuat dengan kedalaman dan lebar yang telah ditentukan, sebanyak 2 (dua) kali dalam sehari
- b. Luka yang dibuat dengan skalpel dengan panjang 2 cm dan kedalaman 0,5 cm supaya tidak terlalu lama terjadi pendarahan.
- c. Neutrofil polimorfonuklear merupakan jumlah leukosit PMN neutrofil (stab dan segmen) yang tampak pada mikroskop dengan cara menghitung jenis leukosit yang terlihat pada sediaan jaringan

3.4 Alat dan bahan

3.4.1 Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain

- a. Kandang plastik
- b. Timbangan untuk tikus wistar
- c. Kaca obyektif
- d. Mikroskop binokuler
- e. Skalpel
- f. Gelas
- g. Bak pewarnaan
- h. Lampu spiritus
- i. Rak kaca objek
- j. Pinset
- k. Gunting
- l. Kain kasa

3.4.2 Bahan

- a. Ekstrak propolis
- b. Makanan Tikus wistar
- c. Minuman Tikus wistar
- d. Alkohol
- e. Minyak emersi
- f. cat HE
- g. formaldehide
- h. Jaringan tikus
- i. Air
- j. Parafin
- k. Formalin
- l. xylol
- m. eter chlorid

3.5 Sampel Penelitian

3.5.1 Kriteria Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) dengan kriteria sebagai berikut :

- a. Tikus dengan jenis kelamin jantan galur murni
- b. Tikus wistar dengan berat badan \pm 250-300 gram
- c. Usia 2-3 bulan
- d. Tikus dalam keadaan sehat

3.5.2 Jumlah Sampel

Jumlah sampel pada penelitian ini dihitung dengan rumus (Sarjono, 2000) sebagai berikut: Jika r adalah jumlah sampel dan t adalah jumlah perlakuan, maka:

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

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

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

$$(r-1) \geq 15/5$$

$$(r-1) \geq 3$$

$$r \geq 3+1$$

$$r \geq 4$$

Berdasarkan rumus diatas didapatkan jumlah minimal tikus yang akan digunakan oleh peneliti sebanyak 5 ekor tikus untuk masing-masing kelompok. Jadi peneliti menggunakan 30 ekor tikus yang dibagi dalam enam kelompok yaitu 3 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan.

3.6 Takaran Pemberian Propolis

Diberikan secara topikal dengan mengoles sebanyak dua (2) kali dalam satu hari selama satu minggu, yaitu pada jam 7 pagi dan jam 7 malam .

3.7 Prosedur penelitian

3.7.1 Tahap Persiapan

1. Tikus wistar diadaptasikan dengan lingkungan selama satu minggu dan diberi makanan tikus serta minuman dari PDAM.

2. Mempersiapkan ekstrak propolis lebah

Proses pembuatan ekstrak propolis lebah dilakukan dengan teknik maserasi. Propolis kering dibersihkan dan diblender hingga halus selanjutnya ditimbang sebanyak 500 gram, kemudian dimasukkan ke dalam gelas beaker. Proses maserasi dilakukan dengan menambahkan 3,75 liter etanol 95% sebagai pelarut (Trusheva *et al.*, 2007:1). Campuran bahan disimpan selama 7 hari pada ruangan yang tidak terkena sinar matahari dengan dikocok kuat atau pengadukan dengan spatula pengaduk sebanyak 2 kali tiap hari (Susilo, 2007:73).

Tahap selanjutnya dilakukan penyaringan dengan corong buchner dan kertas saring untuk memisahkan filtrat dari ampas ke dalam labu erlenmeyer sehingga diperoleh filtrat. Hasil filtrasi (penyaringan) yang didapat dievaporasi dengan rotary evaporator pada suhu 45° C dengan tekanan vakum (<1 atm) sehingga diperoleh ekstrak propolis yang konsentrasinya kental (\pm 100 g). Selanjutnya ekstrak propolis diuapkan selama 24 jam di dalam gelas beaker sehingga kandungan etanolnya menguap (Mawardi *et al.*, 2002; Sabir, 2005:136). Selain itu untuk mengetahui kandungan etanol dalam ekstrak propolis benar-benar hilang, maka dilakukan metode uji bobot tetap terhadap propolis.

3.7.2 Tahap Pengelompokan Sampel

Jumlah sampel sebanyak 30 ekor yang terbagi atas 6 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri atas 5 ekor dengan perlakuan sebagai berikut:

a. Kelompok Kontrol

Tikus diberi luka sayat yang telah ditentukan dan tidak diberi propolis topical. Paha tikus dicukur kemudian disayat dengan menggunakan skalpel, kemudian dilakukan pengambilan sampel jaringan dan penghitungan jumlah neutrofil PMN pada hari ke-1, 3 dan 7.

b. Kelompok Perlakuan

Tikus dilukai dan diberi propolis topikal. Paha tikus dicukur kemudian disayat dengan menggunakan skalpel, kemudian dilakukan pengambilan sampel jaringan dan penghitungan jumlah neutrofil PMN pada hari ke-1, 3 dan 7.

3.7.3 Tahap Pembuatan Luka

Pada paha tikus dilakukan pencukuran rambut lalu dibuat luka sayat dengan panjang 2 cm dan kedalaman 0,5 cm menggunakan skalpel.

3.7.4 Tahap Perlakuan

1. 30 ekor tikus yang telah diadaptasikan dan dinyatakan dalam keadaan sehat kemudian dilakukan penimbangan berat badan.
2. Pada kedua kelompok (kelompok kontrol dan perlakuan), tikus diinduksi dengan luka sayat.
3. Pemberian propolis secara topikal pada kelompok perlakuan sebanyak 2 kali/hari selama satu minggu. Ketentuan waktu pemberian pada jam 7 pagi dan jam 7 malam.
4. Selama masa pengamatan tikus diberi makanan dan minuman.

3.7.5 Tahap Pembuatan Sediaan

Hewan coba dikorbankan pada hari pertama, ketiga, ketujuh dengan cara inhalasi eter klorid, yang selanjutnya diikuti pengambilan atau pemotongan jaringan. Tahap pembuatan sediaan diuraikan pada lampiran 1. Tahap selanjutnya yakni pengecatan diuraikan pada lampiran 2.

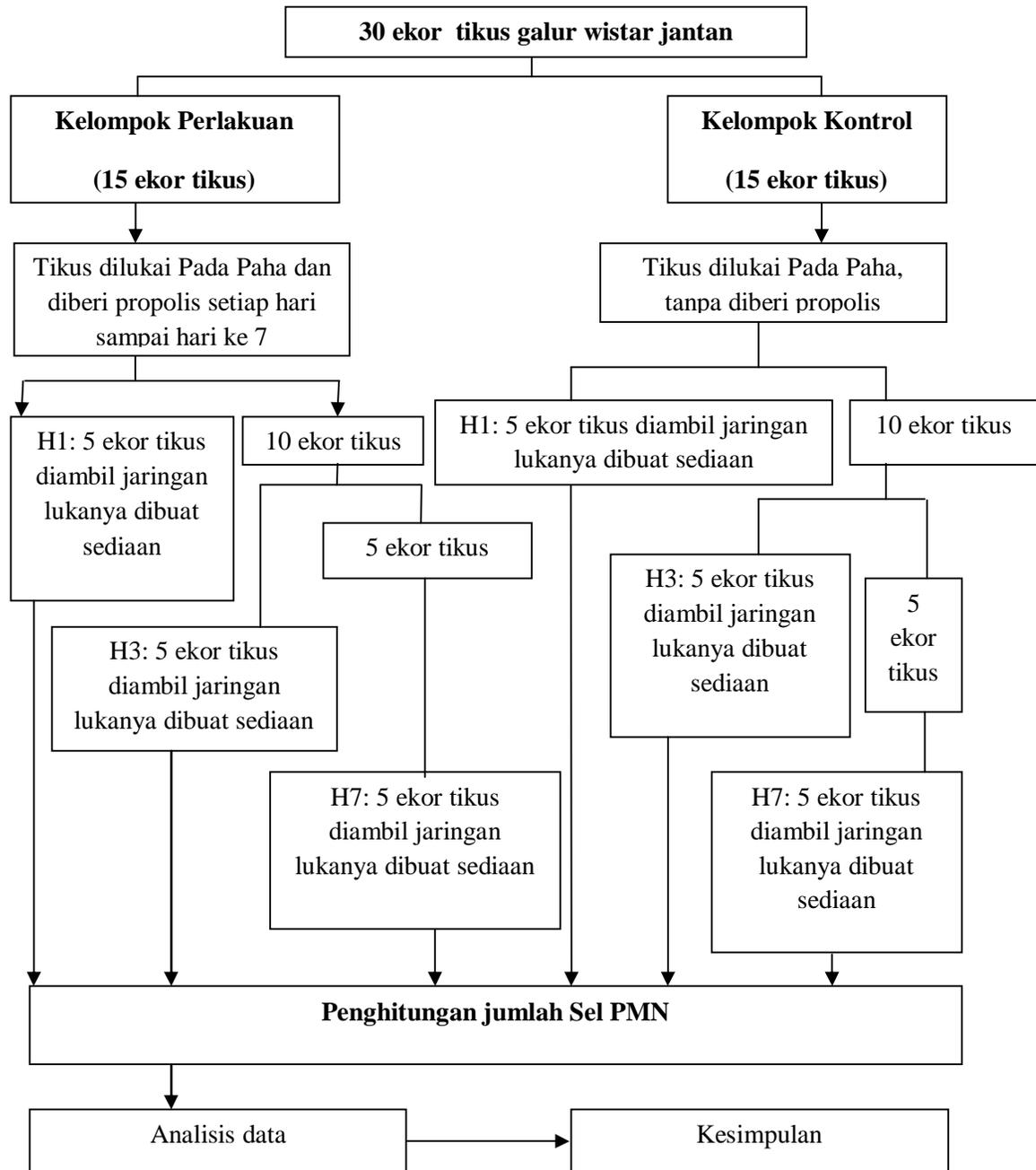
3.7.6 Tahap Penghitungan Jumlah PMN

Menghitung jumlah sel PMN yang terlihat pada sediaan jaringan dan membandingkan rata-rata sel PMN kontrol dan perlakuan.

3.8 Analisis Data

Data yang diperoleh ditabulasi dan dianalisis secara statistik. Mula-mula data diuji dengan menggunakan *One Sample Kolmogorof-Smirnov* untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal, dan uji homogenitas untuk menguji apakah ragam dari populasi-populasi tersebut sama. Pengujian tersebut membuktikan bahwa data yang diperoleh terdistribusi normal dan homogen sebagai syarat untuk dapat dilakukan uji analitik tahap berikutnya. Selanjutnya dilakukan uji ANOVA (*Analisis of Varian*) dua arah dengan tingkat kepercayaan 95% ($P < 0,05$) untuk mengetahui kemaknaan perbedaan antara kelompok perlakuan, yang dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significance Difference*) untuk mengetahui perbandingan antara mean perlakuan yang satu dengan *mean* perlakuan lain atau untuk mengetahui manakah diantara mean-mean perlakuan tersebut yang berbeda nyata satu dengan yang lain (Sugiyono & Wibowo, 2002:97-100).

3.9 Alur Penelitian



Gambar 2.1 Bagan Kerangka Konseptual Penelitian

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

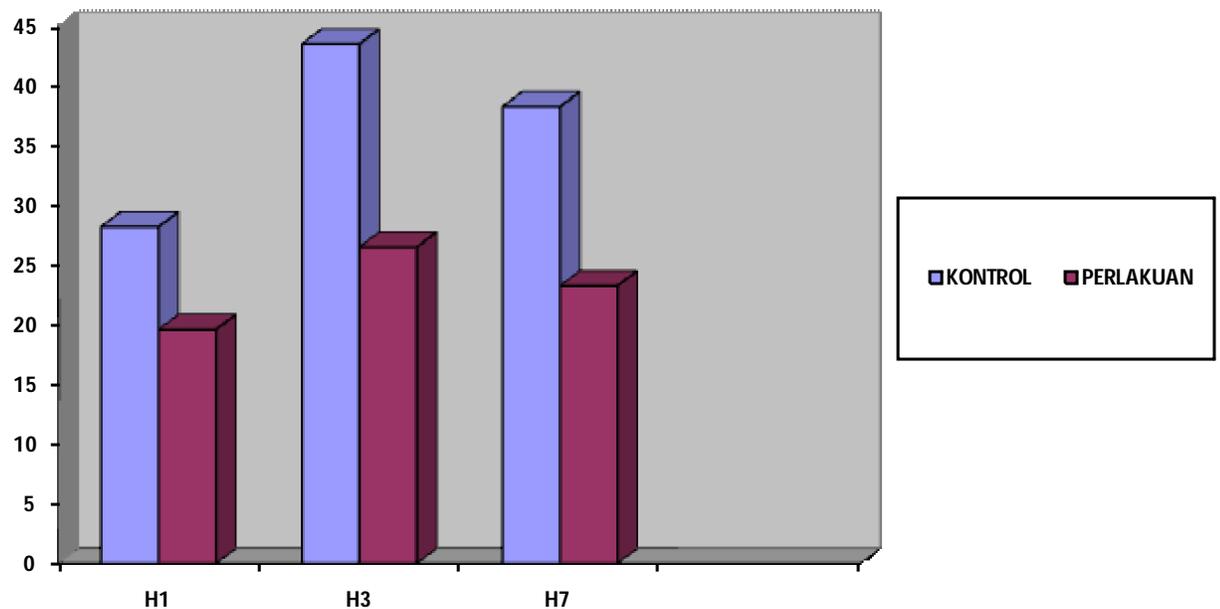
Penelitian ini mengenai pengaruh pemberian ekstrak propolis secara topikal terhadap migrasi sel PMN pada luka sayat tikus wistar jantan. Jumlah tikus wistar sebanyak 30 ekor yang terbagi menjadi 6 kelompok (3 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan). Pembagian kelompok tersebut berdasarkan hari pengambilan jaringan, yaitu H1, H2 dan H3. Pada semua kelompok diberi luka sayat di bagian paha dalam, dan pada 3 kelompok perlakuan dilakukan pemberian ekstrak propolis secara topikal. Dari penelitian tersebut diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 4.1 Nilai rata-rata dan standar deviasi jumlah neutrofil

Hari Pengamatan Per Perlakuan	Jumlah Data	Rata-rata	Std. deviation
Kontrol H1	5	22,20	1,30
Perlakuan H1	5	12,80	1,30
Kontrol H3	5	41,60	1,14
Perlakuan H3	5	27,80	1,09
Kontrol H7	5	32,40	1,14
Perlakuan H7	5	19,50	1,29

Berdasarkan data diatas, nilai rata-rata jumlah PMN neutrofil pada kelompok yang diberi ekstrak propolis topikal lebih rendah dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberi ekstrak propolis. Jumlah rata-rata PMN pada kelompok kontrol hari pertama yang dihitung dari tiga lapang pandang dibawah mikroskop dengan pembesaran 400X adalah 22,20 sedangkan pada kelompok perlakuan hari pertama adalah 12,80. Jumlah rata-rata PMN hari ketiga pada kelompok kontrol adalah 41,60 sedangkan pada kelompok perlakuan 27,80 dimana jumlah ini merupakan yang tertinggi untuk tiap-tiap kelompok. Untuk hari ketujuh jumlah rata-rata PMN pada kelompok kontrol adalah 32,40 sedangkan kelompok perlakuannya adalah 19,50

Selanjutnya dari data deskriptif tersebut dapat divisualisasikan dengan grafik batang sebagaimana yang terdapat pada Gambar 4.1



Gambar 4.1 Grafik batang rata-rata jumlah Neutrofil

Berdasarkan Grafik 4.1 diatas dapat diketahui bahwa :

- Neutrofil mulai muncul pada hari pertama, meningkat pada hari ketiga dan mengalami penurunan pada hari ketujuh.
- Nilai rata-rata jumlah PMN neutrofil pada kelompok yang diberi ekstrak propolis topikal memiliki jumlah neutrofil yang lebih rendah dibandingkan kelompok yang tidak diberi ekstrak propolis.

4.2 Analisis Penelitian

Analisis data penelitian didahului dengan uji normalitas data menggunakan uji *One-Sample kolmogrov-Smirnov Test*. Berdasarkan hasil uji normalitas pada tabel (lampiran 4) didapatkan nilai jumlah PMN neutrofil pada kelompok kontrol $P=0.62$ ($P>0,05$) dan kelompok perlakuan $P=0,44$ ($P>0,05$) yang berarti data yang diperoleh terdistribusi normal. Selanjutnya, pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dilakukan uji homogenitas dengan menggunakan *Levene Statistic* dan diperoleh hasil $P= 0,99$ yang artinya data tersebut homogen, oleh karena data bersifat homogen dan berdistribusi normal, maka dilakukan uji parametrik dengan uji *Annova* satu arah.

Tabel 4.2 Hasil uji homogenitas *levene statistic* kelompok kontrol dan perlakuan

Test of Homogeneity of Variances

Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.093	5	23	.993

Tabel 4.4 Hasil uji *Annova* satu arah jumlah neutrofil pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

ANOVA

Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2547.993	5	509.599	346.768	.000
Within Groups	33.800	23	1.470		
Total	2581.793	28			

Berdasarkan hasil analisis data dengan *Annova* satu arah diperoleh taraf signifikan sebesar 0,000 ($p < 0,05$), artinya terdapat perbedaan yang signifikan

jumlah PMN neutrofil pada masing-masing kelompok, kemudian Perbedaan jumlah PMN neutrofil antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dilakukan uji dengan *LSD*. Uji *LSD* (Least significance test) dikatakan signifikan atau terdapat perbedaan bermakna bila nilai $p < 0,05$. Berdasarkan hasil pembacaan Uji *LSD* pada Tabel 4.4, diketahui bahwa jumlah PMN kelompok kontrol hari ke-1 memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok perlakuan hari ke-1, demikian juga antara kelompok kontrol hari ke-3 dengan kelompok perlakuan hari ke-3, serta kelompok kontrol hari ke-7 dengan kelompok perlakuan hari ke-7.

Tabel 4.5 Hasil uji Tukey LSD jumlah neutrofil antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Multiple Comparisons

Data
LSD

(I) Faktor	(J) Faktor	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K1	P1	9.40000	.76670	.000	7.8140	10.9860
	K3	-19.40000	.76670	.000	-20.9860	-17.8140
	P3	-5.60000	.76670	.000	-7.1860	-4.0140
	K7	-10.20000	.76670	.000	-11.7860	-8.6140
	P7	2.70000	.81321	.003	1.0178	4.3822
P1	K1	-9.40000	.76670	.000	-10.9860	-7.8140
	K3	-28.80000	.76670	.000	-30.3860	-27.2140
	P3	-15.00000	.76670	.000	-16.5860	-13.4140
	K7	-19.60000	.76670	.000	-21.1860	-18.0140
	P7	-6.70000	.81321	.000	-8.3822	-5.0178
K3	K1	19.40000	.76670	.000	17.8140	20.9860
	P1	28.80000	.76670	.000	27.2140	30.3860
	P3	13.80000	.76670	.000	12.2140	15.3860
	K7	9.20000	.76670	.000	7.6140	10.7860
	P7	22.10000	.81321	.000	20.4178	23.7822
P3	K1	5.60000	.76670	.000	4.0140	7.1860
	P1	15.00000	.76670	.000	13.4140	16.5860
	K3	-13.80000	.76670	.000	-15.3860	-12.2140
	K7	-4.60000	.76670	.000	-6.1860	-3.0140
	P7	8.30000	.81321	.000	6.6178	9.9822
K7	K1	10.20000	.76670	.000	8.6140	11.7860
	P1	19.60000	.76670	.000	18.0140	21.1860
	K3	-9.20000	.76670	.000	-10.7860	-7.6140
	P3	4.60000	.76670	.000	3.0140	6.1860
	P7	12.90000	.81321	.000	11.2178	14.5822
P7	K1	-2.70000	.81321	.003	-4.3822	-1.0178
	P1	6.70000	.81321	.000	5.0178	8.3822
	K3	-22.10000	.81321	.000	-23.7822	-20.4178
	P3	-8.30000	.81321	.000	-9.9822	-6.6178
	K7	-12.90000	.81321	.000	-14.5822	-11.2178

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

Berdasarkan hasil uji *LSD*, terdapat perbedaan rata-rata jumlah sel neutrofil PMN yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Perbedaan rata-rata antara kelompok kontrol hari pertama dengan kelompok perlakuan hari pertama sebesar 9,40 dengan nilai signifikansi 0,00. Perbedaan rata-rata antara kelompok kontrol hari ketiga dengan kelompok perlakuan hari ketiga sebesar 13,80 dengan nilai signifikansi 0,00. Perbedaan rata-rata antara kelompok kontrol hari ketujuh dengan kelompok perlakuan hari ketujuh sebesar 12,90 dengan nilai signifikansi 0,00. Ketiga perbandingan menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,00 ($p < 0,05$).

4.3 Pembahasan

Penelitian ini menggunakan tikus jantan, karena jenis kelamin dapat mengakibatkan perbedaan dalam efek farmakologi obat-obatan. Uji farmakologi biasanya hanya menggunakan tikus jantan untuk mengurangi variasi fisiologis terutama siklus hormon betina selama siklus estrogen. Beberapa contoh variabel yang dikendalikan dalam penelitian ini adalah umur tikus, berat badan tikus, tempat dan cara pemeliharaan tikus, tehnik pemberian dan dosis ekstrak propolis, hal ini sesuai dengan pernyataan Baker (1980) bahwa variabel yang harus dikendalikan dalam penelitian antara lain : faktor hewan uji, faktor lingkungan, dan faktor obat.

Pemberian luka sayat pada penelitian kali ini bertujuan untuk menginduksi terjadinya reaksi inflamasi. Teknik yang digunakan adalah teknik tanpa singgung yaitu tidak boleh menyentuh lapangan pandang pembedahan dengan tangan atau jari, kecuali bila sangat diperlukan dan diseksi tajam yaitu sayatan dengan menggunakan mata tajam yang akan membuat permukaan luka sayat yang rata permukaannya. Teknik tersebut menjamin agar terjadi penyembuhan luka yang baik dan tidak terjadi infeksi (Jong, 2007).

Seluruh kelompok tikus dilukai dengan panjang 2 cm dan kedalaman 0,5 cm yang bertujuan untuk memudahkan saat pembuatan preparat, bila ukuran lebih kecil

dari yang telah disebutkan maka jaringan yang telah didehidrasi akan mengkerut dan mengalami kesulitan pada proses pemotongan dengan menggunakan mikrotom, namun apabila terlalu besar kemungkinan terjadinya infeksi akan lebih besar dan penyembuhan sekunder akan terjadi. Luka sayat dilakukan dengan kemiringan 45°. Hal ini bertujuan untuk membuktikan secara nyata efek anti inflamasi dari ekstrak propolis. Skalpel tajam secara tegak lurus pada permukaan kulit akan menghasilkan luka yang lebih mudah sembuh jika dibandingkan dengan luka yang dihasilkan oleh skalpel dengan kemiringan tertentu sebab menghasilkan luka dengan pinggir berbeda dan mengakibatkan jaringan parut yang jelek. Oleh karena itu luka dengan skalpel tegak lurus secara fisiologis akan sembuh dengan sendirinya sedangkan luka skalpel dengan kemiringan tertentu membutuhkan obat tambahan dalam proses penyembuhannya.

Luka dibuat pada paha tikus bagian dalam, hal ini untuk mengurangi terjadinya gesekan dan mengurangi kemungkinan infeksi. Paha bagian luar terdiri atas otot bisep brachii yang dilapisi oleh otot spinodeltoideus mulai dari proksimal humerus hingga musculus gluteus maximus. Sehingga bila luka dibuat pada paha bagian luar maka saat tikus berjalan maka kontraksi pada otot bisep akan menyebabkan kontraksi kuat pada lapisan otot di atasnya yaitu otot spinodeltoideus dan mengakibatkan tertariknya kulit di atas otot tersebut sehingga luka akan terbuka kembali. Hal ini berbeda dengan paha tikus bagian dalam yang terdiri atas otot tricep tanpa dilapisi otot lain.

Pemberian ekstrak propolis dilakukan secara topikal yaitu pada stratum corneum secara topikal dengan pertimbangan lapisan ini dapat menjadi depot atau reservoir untuk obat yang diberikan secara topikal. Kulit yang rusak seperti luka, pada penelitian ini akan menyebabkan obat lebih mudah melewati epidermis dibanding kulit yang normal atau utuh.

Radang merupakan mekanisme pertahanan tubuh disebabkan adanya respons jaringan terhadap pengaruh-pengaruh merusak baik bersifat lokal maupun yang masuk ke dalam tubuh (Mutschler. 1991; Korolkovas. 1988). Pengaruh-pengaruh merusak (noksi) dapat berupa noksi fisika, kimia, bakteri, parasit dan sebagainya.

Reaksi radang dapat diamati dari gejala-gejala klinis. Di sekitar jaringan yang terkena radang terjadi peningkatan panas (kalor), timbul warna kemerah-merahan (rubor) dan pembengkakan (tumor) disusul perubahan struktur jaringan yang dapat menimbulkan kehilangan fungsi (Mutschler, 1991; Korolkovas, 1988).

Neutrofil adalah sel radang yang muncul pertama, sebagian besar disebabkan oleh mobilitasnya yang tinggi dan juga karena neutrofil terdapat dalam jumlah yang banyak dalam sirkulasi darah. Selain itu neutrofil telah aktif pada awal reaksi radang (Robbins & Kumar, 2007), sehingga neutrofil dapat dijadikan penanda inflamasi baru dimulai, sedang berlangsung dan berakhirnya proses suatu inflamasi.

Neutrofil merupakan sel radang akut, yaitu jenis leukosit yang fungsi utamanya untuk melokalisir agen penyebab dan memperbaiki kerusakan yang terjadi serta berlangsung beberapa jam atau hari. Neutrofil merupakan garis depan pertahanan seluler terhadap invasi jasad renik, memfagosit partikel kecil dengan aktif. Neutrofil muncul pertama kali pada daerah inflamasi pada 6 sampai 24 jam pertama dan paling tinggi pada hari ketiga setelah itu neutrofil mulai mengalami apoptosis dan digantikan oleh monosit sebagai makrofag sehingga setelah hari ketiga neutrofil mengalami penurunan jumlah secara bertahap hingga menghilang sepenuhnya pada hari ke 14 (Robbins & Kumar, 2007). Oleh karena alasan tersebut waktu yang dipilih untuk penelitian migrasi neutrofil ini adalah hari kesatu, ketiga dan ketujuh.

Hasil uji LSD menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata jumlah sel neutrofil PMN yang signifikan antara kelompok pada hari ke-1, 3, 7. Berdasarkan hasil pengamatan dan data yang diperoleh pada penelitian ini, jumlah rata-rata PMN terbanyak ada pada hari ketiga. Pada hari ketujuh jumlah rata-rata PMN paling rendah dibandingkan dengan hari-hari sebelumnya. Sesuai dengan literatur yang ada, aktivitas PMN dimulai sejak timbulnya jejas sampai dengan digantikan oleh makrofag. Neutrofil hanya mampu bertahan selama 24 - 36 jam diluar sirkulasi terutama sebagai respons terhadap peradangan. Selanjutnya neutrofil akan difagosit oleh makrofag sebagai sel pengganti yang akan melanjutkan tugas neutrofil dalam membersihkan lokasi jejas.

Hasil uji LSD juga menunjukkan jumlah PMN neutrofil pada kelompok yang diberi ekstrak propolis, secara signifikan lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak propolis mempunyai efek dalam menurunkan jumlah migrasi sel neutrofil PMN lewat pemberian secara topikal pada jaringan luka.

Didalam propolis terkandung bermacam-macam senyawa namun komposisi kimianya bervariasi tergantung dari berbagai faktor. Tapi pada umumnya propolis mengandung protein, asam amino, vitamin, dan mineral serta flavonoid (Moreira, 1986). Flavonoid merupakan senyawa fenol yang dikenal mempunyai potensi sebagai antioksidan serta antiinflamasi. Jenis flavonoid yang terkandung dalam propolis beragam, diantaranya *quercetin*, *pinostrobin*, *kaempferol*, *galangin*, *pinocembrin*, *pinobaksin* serta beberapa jenis senyawa yang berasal dari golongan phenolic yang lainnya yaitu *cinnamic acid*, *cinnamic alcohol*, *vanilin*, *benzyl alkchol*, *benzoic acid*, *caffaic* serta *ferulic acid*.

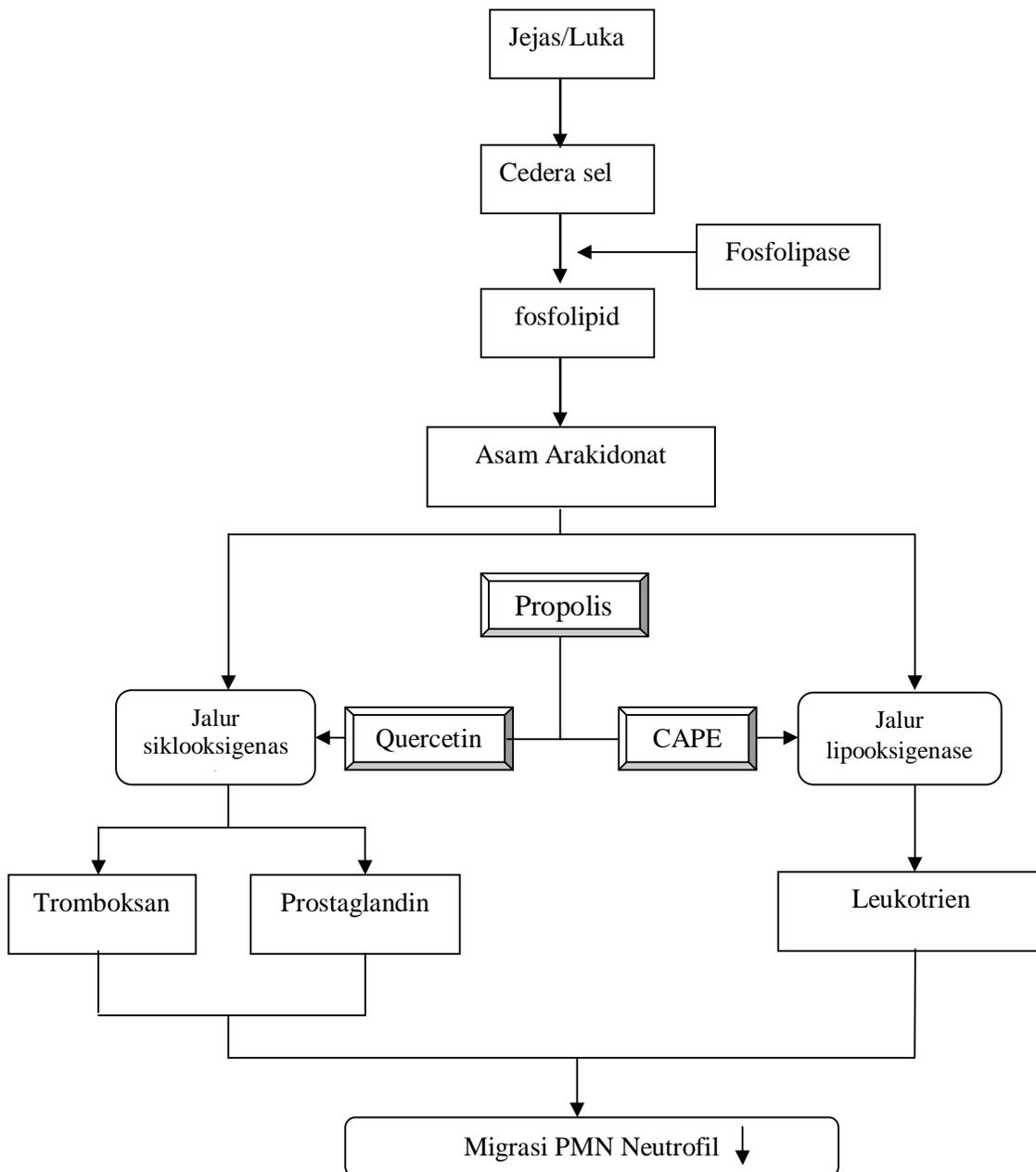
Pada proses inflamasi, enzim siklooksigenase dan lipoksigenase memiliki peran penting pada pembentukan mediator peradangan yang berasal dari asam arakhidonat. *Quercetin* yang merupakan salah satu senyawa fenol, mampu menghambat biosintesis mediator eikosanoid terutama prostaglandin yang merupakan hasil metabolisme asam arakhidonat. Selain itu quercetin juga bekerja sebagai membran cell *stabilizer* artinya senyawa ini menjaga membran sel tetap utuh sehingga tidak mudah pecah atau teroksidasi. *Quercetin* berperan sebagai antagonis kalmodulin sehingga mampu mencegah berbagai enzim dependent kalmodulin seperti fosfolipase untuk mempengaruhi permeabilitas membran sel. Membran sel yang pecah akan dengan cepat melepaskan asam arakhidonat yang akan dimetabolisme lagi menjadi mediator-mediator kimia baru. Hambatan pada jalur siklooksigenase akan menyebabkan penurunan prostaglandin yang akan mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah lokal sehingga migrasi sel radang neutrofil pada area radang akan menurun. Hal ini sesuai dengan pernyataan Thomson dan Cotton

(1997) bahwa prostaglandin dapat menimbulkan permeabilitas vaskuler dan vasodilatasi pada proses radang.

Selain *quercetin*, *caffeic acid phenethyl ester* (CAPE) merupakan senyawa fenol yang juga terkandung dalam propolis. CAPE mampu menghambat biosintesis mediator inflamasi dengan cara melekat pada ikatan antara substrat – enzim pada jalur lipooksigenase. Dengan demikian mediator inflamasi gagal terbentuk. Hambatan jalur lipooksigenase yang berpengaruh terhadap produksi leukotrin yang dikenal sebagai mediator aktivitas leukosit, berperan dalam menstimulasi agregasi dan kemotaksis neutrofil. Dengan turunnya produksi leukotrin karena hambatan pada jalur lipooksigenase maka akan mempengaruhi penurunan aktivitas fagosit neutrofil. Oleh karena itu, menghambat kerja leukotrin akan lebih poten menekan proses inflamasi dengan mencegah penumpukan netrofil yang berlebihan (Arundina, 2003).

Migrasi neutrofil yang tidak berlebihan akan mempermudah dalam proses resolusi inflamasi yaitu proses netralisasi atau pembuangan berbagai mediator kimiawi serta drainase limfatik menjadi lebih cepat sehingga proses peradangan menjadi lebih singkat. Selain itu keadaan meluasnya infiltrat neutrofil mengakibatkan pembentukan abses yang dapat menimbulkan pembentukan jaringan parut dan fibrosis (Robbin & Kumar, 2007). Oleh karena itu kerja propolis dalam menekan migrasi neutrofil pada jaringan luka secara efektif mampu menekan proses inflamasi. Ini dibuktikan dengan adanya berbagai produk olahan propolis yang siap pakai yang telah beredar di pasaran. Salah satunya produk Propolis Cair Bina Apiari yang dapat digunakan secara topikal sebagai obat alternatif antiinflamasi paa penyembuhan luka.

Cara kerja dari CAPE dan *quercetin* yang terkandung dalam propolis dalam memblok jalur metabolisme asam arakidonat dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Sumber: Robbins dan Kumar (2007)

Gambar 4.2 Mekanisme kerja CAPE & Flavanoid dalam propolis

Gambar ini menjelaskan penghambatan pada jalur siklooksigenase dan lipooksigenase oleh CAPE & Flavanoid, maka akan mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah, sehingga migrasi leukosit (PMN neutrofil) ke area inflamasi juga menurun, dan menyebabkan penurunan aktivitas fagosit neutrofil. Seperti yang telah disebutkan sebelumnya bahwa mediator-mediator radang yang gagal terbentuk akan kemudian mempengaruhi aktivitas PMN dalam proses peradangan. Prostaglandin yang memiliki efek meningkatkan permeabilitas vaskuler dan vasodilatasi pada proses radang, akan ditekan pembentukannya oleh karena adanya flavonoid. Leukotrien yang dihasilkan lewat jalur lipooksigenase juga terhambat pembentukannya sehingga stimulasi agregasi dan kemotaksis neutrofil ke daerah radang juga akan berkurang. Hambatan pada jalur pembentukan mediator peradangan tersebut kemudian akan mempengaruhi proses peradangan selanjutnya. Jadi pemberian propolis secara tidak langsung dapat mempercepat penyembuhan luka oleh karena kandungan senyawa dalam propolis mampu mengurangi aktivitas migrasi sel neutrofil polimorfonuklear sehingga penumpukan neutrofil berlebihan dapat dikurangi, kerusakan jaringan akibat proses fagositosis dapat dikurangi, drainase limfatik pada daerah luka lebih cepat berlangsung dan proses resolusi lebih cepat terjadi.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian yang telah dilakukan adalah sebagai berikut:

- a. Migrasi neutrofil mulai muncul pada hari pertama, meningkat pada hari ketiga dan menurun pada hari ketujuh saat proses penyembuhan luka pada jaringan luka sayat tikus wistar baik pada kontrol maupun pada perlakuan.
- b. Ekstrak propolis secara topikal dapat menurunkan migrasi neutrofil pada jaringan luka sayat yang diberikan pada tikus wistar jantan.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan penulis sebagai berikut :

- a. Dapat dilakukan penelitian sejenis dengan waktu penelitian yang diperlama sehingga hasil yang didapat akan semakin baik.
- b. Bisa dilakukan penelitian lebih lanjut dengan bahan propolis yang dikombinasikan dengan bahan lainnya sehingga mampu dimanfaatkan untuk penyembuhan luka.
- c. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut tentang propolis dalam upaya menjadikannya sebagai alternatif terapi peradangan pada luka sayat.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam, S. 2007. *Dasar - dasar patologi*. Jakarta : EGC.
- Arundina, I. 2003. "Efek Antiinflamasi Catechin terhadap PMN yang Memfagosit Actinobacillus actinomycetemcomitans Penyebab Periodontitis". *Majalah Kedokteran Gigi Dental Journal (agustus : Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional III)*. Surabaya : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga
- Bankova, V.S., de Castro, S.I., and Marcucci, M.C. 2000. Propolis: Recent Advances in Chemistry and Plant Origin. *Apidologie*. 3: 3-15.
- Boyd, W. 1971. *An Introduction to the Study of Disease*. Ed 6. Philadelphia: Lea & Febiger.
- De Almeida, E.C. & Menezes, H. 2002. Anti-Inflammatory Activity of Propolis Extract : A Review. *J Venom Anim Toxins*.8 (2).
- Dorland, 2006. "Dorland's Illustrated Medical Dictionary". 29th Edition. Alih bahasa Tim Penerjemah EGC. *Kamus Kedokteran Dorland Edisi 29* Jakarta: EGC.
- Galvao, Abreu, Cruz, Machado, Niraldo, Dausch, Moraes, Fort, and Park. 2007. Biological therapy Using Propolis Nutritional Supplement in Cancer Treatment. *Int. J.Cancer Res*. 3(1):43-53.
- Guyton, A. C. dan Hall, J. E. 1997. *Buku ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta : EGC.
- Havsteen B. 1983. *Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency*. New York : Biochem Pharmacol
- Ismardianita, Setiani, Sari, dan Usri. 2003. *Luka dan Penanganannya*. <http://www.hidupsehat.com>. [23 Mei 2003]
- Junqueira, L.C., Carneiro, J., dan Kelley, R.O. 1998. *Histology Dasar Edisi 9*. Terjemahan Jan Tambayong dari *Basic Histology Ninth Edition* (1995). Jakarta : EGC. Hal:231
- Katzung, B. G. 2001. *Basic and Clinical Pharmacology*. Eight Edition, International Edition. USA : LANGE
- Korolkovas, A. 1988. *Essentials of Medicinal Chemistry*. New York: A Wiley Interscience Publ

- Krell, R. 1996. *Value Added Products From Beekeeping : Propolis*. Chapter 5. United Nations Rome: FAO Agricultural Services.
- Lawler, W., Ahmed, A., dan Hume, J.W. 1992. *Buku Pintar Patologi Untuk Kedokteran Gigi*. Terjemahan Lilian Yuwono dari *Essensial Pathology For Dental Student* (1987). Jakarta : EGC. Halaman 9-11.
- Leyana, W. 2008. *Luka dan Perawatannya*. <http://www.cerminduniakedokteran.com>. [13 desember 2006].
- Lotfy, M. 2006. Biological Activity of bee Propolis in Health and Disease. *Asian Pac J Cancer Prev*. 7 : 22-31.
- Mirzoeva, O.K., Grishanin, R.N. and Calder, P.C. 1997. Antimicrobial Action of Propolis and Some of Component: the Effect of growth, Membrane Potential and Mobility of Bacteria. *Mycrobiological Res.*, 1997, 152, 239-46.
- Mutschler, E. 1991. *Arzneimittelwirkungen*, Terjemahan: Dinamika obat oleh: Mathilda B. dan Anna S.R. Bandung: ITB
- Notoatmodjo, S. 2002. *Metodelogi Penelitian Kesehatan*. Jakarta : Rineka Cipta.
- Nijveldt, Nood, Boelens, Norren and Leeuwen. 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition*. 74(4): 418-425
- Park, Y.K. 2002. *Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis*. New York: FAO Agricultural Services
- Price, S. A. & Wilson, M. L. 2006. *Patofisiologi : konsep klinis proses-proses penyakit edisi 6 volume 2*. Jakarta : EGC.
- Robbins, S.L. dan Kumar, V. 1995. *Buku ajar patologi I edisi 4*. Jakarta : EGC.
- Robbins, S.L dan Kumar, V. 2007. "Basic Phatology Part 1". Seventh Edition. Terjemahan Jonathan Oswari. *Buku ajar patologi I*. Edisi 7. Jakarta:EGC
- Sabiston, D.E. 1995. *Buku ajar bedah*. Alih bahasa Andrianto P. Oswari J. Jakarta : EGC.
- Scully, C.B.E. 2006. Propolis: a Background. *British Dental J*. 200 (7): 359-360.
- Sforcin, J.M., Kaneno, R., and Funari, S.R.C. 2002. Absence of Seasonal Effect on the Immunomodulatory Action of Brazilian Propolis on Natural Killer Activity. *J Venom Anim Toxins*. 8 (1).

- Sjamsuhidajat, R. & de Jong, W. 1997. *Buku ajar Ilmu Bedah*. Edisi revisi. Jakarta: EGC.
- Sugiyono dan Wibowo, E. 2002. *Statistika Penelitian dan Aplikasinya dengan SPSS 10.0 for Windows*. Bandung:Alfabeta
- Susilo, B. 2007. Aktivitas Antimikroba Propolis dari malang Jawa Timur terhadap *Staphylococcus aureus*. *Majalah Kedokteran Tropis Indonesia*. 18 (1):72-77.
- Thomson, A.D. dan Cotton, R.E. 1997. *Catatan Kuliah Patologi*. Terjemahan R.F. Maulany dari *Lecture Notes On Pathology 3 rd ed* (1994). Jakarta. EGC. Halaman 27-34.
- Thruseva, B., Trunkova, D., and Bankova, V. 2007. Different Extraction Methods of Biologically Active Components from Propolis: a Preliminary Study. *Chemistry Central Journal*. 1 (13): 1-4.
- Roeslan, B. O. 2002. *Immunology Oral*. Jakarta : balai penerbit FKUI. Hal 29-75
- Valcic, Montenegro, Mujica, Avi, Franzblau, Singh, Maiese, and Timme. 1999. Phytochemical, Morphological, and Biological Investigations of Propolis Chile. *Verlag der Zeitschrift fur Naturforschung*. 54c:406-16.
- Yuwono, Budi, Purwanto, Mei, dan Masniari. 2001. *Buku Ajar Bedah Mulut 2*. Jember: FKG Universitas Jember

Lampiran 1. Tahap Pembuatan Sediaan

- a. Melakukan proses fiksasi, dehidrasi, clearing dan impregnasi dengan mencelupkan jaringan ke dalam larutan seperti tertera di bawah ini sesuai waktu yang ditentukan.

Tabung	Larutan	Waktu	Proses
1.	Formalin buffer 10%	2 jam	Fiksasi
2.	Alkohol 70%	1 jam	Dehidrasi
3.	Alkohol 80%	2 jam	Dehidrasi
4.	Alkohol 95%	2 jam	Dehidrasi
5.	Alkohol 96% + crusi	2 jam	Dehidrasi
6.	Alkohol 96% + crusi	1 jam	Dehidrasi
7.	Alkohol 96% + crusi	2 jam	Dehidrasi
8.	Xylol	1 jam	Clearing
9.	Xylol	2 jam	Clearing
10.	Xylol	2 jam	Clearing
11.	Parafin Cair(58°-60°)	2 jam	Impregnasi
12.	Parafin Cair(58°-60°)	2 jam	Impregnasi

- b. Embedding dan pemotongan dengan mikrotom

- 1) Alat cetak yang terbuat dari logam berbentuk siku-siku disusun atas permukaan kaca. Alat dan alas kaca diolesi dengan gliserin untuk memudahkan alat cetak dengan blok parafin yang sudah beku dan kaca
- 2) Parafin cair dalam dua wadah, yaitu parafin untuk bahan embedding dan parafin sebagai media penyesuaian temperatur yang akan ditanam.

- 3) Parafin cair pada tempat 1 dituangkan ke dalam alat cetak hingga penuh pada permukannya, lalu jaringan ditanam pada posisi yang sesuai dan bagian permukaan jaringan yang menempel pada kaca diusahakan rata.
- 4) Jika parafin sudah cukup keras, alat cetak dilepaskan dan blok parafin diberi label dan siap disayat.
- 5) Blok parafin ditempelkan pada alat pemegangnya yang berupa lempengan logam yang sudah dipanasi. Perhatikan sisi blok mana yang akan dipotong, kemudian didinginkan sampai suhu kamar agar melekat erat.
- 6) Pisau mikrotom dipasang pada pegangannya membentuk sudut 5° - 10° . Pisau harus tajam dan permukaannya harus benar-benar rata.
- 7) Water bath dipersiapkan dengan mengatur suhu air dibawah titik leleh parafin ($\pm 48^{\circ}\text{C}$).
- 8) Blok yang sudah menempel pada pemegangnya dipasang pada mikrotom dan siap dilakukan pemotongan tipis dengan ketebalan yang dikehendaki, biasanya 4-8 mikron.
- 9) Hasil pemotongan berupa pita tipis dengan hati-hati dipindahkan ke dalam water bath agar sayatan jaringan dapat mengembang dengan baik.
- 10) Sayatan diseleksi dan dipindahkan ke atas kaca obyek yang telah diolesi Polilisin sebagai bahan perekat dan diberi label sesuai pada blok.
- 11) Sediaan dibiarkan kering dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 58°C - 60°C selama 30 menit. Dan jaringan siap dicat (Sulistiyani,E, 2002).

Lampiran 2. Tahap Pengecatan

Pada pengecatan sediaan histologis dilakukan pewarnaan progresif menggunakan Haemotoxylin Meyer, dimana hanya inti sel yang tercat biru, sedangkan latar belakang tidak. Adapun proses pewarnaan progresif adalah seperti tabel di bawah ini.

Proses	Larutan	Waktu
Deparafinisasi	Xylol	15 menit
	Xylol	15 menit
Hidrasi	Alkohol 96%	2 menit
	Alkohol 95%	2 menit
	Alkohol 80%	2 menit
	Air mengalir	10 menit
Cat utama	Haemotoxylin Meyer	10 menit
	Air mengalir	15 menit
Cat pembanding	Eosin	1,5 menit
Dehidrasi	Alkohol 80%	5 celup
	Alkohol 95%	5 celup
	Alkohol 86%	2 menit
Dikeringkan		1 menit
Clearing	Xylol	10 menit
	Xylol	5 menit
Mounting	Entelallan	5 menit

Sumber : Soegeng Soekamto, 1996 : 45.

Lampiran 3. Tahap pembuatan Ekstrak Propolis

- 1) Proses pembuatan ekstrak propolis lebah dilakukan dengan teknik maserasi. Propolis kering dibersihkan dan diblender hingga halus
- 2) Propolis yang sudah diblender selanjutnya ditimbang sebanyak 500 gram, kemudian dimasukkan ke dalam gelas beaker
- 3) 3,75 liter etanol 95% ditambahkan sebagai pelarut
- 4) Campuran bahan disimpan selama 7 hari pada ruangan yang tidak terkena sinar matahari dengan dikocok kuat atau pengadukan dengan spatula pengaduk sebanyak 2 kali tiap hari
- 5) Penyaringan dengan corong buchner dan kertas saring untuk memisahkan filtrat dari ampas ke dalam labu erlenmeyer sehingga diperoleh filtrat
- 6) Hasil filtrasi yang didapat, dievaporasi dengan rotary evaporator pada suhu 45° C dengan tekanan vakum (<1 atm) sehingga diperoleh ekstrak propolis yang konsentrasinya kental (± 100 g)
- 7) Ekstrak propolis diuapkan selama 24 jam di dalam gelas beaker sehingga kandungan etanolnya menguap

LAMPIRAN 4. HASIL PENELITIAN

Data jumlah PMN Neutrofil masing-masing kelompok kontrol dan perlakuan pada pengamatan hari ke 1, 3, dan 7

Kelompok Kontrol Hari ke 1	Kelompok Perlakuan Hari ke 1	Kelompok Kontrol Hari ke 3	Kelompok Perlakuan Hari ke 3	Kelompok Kontrol Hari ke 7	Kelompok Perlakuan Hari ke 7
23	12	42	27	32	21
22	14	43	29	34	18
21	11	42	26	31	20
24	13	41	28	33	20
21	14	40	29	32	-

LAMPIRAN 5. ANALISIS DATA

Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		K1	K3	K7
N		5	5	5
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	22.2000	32.4000	27.8000
	Std. Deviation	1.30384	1.14018	1.09545
Most Extreme Differences	Absolute	.221	.237	.367
	Positive	.221	.237	.367
	Negative	-.179	-.163	-.263
Kolmogorov-Smirnov Z		.495	.530	.822
Asymp. Sig. (2-tailed)		.967	.941	.510

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		P1	P3	P7
N		5	5	4
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	41.6000	12.8000	19.5000
	Std. Deviation	1.14018	1.30384	1.29099
Most Extreme Differences	Absolute	.237	.221	.151
	Positive	.163	.179	.151
	Negative	-.237	-.221	-.151
Kolmogorov-Smirnov Z		.530	.495	.301
Asymp. Sig. (2-tailed)		.941	.967	1.000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway**Descriptives**

Data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
K1	5	22.2000	1.30384	.58310	21.00	24.00
P1	5	12.8000	1.30384	.58310	11.00	14.00
K3	5	41.6000	1.14018	.50990	40.00	43.00
P3	5	27.8000	1.09545	.48990	27.00	29.00
K7	5	32.4000	1.14018	.50990	31.00	34.00
P7	4	19.5000	1.29099	.64550	18.00	21.00
Total	29	26.2759	9.60244	1.78313	11.00	43.00

Test of Homogeneity of Variances

Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.093	5	23	.993

Df : degree free (derajat bebas)

Significance : tingkat kemaknaan

ANOVA

Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2547.993	5	509.599	346.768	.000
Within Groups	33.800	23	1.470		
Total	2581.793	28			

Post Hoc Tests

Uji tukey-HSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Data

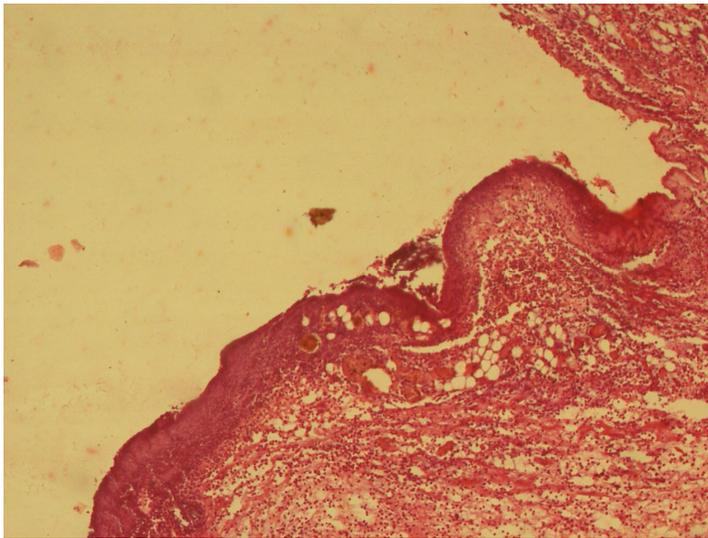
	(I) Faktor	(J) Faktor	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	K1	P1	9.4000*	.76670	.000	7.0209	11.7791
		K3	-19.4000*	.76670	.000	-21.7791	-17.0209
		P3	-5.6000*	.76670	.000	-7.9791	-3.2209
		K7	-10.2000*	.76670	.000	-12.5791	-7.8209
		P7	2.7000*	.81321	.031	.1766	5.2234
	P1	K1	-9.4000*	.76670	.000	-11.7791	-7.0209
		K3	-28.8000*	.76670	.000	-31.1791	-26.4209
		P3	-15.0000*	.76670	.000	-17.3791	-12.6209
		K7	-19.6000*	.76670	.000	-21.9791	-17.2209
		P7	-6.7000*	.81321	.000	-9.2234	-4.1766
	K3	K1	19.4000*	.76670	.000	17.0209	21.7791
		P1	28.8000*	.76670	.000	26.4209	31.1791
		P3	13.8000*	.76670	.000	11.4209	16.1791
		K7	9.2000*	.76670	.000	6.8209	11.5791
		P7	22.1000*	.81321	.000	19.5766	24.6234
	P3	K1	5.6000*	.76670	.000	3.2209	7.9791
		P1	15.0000*	.76670	.000	12.6209	17.3791
		K3	-13.8000*	.76670	.000	-16.1791	-11.4209
		K7	-4.6000*	.76670	.000	-6.9791	-2.2209
		P7	8.3000*	.81321	.000	5.7766	10.8234
	K7	K1	10.2000*	.76670	.000	7.8209	12.5791
		P1	19.6000*	.76670	.000	17.2209	21.9791
		K3	-9.2000*	.76670	.000	-11.5791	-6.8209
		P3	4.6000*	.76670	.000	2.2209	6.9791
		P7	12.9000*	.81321	.000	10.3766	15.4234
	P7	K1	-2.7000*	.81321	.031	-5.2234	-.1766
		P1	6.7000*	.81321	.000	4.1766	9.2234
		K3	-22.1000*	.81321	.000	-24.6234	-19.5766
P3		-8.3000*	.81321	.000	-10.8234	-5.7766	
K7		-12.9000*	.81321	.000	-15.4234	-10.3766	
LSD	K1	P1	9.4000*	.76670	.000	7.8140	10.9860
		K3	-19.4000*	.76670	.000	-20.9860	-17.8140
		P3	-5.6000*	.76670	.000	-7.1860	-4.0140
		K7	-10.2000*	.76670	.000	-11.7860	-8.6140
		P7	2.7000*	.81321	.003	1.0178	4.3822
	P1	K1	-9.4000*	.76670	.000	-10.9860	-7.8140
		K3	-28.8000*	.76670	.000	-30.3860	-27.2140
		P3	-15.0000*	.76670	.000	-16.5860	-13.4140
		K7	-19.6000*	.76670	.000	-21.1860	-18.0140
		P7	-6.7000*	.81321	.000	-8.3822	-5.0178
	K3	K1	19.4000*	.76670	.000	17.8140	20.9860
		P1	28.8000*	.76670	.000	27.2140	30.3860
		P3	13.8000*	.76670	.000	12.2140	15.3860
		K7	9.2000*	.76670	.000	7.6140	10.7860
		P7	22.1000*	.81321	.000	20.4178	23.7822
	P3	K1	5.6000*	.76670	.000	4.0140	7.1860
		P1	15.0000*	.76670	.000	13.4140	16.5860
		K3	-13.8000*	.76670	.000	-15.3860	-12.2140
		K7	-4.6000*	.76670	.000	-6.1860	-3.0140
		P7	8.3000*	.81321	.000	6.6178	9.9822
	K7	K1	10.2000*	.76670	.000	8.6140	11.7860
		P1	19.6000*	.76670	.000	18.0140	21.1860
		K3	-9.2000*	.76670	.000	-10.7860	-7.6140
		P3	4.6000*	.76670	.000	3.0140	6.1860
		P7	12.9000*	.81321	.000	11.2178	14.5822
	P7	K1	-2.7000*	.81321	.003	-4.3822	-1.0178
		P1	6.7000*	.81321	.000	5.0178	8.3822
		K3	-22.1000*	.81321	.000	-23.7822	-20.4178
P3		-8.3000*	.81321	.000	-9.9822	-6.6178	
K7		-12.9000*	.81321	.000	-14.5822	-11.2178	

*. The mean difference is significant at the .05 level.

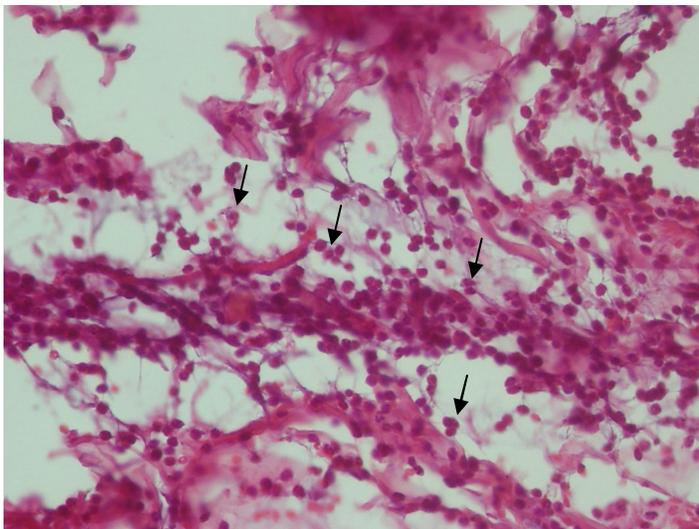
LAMPIRAN 6. FOTO-FOTO PREPARAT

HARI PERTAMA

KONTROL

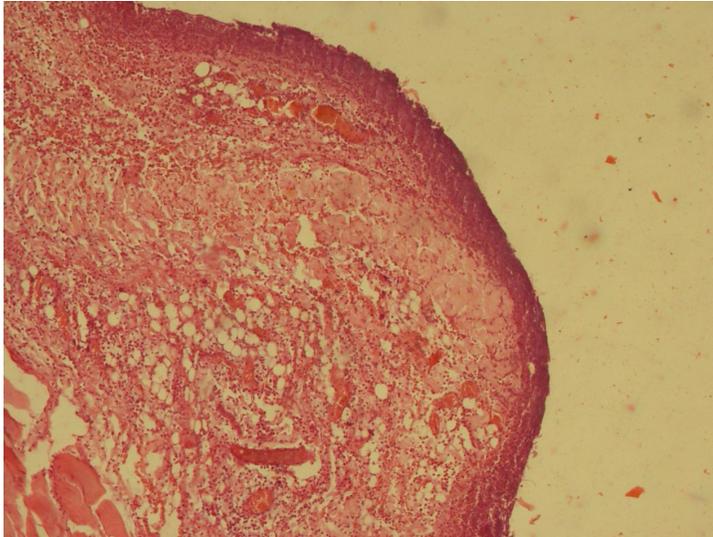


Pembesaran 100X

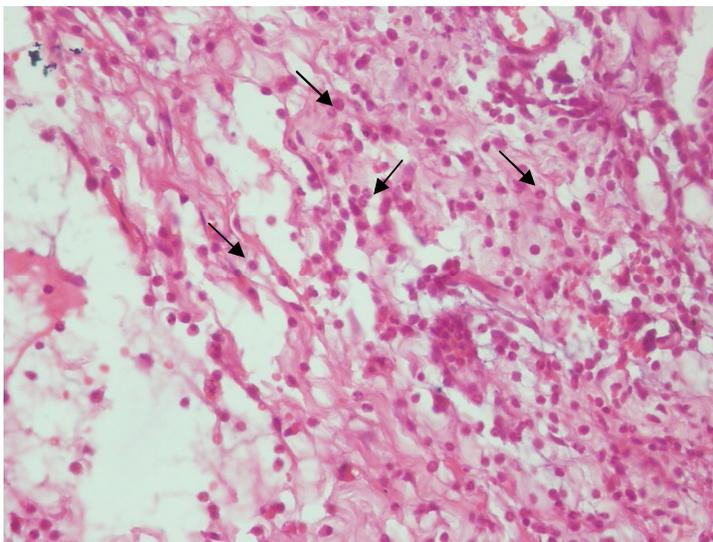


Pembesaran 400X

PERLAKUAN



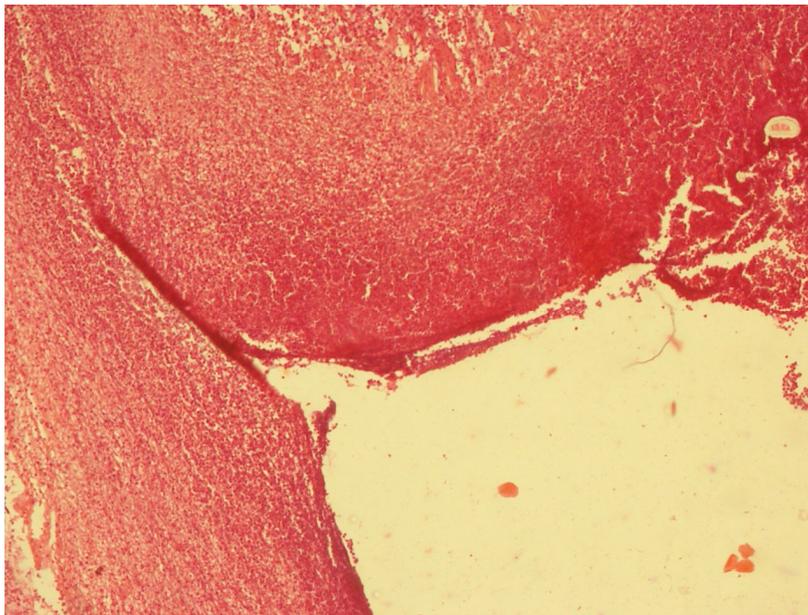
Pembesaran 100X



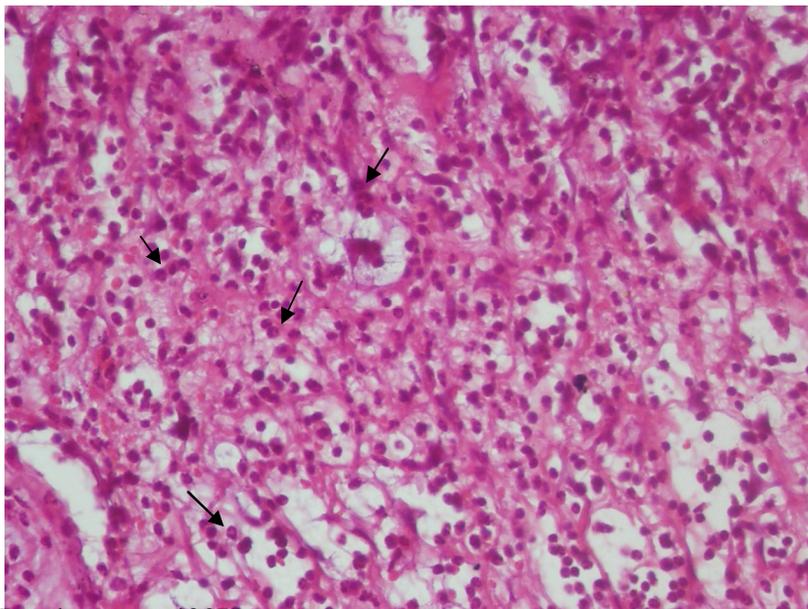
Pembesaran 400X

HARI KETIGA

KONTROL

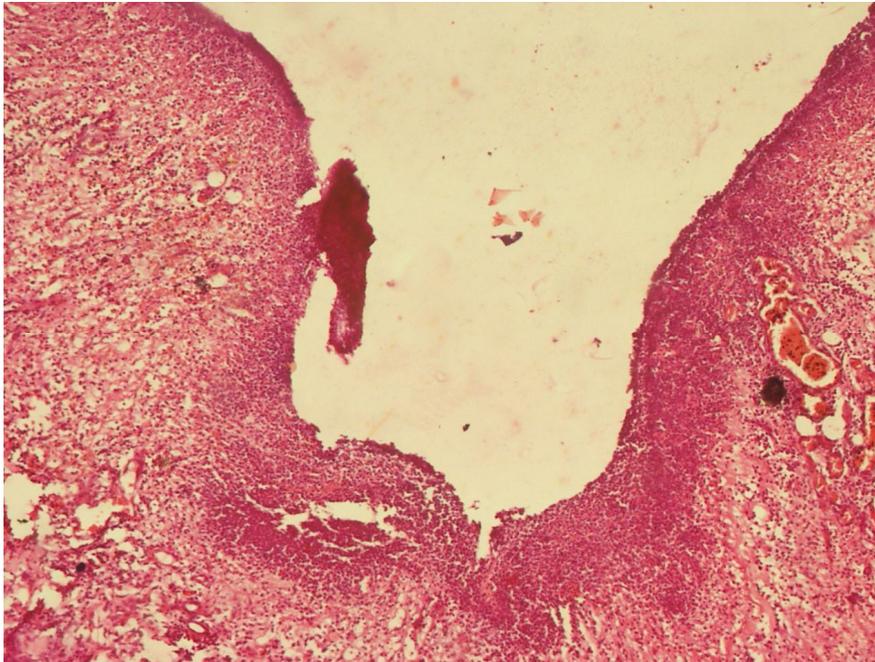


Pembesaran 100X

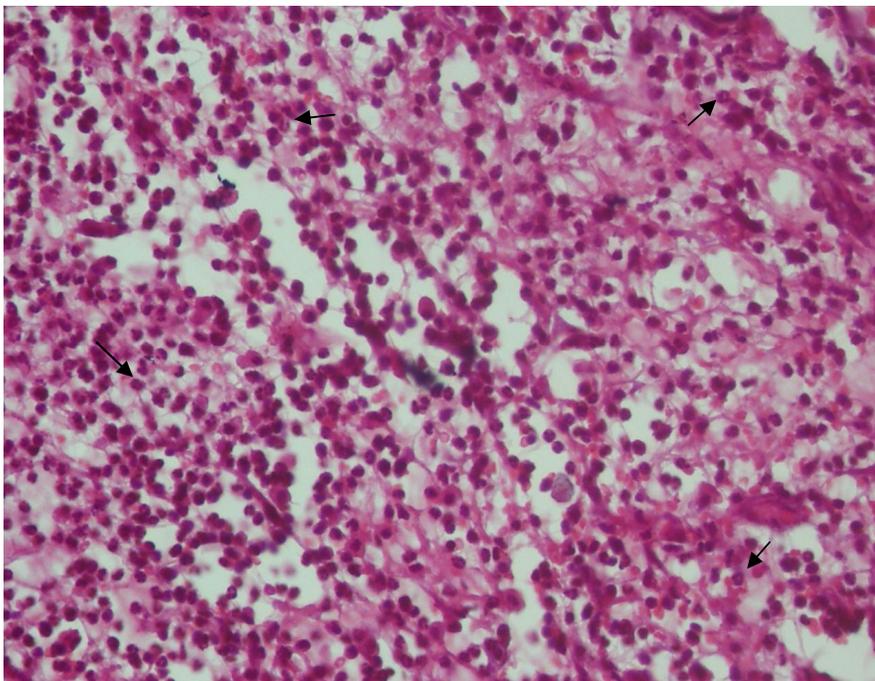


Pembesaran 400X

PERLAKUAN



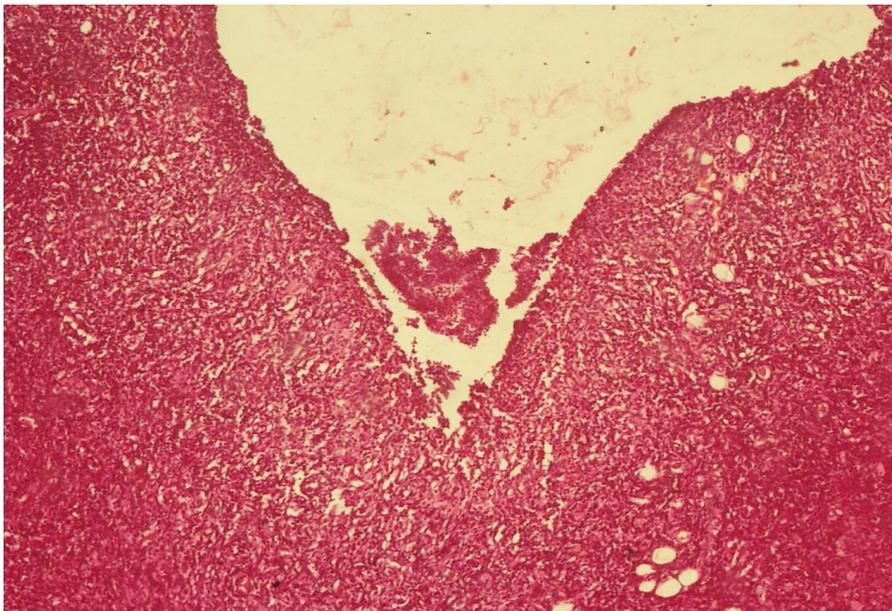
Pembesaran 100X



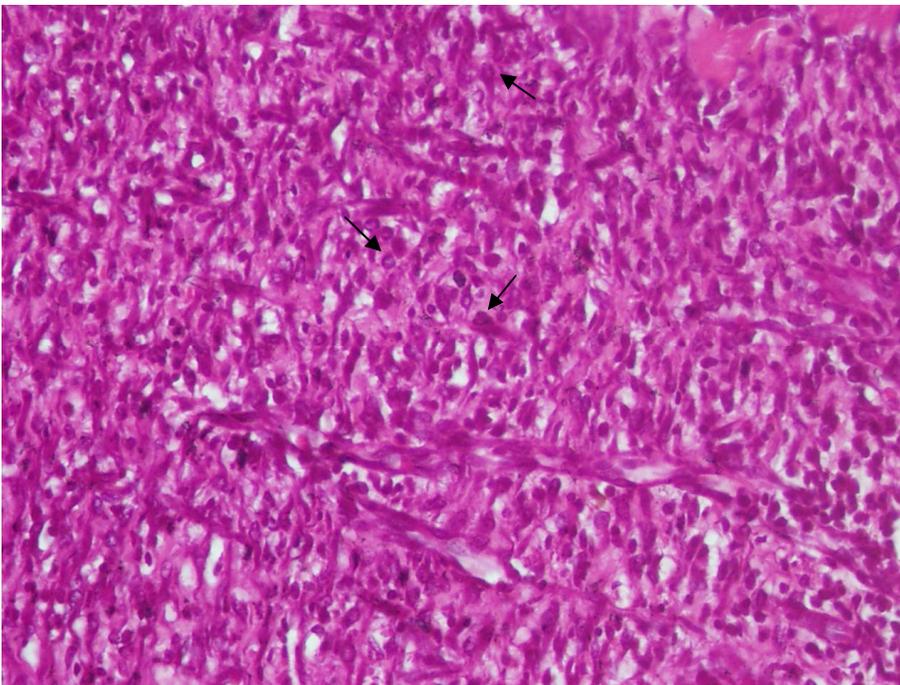
Pembesaran 400X

HARI KETUJUH

KONTROL

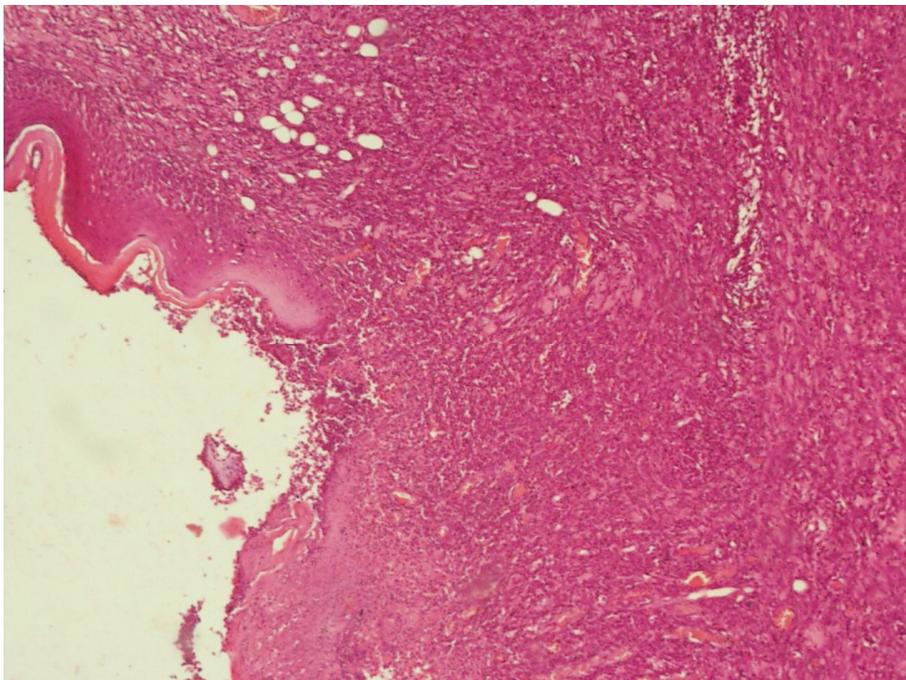


Pembesaran 100X

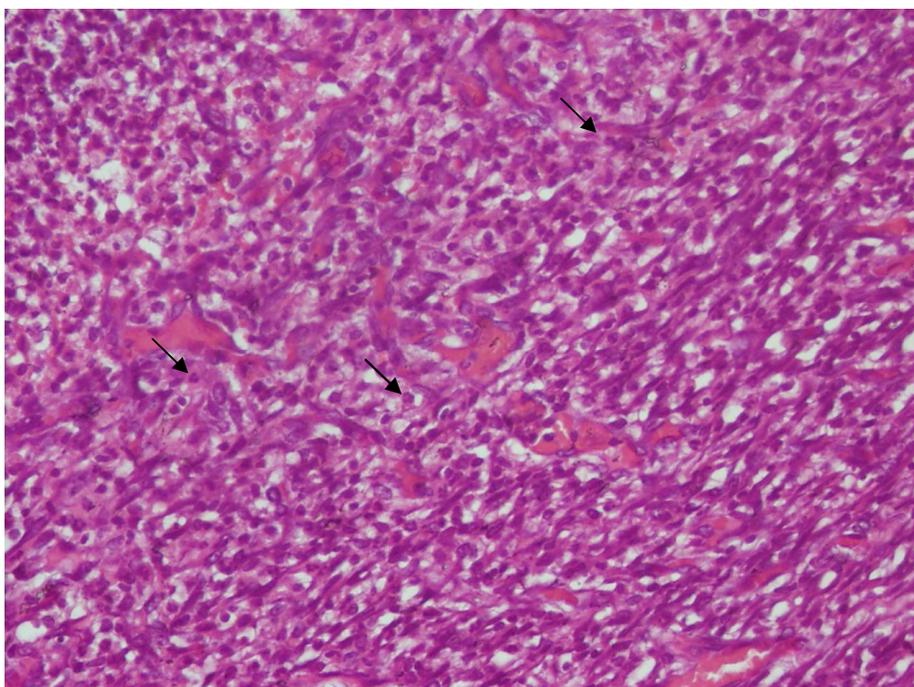


Pembesaran 400X

PERLAKUAN



Pembesaran 100X



Pembesaran 400X