

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAGING IKAN BUJUK
(*Channa lucius*) TERHADAP SINTESIS KOLAGEN PADA
JARINGAN LUKA TIKUS PUTIH DIABETIK**

*EFFECT OF Channa lucius EXTRACT ON COLLAGEN
SYNTHESIS IN WOUND TISSUE OF DIABETIC RATS*

SKRIPSI SARJANA SAINS

Oleh

SITI ENDANG MUSTIKA



**FAKULTAS BIOLOGI
UNIVERSITAS NASIONAL
JAKARTA
2020**

FAKULTAS BIOLOGI UNIVERSITAS NASIONAL

Skripsi, Jakarta Februari 2020

Siti Endang Mustika

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAGING IKAN BUJUK (*Channa lucius*) TERHADAP SINTESIS KOLAGEN PADA JARINGAN LUKA TIKUS PUTIH DIABETIK

x + 65 halaman, 23 gambar, 8 tabel, 2 lampiran

Luka diabetik merupakan salah satu komplikasi kronik diabetes melitus yang paling sering dijumpai dan paling ditakuti karena sukar sembuh. Oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian untuk menemukan bahan-bahan yang dapat membantu penyembuhan luka diabetik. Pemberian ekstrak daging ikan bujuk (*Channa lucius*) sudah dibuktikan dapat mempercepat penyembuhan luka, namun belum diketahui mekanisme yang mendasarinya. Oleh sebab itu dalam penelitian ini dilakukan eksperimen untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daging ikan bujuk terhadap sintesis kolagen dalam penyembuhan luka diabetik. Penelitian dilakukan menggunakan 54 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague Dawley* yang diinduksi diabetik dengan alokan 150 mg/kg/BB dan diberi perlakuan eksisi pada bagian dorsal badan tikus. Kemudian tikus percobaan diberi ekstrak ikan bujuk dengan 3 tingkat dosis, yaitu 1,25; 2,5, dan 5 g/kg/BB sejak hari pertama sampai luka sembuh sempurna. Sebagai pembanding digunakan glibenklamid 5 mg/kg/BB. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daging ikan bujuk mengandung zat-zat yang diperlukan untuk mempercepat penyembuhan luka diabetik yaitu protein total (74,28%), albumin (26,20%), karbohidrat (4,30%), lemak (5,73%) dan Zn (6,69 mg/kg). Pemberian ekstrak ikan bujuk terbukti dapat meningkatkan jumlah serabut kolagen dan cenderung meningkatkan kadar hidroksiprolin pada jaringan luka tikus putih yang mengalami luka diabetik. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daging ikan bujuk dapat mempercepat penyembuhan luka antara lain dengan mempercepat sintesis kolagen pada jaringan luka diabetik.

Kata kunci: hidroksiprolin, ikan bujuk, penyembuhan luka, serabut kolagen

Daftar bacaan : 49 (2010-2019)

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAGING IKAN BUJUK
(*Channa lucius*) TERHADAP SINTESIS KOLAGEN PADA
JARINGAN LUKA TIKUS PUTIH DIABETIK**

**Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
SARJANA SAINS DALAM BIDANG BIOLOGI**

Oleh

**SITI ENDANG MUSTIKA
183112620120048**



**FAKULTAS BIOLOGI
UNIVERSITAS NASIONAL
JAKARTA
2020**

Judul Skripsi : PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAGING IKAN BUJUK (*Channa lucius*) TERHADAP SINTESIS KOLAGEN PADA JARINGAN LUKA TIKUS PUTIH DIABETIK

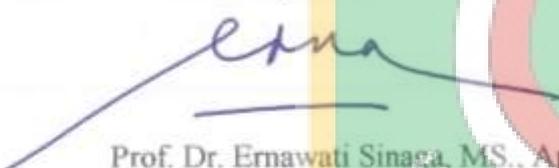
Nama Mahasiswa : Siti Endang Mustika

Nomor Pokok : 183112620120048



Pembimbing Pertama

Pembimbing Kedua


Prof. Dr. Ernawati Sinaga, MS., Apt.


Dr. Vivitri Dewi Prasasty, M.Si.



Dekan

Dr. Patang Mitra Setia, M.Si.

Tanggal Lulus : 28 Februari 2020

KATA PENGANTAR

Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, puji syukur alhamdulillah penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas berkat, rahmat, taufik dan hidayah-Nya, penyusunan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Pemberian Ekstrak Daging Ikan Bujuk (*Channa lucius*) Terhadap Sintesis kolagen Pada Jaringan Luka Tikus Putih Diabetik”** dapat diselesaikan dengan baik.

Penulis menyadari bahwa dalam proses penulisan skripsi ini banyak mengalami kendala, namun berkat bantuan, bimbingan, kerjasama dari berbagai pihak dan berkah dari Allah SWT sehingga kendala yang dihadapi dapat diatasi. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Ernawati Sinaga, MS., Apt. selaku pembimbing pertama yang telah meluangkan waktunya memberi arahan kepada penulis dalam menyusun dan menyelesaikan skripsi ini.
2. Ibu Dr. Vivitri Dewi Prasasty, M.Si selaku pembimbing kedua yang telah membantu dan memberi masukan kepada penulis dalam penyusunan skripsi ini.
3. Ibu Dra. Noverita, M.Si selaku pembimbing akademik angkatan 2018/2019 yang telah meluangkan waktunya memberikan arahan kepada penulis dalam menyusun dan menyelesaikan skripsi ini.
4. Bapak Dr. Tatang Mitra Setia, M.Si. selaku Dekan Fakultas Biologi Universitas Nasional.
5. Bapak Drs. Gautama Wisnubudi, M.Si selaku Ketua Program Studi Biologi Universitas Nasional.
6. Ibu Dra. Suprihatin, M.Si, yang telah membantu dan memberi masukan kepada penulis dalam penyusunan skripsi ini.
7. Bapak Drs. Yeremia Rubin Camin, MS yang telah meluangkan waktunya dalam membantu memberikan arahan dalam pengelolaan data skripsi ini.
8. Bapak dan Ibu Dosen Fakultas Biologi konsentrasi studi Biologi Medik yang telah memberikan bimbingan dan ilmu pengetahuannya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.

9. Kepada ayah dan ibu saya (Otang Suherlan dan Sumarni, S. Pd), kakak saya (Rida Yandi, S.T, Nurweni, S.K.M) yang banyak memberikan bantuan moril, material, arahan dan selalu mendoakan keberhasilan dan keselamatan selama menempuh pendidikan.
10. Siti Rahmawati, Wini, Nur Hidayah, Elvera yang telah bekerjasama dengan baik selama penelitian ini.
11. Frety, Siti Nuraini, Rima Agustin, Deby Rizky, Deska Amelia, Hanifa, Nola, Husna, Mardian dan rekan-rekan Biomedik angkatan 2018 gasal.
12. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan skripsi ini.

Akhirnya, dengan segala kerendahan hati penulis menyadari masih banyak terdapat kekurangan, sehingga penulis mengharapkan adanya saran dan kritik yang bersifat membangun demi kesempurnaan skripsi ini.



Jakarta, Februari 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR TABEL	x
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. METODE PENELITIAN	7
A. Waktu Dan Tempat Penelitian.....	7
B. Instrumen Penelitian	7
C. Cara Kerja.....	9
D. Analisis Data	20
BAB III. HASIL DAN PEMBAHASAN	21
A. Kandungan ekstrak ikan bujuk.....	21
B. Efek suplementasi ekstrak ikan bujuk terhadap sintesis kolagen jaringan luka	23
BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN.....	37
A. Kesimpulan	37
B. Saran.....	37
DAFTAR PUSTAKA.....	39
Lampiran I Gambar Lampiran.....	47
Lampiran II Tabel Lampiran	52

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Naskah

Gambar 1. Ikan bujuk (<i>Channa lucius</i>)	8
Gambar 2. Daging ikan bujuk yang telah dibersihkan dan dipotong-potong.....	9
Gambar 3. Ekstrak cair ikan bujuk	10
Gambar 4. Ekstrak kering ikan bujuk.....	10
Gambar 5. Pemeliharaan tikus	15
Gambar 6. Pembuatan luka eksisi.....	16
Gambar 7. Alur eksperimen efek suplementasi ekstrak ikan bujuk	19
Gambar 8. Rata-rata jumlah serabut kolagen jaringan luka	25
Gambar 9. Rata-rata jumlah serabut kolagen jaringan luka pada hari ke-9, ke-18 dan pada saat luka sembuh sempurna.....	26
Gambar 10. Gambaran mikroskopis serabut kolagen jaringan luka pada hari ke-9 masa penyembuhan luka.....	27
Gambar 11. Gambaran mikroskopis serabut kolagen jaringan luka pada hari ke-18 masa penyembuhan luka	29
Gambar 12. Gambaran mikroskopis serabut kolagen jaringan luka pada hari semua luka sudah sembuh sempurna.....	31
Gambar 13. Rata-rata hidroksiprolin jaringan luka tikus percobaan	35
Gambar 14. Rata-rata kadar hidroksiprolin jaringan luka pada hari ke-9, ke-18, dan pada saat luka sudah sembuh sempurna.....	36

Lampiran

Gambar Lampiran 1. Pengukusan daging ikan bujuk.....	47
Gambar Lampiran 2. Ekstrak cair daging ikan bujuk.....	47
Gambar Lampiran 3. Skema alur pengolahan ikan bujuk	48
Gambar Lampiran 4. Skema pembuatan luka eksisi pada bagian dorsal badan tikus.....	49
Gambar Lampiran 5. Skema preparasi hidroksiprolin	50
Gambar Lampiran 6. Proses <i>freezedrying</i>	51

Gambar Lampiran 7. Induksi aloksan secara intraperitoneal 51



DAFTAR TABEL

Halaman

Naskah

Tabel 1. Definisi Operasional Variabel (DOV).....	7
Tabel 2. Komposisi gizi ekstrak kering daging ikan bujuk	21

Lampiran

Tabel Lampiran 1. Data hasil pengamatan mikroskopis jumlah serabut kolagen	52
Tabel Lampiran 2. Hasil analisis statistika serabut kolagen.....	55
Tabel Lampiran 3. Hasil <i>post hoc test</i> serabut kolagen	56
Tabel Lampiran 4. Data hasil pengukuran kadar hidroksiprolin jaringan luka	59
Tabel Lampiran 5. Hasil analisis statistika kadar hidroksiprolin jaringan luka	62
Tabel Lampiran 6. Hasil <i>post hoc test</i> konsentrasi hidroksiprolin	63



BAB I. PENDAHULUAN

Diabetes melitus merupakan penyakit kronis yang disebabkan oleh gangguan fungsi insulin yang terjadi baik saat pankreas tidak menghasilkan cukup insulin atau tubuh tidak dapat efektif menggunakan insulin yang dihasilkannya (Cho *et al.*, 2018; WHO, 2016). Penderita DM biasanya ditandai oleh peningkatan glukosa darah (hiperglikemia) dan sekresi glukosa dalam urin (Okur *et al.*, 2017). International Diabetes Federation (IDF) memperkirakan bahwa sebanyak 183 juta orang tidak menyadari bahwa mereka mengidap DM. Diabetes melitus telah menjadi penyebab dari 4,6 juta kematian. Pada tahun 2006, terdapat lebih dari 50 juta orang yang menderita DM di Asia Tenggara dengan jumlah penderita DM terbesar berusia antara 40-59 tahun (IDF, 2011). Di Indonesia, prevalensi DM sebesar 1,5-2,3% (Okur *et al.*, 2017).

Selain dapat menyebabkan kematian, penderita diabetes melitus sangat berisiko mengalami komplikasi, baik yang bersifat akut maupun kronik. Luka diabetik merupakan salah satu komplikasi kronik diabetes melitus yang paling sering dijumpai dan ditakuti karena sukar sembuh dan sering berakhir dengan amputasi (Chammas *et al.*, 2016).

Menurut Zhang *et al.* (2017) prevalensi luka diabetes pada kaki diperkirakan sebesar 6,3% diseluruh dunia, suatu jumlah yang cukup besar dan mengkhawatirkan karena terus meningkat dari tahun ke tahun. Oleh sebab itu, penelitian dalam menemukan bahan yang dapat membantu penyembuhan luka diabetes sangat diperlukan.

Proses penyembuhan luka merupakan proses yang dinamis dan kompleks dan memerlukan koordinasi dari berbagai jenis sel yang mengarah pada perbaikan jaringan yang luka. Proses penyembuhan luka berlangsung dalam empat fase, yaitu hemostasis, peradangan, proliferasi dan remodeling. Fase hemostasis terjadi kurang dari satu jam setelah luka, ditandai dengan terjadinya vasokonstriksi dan pembekuan darah, yang diawali dengan masuknya platelet melalui pembentukan fibrin. Fase inflamasi dimulai dengan hadirnya netrofil, yang diikuti oleh makrofag dan limfosit pada lokasi luka. Sel ini nantinya bekerja membuang sel yang tidak dipakai dan membunuh bakteri. Makrofag memproduksi berbagai faktor yang mempengaruhi angiogenesis, fibroplasia dan sintesis matriks. Fase proliferasi ditandai oleh pembentukan pembuluh darah baru, granulasi

jaringan, sintesis komponen matriks ekstraseluler seperti kolagen dan jaringan epitel. Proliferasi diawali oleh aktivitas fibroblas mensintesis kolagen dan proteoglikan yang menghasilkan jaringan parut. Pada fase ini kolagen akan bekerja menghubungkan jaringan-jaringan pada luka untuk membantu mengembalikan kekuatan jaringan kulit dan mempercepat penyembuhan luka. Tahap terakhir pada proses penyembuhan luka adalah fase maturasi (remodeling), terjadi pada saat terlepasnya keropeng (*scab*) dan terlihat jaringan kulit yang baru. Pada fase ini fibroblas secara berkelanjutan akan mensintesis kolagen yang akan membantu memberikan elastisitas, kelenturan dan kelembaban kulit (Gonzalez *et al.*, 2016; Wallace and Zito, 2018).

Pada luka diabetes, berbagai faktor intrinsik dan ekstrinsik, memperparah kondisi luka dan menghambat penyembuhan luka. Faktor intrinsik yang sangat berpengaruh adalah kondisi hiperglikemia itu sendiri, yang dapat menghambat penyembuhan luka melalui pembentukan produk akhir glikasi yang menginduksi pembentukan molekul-molekul peradangan seperti TNF dan IL-1 dan mengganggu sintesis kolagen (Tsourdi *et al.*, 2013).

Banyak ahli yang telah melakukan penelitian untuk mencari bahan alam yang dapat membantu penyembuhan luka diabetik. Sebagian besar penelitian tersebut menggunakan ekstrak bahan alam yang diaplikasikan secara topikal, baik dalam bentuk salep ataupun gel. Bahan alam yang terbukti efektif dalam penyembuhan luka diabetes yang diberikan secara topikal, antara lain ekstrak kulit batang *Strychnos pseudoquina* (Sarandy *et al.*, 2017), ekstrak daun patikan kebo (*Euphorbia hirta*) (Tuhin *et al.*, 2017), ekstrak daun tanaman kelor (*Moringa oleifera*) (Muhammad *et al.*, 2016), ekstrak daun bayam hijau (*Amaranthus viridis*) (Sahoo *et al.*, 2015) dan ekstrak pegagan (*Centella asiatica*) (Shetty and Pemmineti, 2013). Para peneliti Indonesia juga melaporkan efektivitas beberapa bahan alam dalam menyembuhkan luka diabetes ketika diaplikasikan secara topikal, antara lain kunyit (*Curcuma domestica*), (Winarsih *et al.*, 2012), bandotan (*Ageratum conyzoides*) (Afrianti *et al.*, 2016), dan binahong (*Anredera cordifolia*) (Wijonarko *et al.*, 2016). Penelitian efektivitas bahan alam dalam penyembuhan luka diabetik dengan pemberian per oral masih sangat sedikit, salah satu diantaranya dilaporkan oleh Saini and Verma (2017) yang membuktikan bahwa ekstrak etanol dan

etil asetat akar *Jasminum mesnyi* yang diberikan per oral dapat mempercepat penyembuhan luka pada tikus diabetes.

Penggunaan hewan atau bagian-bagian tubuh hewan sebagai salah satu bahan alternatif dalam pengobatan belum mengalami perkembangan yang berarti, padahal jika ditinjau dari segi sumber daya alam khususnya perairan Indonesia sangat potensial untuk dikembangkan menjadi sumber bahan dalam pengobatan. Pemanfaatan hewan-hewan laut maupun hewan sungai sebagai bahan pengobatan saat ini masih dalam tahap pengembangan, contohnya penggunaan ikan gabus (*Channa striata*) sebagai bahan dalam pengobatan luka (Ciptanto, 2010).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Murdani (2016), ekstrak ikan toman (*Channa micropeltes*) dapat mempercepat proses penyembuhan luka sayat pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi streptozotisin. Ekstrak ikan gabus juga telah dibuktikan secara klinis dapat mempercepat penyembuhan luka pasca operasi *Caesar*, baik diberikan per oral maupun oles (Mustafa *et al.*, 2012; Rahman *et al.*, 2018). Menurut Andrie dan Dies (2017) dan Andrie and Sihombing (2017) sediaan salep yang mengandung ekstrak ikan gabus dapat mempercepat penyembuhan luka akut stadium II terbuka pada tikus jantan galur Wistar. Pemberian ekstrak ikan gabus (*Channa striatus*) secara oral juga mampu memberikan pengaruh terhadap nyeri dan mempercepat penyembuhan luka operasi *Caesar* (Wahab *et al.*, 2015).

Ikan bujuk (*Channa lucius*) merupakan ikan marga *Channa*, karena itu berkerabat dekat dengan ikan gabus (*Channa striata*) dan ikan toman (*Channa micropeltes*) (Sinaga, 2018). Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Firlianty *et al.* (2013) ikan bujuk dari Kalimantan mengandung protein 17,98%, lemak 0,37%, air 78,87%, karbohidrat 1,47%, albumin 4,04% dan Zn 2,33%. Hasil analisis komposisi gizi ekstrak ikan-ikan marga *Channa* dari daerah Jambi yang dilakukan oleh Sinaga *et al.* (2019) mengungkapkan bahwa ekstrak kering daging ikan bujuk mengandung 33,3% albumin, 73,16% protein total, 1,76% karbohidrat, 1,77% lemak dan 4,4 mg/kg Zn. Protein, terutama albumin dan Zn merupakan senyawa-senyawa yang berperan penting dalam proses penyembuhan luka (Said *et al.*, 2013). Ekstrak daging ikan bujuk juga telah dibuktikan oleh Rahmawati (2019), Istiqomah (2019), Zaili (2019), dan Sinaga *et al.* (2019) dapat mempercepat penyembuhan luka dan luka diabetik.

Menurut Rahmawati (2019) pemberian ekstrak daging ikan bujuk dapat mempercepat penyembuhan luka diabetik pada tikus putih dan dapat mempercepat pembentukan jaringan epitel pada jaringan kulit yang luka. Hasil penelitian Istiqomah (2019) mengungkapkan bahwa suplementasi ekstrak ikan bujuk dapat mempercepat penyembuhan luka diabetik, namun tidak dapat menurunkan kadar glukosa darah sampai ke taraf normal sebagaimana tikus sehat non-diabetik. Adapun hasil penelitian Zaili (2019) menunjukkan bahwa ekstrak ikan bujuk mengandung protein terutama albumin yang tinggi, dan suplementasi ekstrak ikan bujuk efektif mempercepat penyembuhan luka. Walaupun penelitian-penelitian tersebut sudah membuktikan bahwa pemberian ekstrak daging ikan bujuk dapat mempercepat penyembuhan luka, bahkan luka diabetik, namun belum diketahui mekanisme percepatan penyembuhan luka ataupun luka diabetik yang disebabkan oleh suplementasi ekstrak ikan bujuk tersebut.

Salah satu tahap yang penting dalam proses penyembuhan luka adalah sintesis kolagen. Kolagen adalah protein utama yang menyusun komponen matrik ekstraseluler dan merupakan protein yang paling banyak ditemukan di dalam tubuh manusia. Kolagen tersusun atas triple heliks dari tiga rantai α polipeptida. Kolagen ditemukan pada lapisan dermis pada kulit. Pada proses penyembuhan luka, fibroblas akan bergerak menuju daerah luka dan akan memproduksi matriks kolagen dalam jumlah besar sehingga luka terisi fibroblas dan luka menutup (Zhou *et al.*, 2013; Gonzalez *et al.*, 2016). Kolagen menjadi parameter terbentuknya jaringan regenerasi kulit. Kolagen terutama tersusun atas dua jenis asam amino yaitu hidroksilisin dan hidroksiprolin (Rismana *et al.*, 2013).

Hidroksiprolin merupakan asam amino penanda dari serabut kolagen dan menyusun 13,2 % dari protein tersebut. Hidroksiprolin dibentuk pada saat fase proliferasi penyembuhan luka sebagai bahan dasar dari kolagen (Albaugh *et al.*, 2017). Kadar hidroksiprolin dalam jaringan dapat digunakan sebagai indeks parameter sintesis kolagen dalam kulit. Semakin tinggi kadar hidroksiprolin dapat diindikasikan bahwa terjadi peningkatan sintesis kolagen yang berkorelasi dengan proses penyembuhan luka.

Dalam penelitian ini dilakukan eksperimen untuk mengetahui efek suplementasi ekstrak ikan bujuk terhadap sintesis kolagen pada jaringan luka tikus putih yang mengalami luka diabetik. Untuk itu diajukan hipotesis sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak ikan bujuk dapat meningkatkan sintesis kolagen pada jaringan luka tikus putih yang menderita diabetik, yang ditunjukkan dengan meningkatnya jumlah serabut kolagen pada jaringan luka.
2. Pemberian ekstrak ikan bujuk dapat meningkatkan sintesis kolagen pada jaringan luka tikus putih yang menderita diabetik, yang ditunjukkan dengan meningkatnya kadar hidroksiprolin pada jaringan luka.





BAB II. METODE PENELITIAN

A. Waktu Dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia, Laboratorium Zoologi dan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Nasional. *Freezedrying* ekstrak daging ikan bujuk dilakukan di Puspitek (Pusat Penelitian Ilmu Pengetahuan dan Teknologi) Serpong dan pemeriksaan histopatologi dilakukan di Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Seluruh kegiatan penelitian dilaksanakan pada bulan April sampai dengan Agustus 2019.

B. Instrumen Penelitian

1. Definisi operasional variabel

Definisi operasional variabel disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Definisi Operasional Variabel (DOV)

No	Variabel	DOV	Sumber	Satuan
1	Dosis ekstrak ikan bujuk	Banyaknya ekstrak ikan bujuk yang diberikan kepada tikus dalam jumlah 2,5 ml/ekor tikus/hari dengan dosis 5, 2,5 dan 1,5 g/kg BB	Ikan bujuk yang diperoleh dari sungai desa tanjung Kabupaten Muaro Jambi	mL/hari
2	Kadar hidroksiprolin	Diperiksa kadar Hidroksiprolin setelah tikus diberi ekstrak ikan bujuk selama 9 hari, 18 hari dan sampai luka sembuh total.	Kulit bekas luka	ppm
3	Kerapatan serabut kolagen	Diperiksa kerapatan serabut kolagen setelah tikus diberi ekstrak ikan bujuk selama 9 hari, 18 hari dan sampai luka sembuh total.	Jaringan kulit.	

2. Hewan percobaan

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 54 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus* L.), galur *Sprague Dawley* yang diperoleh dari Unit Pengelolaan Hewan Laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian

Bogor, dengan kriteria inklusi yakni berjenis kelamin jantan, berumur lebih kurang 3 bulan dengan berat badan 200-240 g.

3. Bahan penelitian

Ikan bujuk (*Channa lucius*) yang digunakan dalam penelitian ini (Gambar 1) diperoleh dari pedagang ikan Pasar Angso Duo Kota Jambi yang memperoleh ikan dari sungai Desa Tanjung Kabupaten Muaro Jambi Provinsi Jambi.



Gambar 1. Ikan bujuk (*Channa lucius*)

4. Pakan hewan coba

Selama penelitian dilaksanakan, tikus putih diberi pakan standar serta diberi minum air keran secara *ad libitum*.

5. Reagensia dan pelarut

Aloksan yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari CV. Banyu Bening, sedangkan glibenklamid (Daonil) merupakan produksi PT. Mugi Laboratories. Di samping itu juga digunakan NaCl 0,9%, Na - CMC 0,5%, aquadest, alkohol 70%, eter 10%, HCl 6 N, asam fosfat, metanol, ammonium asetat dan asam trikloroasetat.

6. Alat Penelitian

- a. Alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak ikan bujuk adalah pisau, *beaker glass*, erlenmeyer, gelas ukur, alat sentrifugasi, panci pengukus, botol

kaca (500 ml), timbangan analitik, batang pengaduk, aluminium foil, kain flanel serta alat untuk *freeze-dry* menggunakan merk Heto FD.

- b. Alat yang digunakan pada eksperimen dengan hewan coba adalah alat sonde lambung, pisau cukur, penggaris, scapel blade no. 11, lancet dan pena lancet (autoklik), spuit injeksi 3 ml, kertas millimeter blok serta alat glucometer merk Gluco DR.
- c. Alat yang digunakan untuk analisis ekstrak yaitu alat fotometer Humastar 80.
- d. Alat yang digunakan untuk pembuatan preparat histologi adalah *beaker glass*, gunting, scalpel, *objek glass*, blok parafin dan mikrotom.
- e. Alat yang digunakan untuk pemeriksaan histologi jaringan adalah mikroskop, dan kamera mikroskop merk Optilab dan Leica DM750.
- f. Alat yang digunakan untuk pemeriksaan hidrosiprolin yaitu HPLC merk Agilent.

C. Cara Kerja

1. Pembuatan ekstrak ikan bujuk

Ikan bujuk dibersihkan kepala dan isi perutnya serta dibuang sisik dan tulangnya, kemudian diambil daging ikannya saja. Lalu daging ikan dicuci bersih, dikeringkan dengan kertas penyerap yang bersih dan kering. Daging ikan bujuk dipotong-potong dengan ukuran kira-kira 2x2x2 cm, ditimbang, lalu diletakkan di dalam wadah kaca tahan panas (Gambar 2).

Air dipanaskan sampai mendidih dalam alat pengukus yang di atasnya sudah terdapat saringan kukusan. Kemudian wadah kaca berisi daging ikan diletakkan di atas saringan, alat pengukus ditutup, lalu proses pengukusan dilakukan pada 70°C selama 2 jam (Gambar Lampiran 1). Setelah pengukusan selesai daging ikan dibungkus dengan kain flanel kemudian diperas diperas, lalu cairan daging ikan dikumpulkan dan dimasukkan dalam wadah kaca yang bersih dan kering.



Gambar 2. Daging ikan bujuk yang telah dibersihkan dan dipotong-potong

Cairan daging ikan disentrifus selama 15 menit, lalu lapisan cairan yang pekat berupa cairan bewarna putih susu diambil dengan menggunakan pipet, lalu disimpan dalam wadah kaca (Gambar 3 dan Gambar Lampiran 2). Sebelum dilakukan *freezedry* ekstrak disimpan pada suhu $< 4^{\circ}\text{C}$ untuk mencegah kerusakan ekstrak. Ekstrak di-*freezedry* di Pusat Penelitian Biologi LIPI di Cibinong (Gambar Lampiran 6). Untuk perlakuan, ekstrak kering hasil *freezedry* (Gambar 4) dilarutkan dalam air suling sesuai dengan konsentrasi yang ditetapkan. Skema alur pengolahan ikan bujuk disajikan pada Gambar Lampiran 3.



Gambar 3. Ekstrak cair daging ikan bujuk



Gambar 4. Ekstrak kering ikan bujuk

2. Analisis kandungan ekstrak ikan bujuk

Ekstrak kering ikan bujuk diambil sebanyak 50 g untuk ditetapkan kadar protein total, karbohidrat, lipid dan Zn menggunakan alat fotometer Humastar 80 di Laboratorium Anugrah Analisis Sempurna (AAS) Depok, sedangkan kadar albumin ditetapkan di RS Yadika Kebayoran Lama. Cara kerja yang digunakan adalah sebagai berikut:

a. Penetapan kadar protein

- Prinsip pemeriksaan: Senyawa nitrogen diubah menjadi ammonium sulfat oleh H_2SO_4 pekat. Ammonium sulfat yang terbentuk diuraikan dengan NaOH. Amoniak yang dibebaskan diikat dengan asam borat dan kemudian dititer dengan larutan baku HCl.
- Cara kerja:
Ditimbang seksama 0,5 g sampel, lalu dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl 100 ml, dan ditambahkan 2 g campuran selen dan 25 ml H_2SO_4 pekat, lalu dipanaskan di

atas pemanas listrik atau api pembakar sampai mendidih dan larutan menjadi jernih kehijau-hijauan (sekitar 2 jam). Cairan dibiarkan dingin, kemudian diencerkan dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, ditepatkan sampai tanda garis, kemudian dipipet 5 ml larutan dan dimasukkan ke dalam alat penyuling dan ditambahkan 5 ml NaOH 30% dan beberapa tetes indikator fenolftalein, lalu disuling selama lebih kurang 10 menit. Sebagai penampung digunakan 10 ml larutan asam borat 2% yang telah dicampur indikator. Ujung pendingin dibilas dengan air suling, kemudian dititer dengan larutan HCl 0,01 N. Blanko dikerjakan dengan cara yang sama.

b. Penetapan kadar albumin

- Prinsip pemeriksaan: Albumin dengan hijau brom kresol (BCG) dalam dapar sitrat dan suasana asam pH 4,2 akan membentuk senyawa kompleks berwarna biru. Intensitas warna yang terbentuk sebanding dengan konsentrasi albumin dalam sampel
- Cara kerja:
Dimasukkan 10 μ l sampel ke dalam kuvet, ditambahkan 1000 μ l reagen albumin (dapar sitrat pH 4,2 dan hijau brom kresol), lalu diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C. Kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang 546 nm, dan dicatat nilai absorbansinya.

c. Penetapan kadar karbohidrat

- Prinsip pemeriksaan: karbohidrat dihidrolisis menjadi monosakarida yang dapat mereduksikan Cu^{2+} menjadi Cu^+ . Kelebihan Cu^{2+} dititer secara Iodometri.
- Cara kerja:
Ditimbang seksama lebih kurang 5 g sampel ke dalam erlenmeyer 500 ml, lalu ditambahkan 200 ml larutan HCl 3% dan dididihkan selama 3 jam dengan pendingin tegak. Setelah itu campuran didinginkan dan dinetralkan dengan larutan NaOH 30% (dengan indikator lakmus atau fenoltalein). Kemudian ditambahkan sedikit CH_3COOH 3% agar suasana larutan agak sedikit asam, lalu dipindahkan isinya ke dalam labu ukur 500 ml dan diimpitkan hingga tanda garis, kemudian disaring 10 ml hasil saringan dipipet ke dalam erlenmeyer 500 ml dan ditambahkan

25 ml larutan Luff (dengan pipet) dan beberapa butir batu didih serta 15 ml air suling. Setelah itu campuran dipanaskan dengan nyala yang stabil. Usahakan agar larutan dapat mendidih dalam waktu 3 menit (digunakan stopwatch), lalu dididihkan hingga 10 menit (dihitung dari saat mulai mendidih dan digunakan stopwatch), kemudian dengan cepat didinginkan dalam bak berisi es. Setelah dingin ditambahkan 15 ml larutan KI 20% dan 25 ml H₂SO₄ 25% perlahan-lahan. Kemudian dititer secepatnya dengan larutan tio 0,1 N (digunakan penunjuk larutan kanji 0,5%). Blanko dikerjakan dengan cara yang sama.

d. Penetapan Zn

• Cara kerja:

Semua peralatan gelas yang digunakan dibilas dengan HCl 1 kali, air keran 1 kali, dan dengan air suling 1 kali. Gelas piala dan labu ukur yang akan digunakan untuk menimbang dan menyaring dikeringkan dalam oven. Lalu ditimbang 5 g contoh dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* 50 ml, ditambahkan 25 ml larutan HNO 1:1, kemudian dipanaskan sampai mendidih dan dibiarkan dalam keadaan tersebut selama 5 menit. Pelarut didinginkan dan kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 50 ml secara kuantitatif. Setelah itu diencerkan sampai tanda garis dengan air suling, dikocok dan disaring melalui kertas saring berlipat, kemudian dibuat larutan blanko dan diproses dengan cara ditambahkan pereaksi yang sama seperti contoh. Absorbansi larutan deret standar, blanko dan contoh dibaca dengan alat spektrofotometer serapan atom pada panjang gelombang 213 nm, lalu dibuat kurva kalibrasi dengan sumbu y sebagai absorbansi dan sumbu x sebagai konsentrasi (dalam ppm), dan dihitung kadar logam dalam contoh.

e. Penetapan lemak

- Prinsip pemeriksaan: mengukur intensitas cahaya berdasarkan transmisi atau absorbansi dari cahaya yang dilewatkan pada panjang gelombang tertentu, sebagian cahaya diserap dan sebagian dilewatkan.

- Cara Kerja :

Sampel ditimbang, dihaluskan, diekstraksi dengan cara maserasi selama 2 jam dengan pelarut n-heksana, lalu disaring dengan kain flannel, disentrifugasi pada 3000 rpm selama 20 menit, disaring dengan kertas Whatman yang ditaruh Na_2SO_4 anhidrat, dikeringkan, diulangi untuk setiap perlakuan. Panjang Gelombang optimum ditentukan mulai dari 268, 269, 270, 271, dan 271 nm. Larutan standar dibuat dengan variasi 5, 10, 15, 20, dan 25 %. Analisis menggunakan panjang gelombang optimum. Sebanyak 1 g sampel hasil ekstraksi ditimbang, diencerkan dengan aquadest sampai 100 ml. Sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam kuvet dan ditentukan absorbansinya.

3. Uji pengaruh pemberian ekstrak ikan bujuk terhadap sintesis kolagen

a. Desain penelitian dan pengelompokan hewan coba

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vivo* menggunakan 54 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague Dawley* yang diinduksi diabetik dengan aloksan dan diberi perlakuan eksisi. Eksperimen menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RAL-F). Tikus percobaan didistribusikan secara random dalam 18 kelompok masing-masing terdiri dari 3 ulangan, yaitu:

- KS1, yaitu kelompok tikus sehat (tidak diinduksi diabetik) yang diberi suspensi Na-CMC 0,5% sebanyak 2,5 ml sejak hari ke-1 sampai hari ke 9.
- KS2, yaitu kelompok tikus sehat (tidak diinduksi diabetik) yang diberi suspensi Na-CMC 0,5% sebanyak 2,5 ml sejak hari ke-1 sampai hari ke 18.
- KS3, yaitu kelompok tikus sehat (tidak diinduksi diabetik) yang hanya diberi suspensi Na-CMC 0,5% sebanyak 2,5 ml sejak hari ke-1 sampai luka sembuh sempurna.
- KD1, yaitu kelompok tikus diabetik (diinduksi diabetik dengan aloksan 150 mg/kg/BB) yang diberi suspensi Na-CMC 0,5% sebanyak 2,5 ml sejak hari ke-1 sampai hari ke 9.
- KD2, yaitu kelompok tikus diabetik (diinduksi diabetik dengan aloksan 150 mg/kg/BB), yang diberi suspensi Na-CMC 0,5% sebanyak 2,5 ml (sebagai pengganti ekstrak) sejak hari ke-1 sampai hari ke 18.

- KD3, yaitu kelompok tikus diabetik (diinduksi diabetik dengan aloksan 150 mg/kg/BB), yang diberi suspensi Na-CMC 0,5% sebanyak 2,5 ml (sebagai pengganti ekstrak) sejak hari ke-1 sampai luka sembuh sempurna.
- KG1, yaitu kelompok tikus diabetik (diinduksi diabetik dengan aloksan), yang diberi glibenklamid 5 mg/kg/BB sebanyak 2,5 ml sejak hari ke-1 sampai hari ke 9.
- KG2, yaitu kelompok tikus diabetik (diinduksi diabetik dengan aloksan), yang diberi glibenklamid 5 mg/kg/BB sebanyak 2,5 ml sejak hari ke-1 sampai hari ke 18.
- KG3, yaitu kelompok tikus diabetik (diinduksi diabetik dengan aloksan), yang diberi glibenklamid 5 mg/kg/BB sebanyak 2,5 ml sejak hari ke-1 sampai luka sembuh sempurna.
- KER1, yaitu kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak ikan bujuk 1,25 g/kg/BB sebanyak 2,5 ml sejak hari ke-1 sampai hari ke 9.
- KER2, yaitu kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak ikan bujuk 1,25 g/kg/BB sebanyak 2,5 ml sejak hari ke-1 sampai hari ke 18.
- KER3, yaitu kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak ikan bujuk 1,25 g/kg/BB sebanyak 2,5 ml sejak hari ke-1 sampai luka sembuh sempurna.
- KEM1, yaitu kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak ikan bujuk 2,5 g/kg/BB sebanyak 2,5 ml sejak hari ke-1 sampai hari ke 9.
- KEM2, yaitu kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak ikan bujuk 2,5 g/kg/BB sebanyak 2,5 ml sejak hari ke-1 sampai hari ke 18.
- KEM3, yaitu kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak ikan bujuk 2,5 g/kg/BB sebanyak 2,5 ml sejak hari ke-1 sampai luka sembuh sempurna.
- KET1, yaitu kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak ikan bujuk 5 g/kg/BB sebanyak 2,5 ml sejak hari ke-1 sampai hari ke 9.
- KET2, yaitu kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak ikan bujuk 5 g/kg/BB sebanyak 2,5 ml sejak hari ke-1 sampai hari ke 18.
- KET3, yaitu kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak ikan bujuk 5 g/kg/BB sebanyak 2,5 ml sejak hari ke-1 sampai hari dimana luka sembuh sempurna.

b. Pemeliharaan tikus percobaan

Tikus percobaan dipelihara secara individual terpisah satu sama lain (Gambar 5) dan diadaptasikan selama 2 minggu sebelum percobaan dilakukan. Selama percobaan, tikus diberi pakan standar serta diberi minum air keran secara ad libitum.



Gambar 5. Pemeliharaan tikus

c. Induksi diabetik dengan aloksan

Induksi diabetik dilakukan mengikuti metode yang dilakukan para peneliti lain (Sahoo *et al.*, 2015; Tuhin *et al.*, 2017) dengan sedikit modifikasi. Larutan aloksan monohidrat dalam larutan NaCl fisiologis steril diberikan dalam dosis tunggal 150 mg/kg/BB secara intraperitoneal, setelah sebelumnya tikus dipuasakan selama 10 jam (Gambar Lampiran 7). Setelah 6 jam disuntik aloksan, tikus diberi air minum glukosa 5% selama 24 jam. Pada hari ke-4 (72 jam setelah pemberian aloksan), darah diambil dari vena ekor dan kadar glukosa darah puasa diperiksa menggunakan glukometer. Tikus percobaan dianggap diabetik apabila kadar glukosa darah puasa >200 mg/dL.

d. Pembuatan luka

Pembuatan luka dilakukan sebagaimana yang dilakukan oleh para peneliti lain (Nagar *et al.*, 2016; Sahoo *et al.*, 2015; Tuhin *et al.*, 2017) dengan sedikit modifikasi. Luka dibuat di bagian dorsal badan tikus. Sebelum diberi perlukaan, tikus dianestesi total

terlebih dahulu dengan eter 10% dan bulu tikus dicukur di sekitar tempat yang akan dibuat perlukaan. Kemudian dilakukan desinfeksi menggunakan alkohol 70% di sekitar tempat yang akan dibuat perlukaan. Lalu dengan hati hati dibuat luka eksisi, dengan memotong bagian kulit bentuk lingkaran dengan diameter 2 cm (diberi tanda terlebih dahulu) menggunakan pinset (*toothed forceps*), pisau bedah dan gunting (Gambar 6 dan Gambar Lampiran 4). Semua alat disterilisasi terlebih dahulu sebelum digunakan.



Gambar 6. Pembuatan luka eksisi

e. Pemberian ekstrak ikan bujuk dan glibenklamid

Ekstrak ikan bujuk kering hasil *freeze-dry* dilarutkan dalam aquadestilata hangat dan diberikan per oral melalui intubasi lambung dalam volume 2,5 ml per tikus. Konsentrasi ekstrak diatur agar setiap kali pemberian sesuai dengan dosis yang ditentukan, yaitu 1,25 ; 2,5 dan 5 g/kg/BB. Sebagai kontrol positif diberikan suspensi glibenklamid dalam Na-CMC 0,5% dalam volume yang sama dengan ekstrak, dengan cara dan waktu yang sama dengan pemberian ekstrak. Ekstrak ikan bujuk, glibenklamid dan kontrol negatif (suspensi Na-CMC 0,5%) diberikan sekali sehari, mulai hari ke 1 (hari setelah perlukaan) sampai saat tikus dikorbankan, yaitu hari ke-9, ke-18 dan pada saat seluruh luka sembuh sempurna

f. Pengambilan jaringan kulit bekas luka

Pengambilan jaringan luka dilakukan mengacu pada peneliti sebelumnya (Tuhin *et al.*, 2017) dengan sedikit modifikasi. Tikus yang sudah dieutanasia dengan eter 10% diambil jaringan kulit bekas luka atau jaringan granulasinya dengan jalan menggunting

jaringan bekas luka seluas luka semula. Jaringan kulit dibentangkan, lalu dibagi menjadi 2 (dua) bagian. Satu bagian untuk dijadikan preparat histologis dan satu bagian lagi untuk penetapan kadar hidroksiprolin jaringan luka.

Jaringan kulit yang akan dibuat preparat histologis dimasukkan dalam wadah yang mengandung larutan formalin 10% (NBF 10%), lalu diproses lebih lanjut sesuai dengan prosedur penyiapan preparat histologis. Jaringan kulit yang akan digunakan untuk penentuan parameter biokimia jaringan kulit, dikeringkan dalam oven suhu 50°C selama 24 jam, lalu disimpan dalam *freezer* sebelum diproses lebih lanjut. Berat jaringan kulit sebelum dan sesudah dikeringkan ditimbang dengan neraca analitik.

g. Pembuatan preparat dan pengamatan histologi jaringan kulit bekas luka

Jaringan kulit yang akan dibuat preparat histologi difiksasi dengan formalin 10% (NBF 10%) selama 24 jam. Dehidrasi dan *clearing* kulit bekas luka dilakukan dengan memasukkan kulit bekas luka berturut-turut ke dalam alkohol dengan konsentrasi 70%, 80%, 95%, 96%, alkohol absolut I, II, III, xylol I, II dan III masing-masing selama 30 menit. Kemudian dilakukan proses pelekatan kulit dengan parafin (*embedding*) yaitu dengan memasukkan jaringan kulit ke dalam parafin I yang masih cair, kemudian dimasukkan ke dalam oven suhu 55-56 °C selama 30 menit dan diulangi lagi dengan parafin II dengan suhu oven 60°C. Hasil *embedding* kemudian dibuat blok parafin (*blocking*) dengan menggunakan cetakan besi. Setelah parafin membeku dilakukan pemotongan blok paraffin menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-7 µm. Hasil potongan dimasukkan ke dalam *water bath* dengan suhu 42-45°C sampai jaringan mengembang kemudian dikeringkan dalam *hot plate*.

Pewarnaan jaringan kulit menggunakan *Masson's trichome* untuk mendeteksi pematangan jaringan ikat. Warna merah menunjukkan keratin dan serat otot, biru menunjukkan kolagen, merah muda atau pink menunjukkan sitoplasma dan coklat tua atau hitam menunjukkan nukleus. Kepekatan dan organisasi warna biru dapat menunjukkan perbedaan kematangan serat kolagen. Pewarnaan *Masson's trichome* dilakukan sesuai dengan protokol pabrik.

Proses terakhir adalah *mounting* yaitu penutupan gelas obyek dengan gelas penutup yang sebelumnya telah ditetesi entellan. Pengamatan histopatologi dilakukan di

bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 10 x 40 (400x). Foto preparat yang mendukung data diambil dengan menggunakan alat Leica DM750 dan Opti Lab.

h. Penghitungan jumlah serabut kolagen

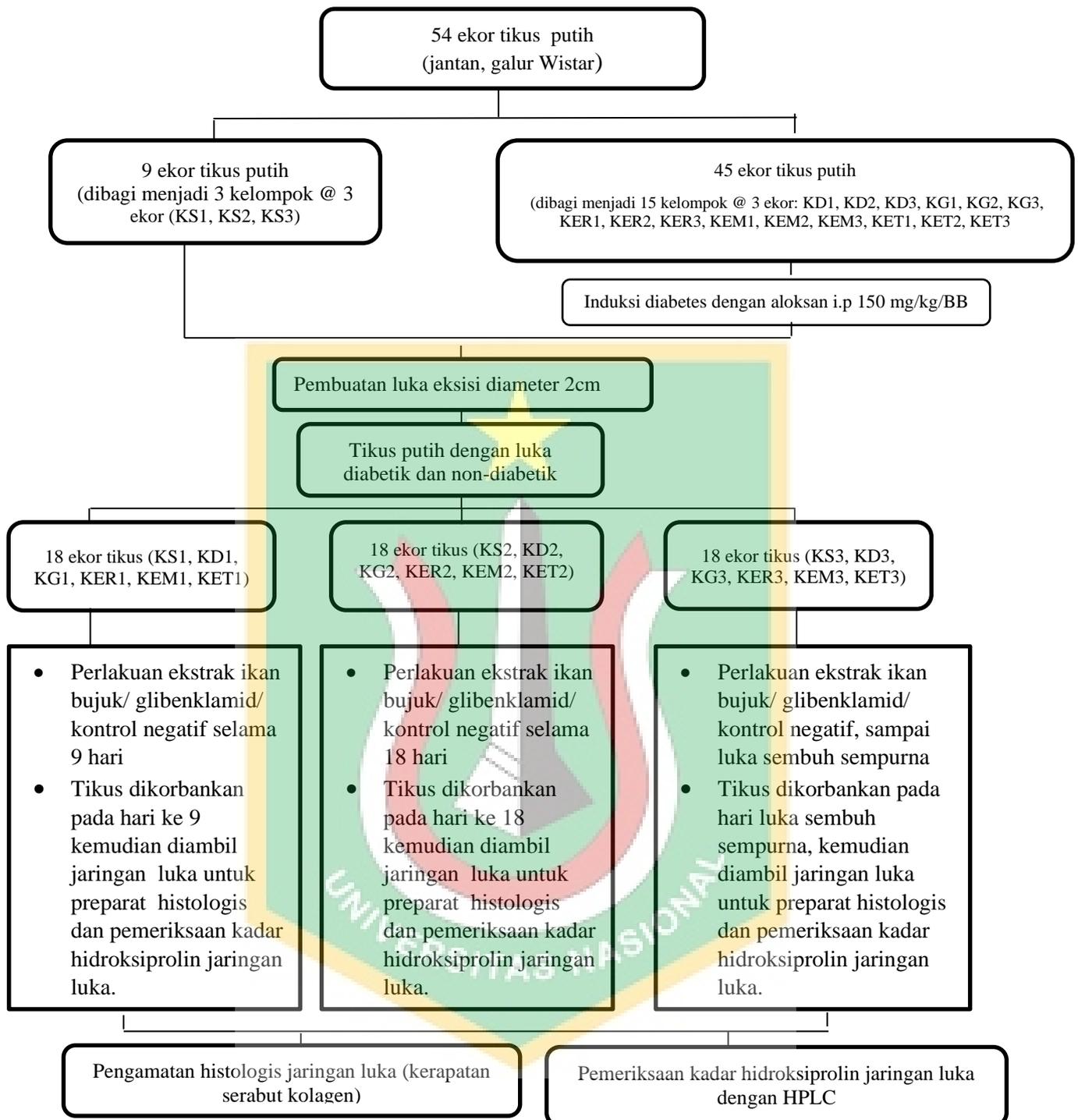
Perhitungan jumlah serabut kolagen dilakukan dengan kamera mikroskop yang dipasang pada lensa okuler mikroskop dengan pembesaran 10 x 40 (400x). Pembacaannya dengan menggunakan 6 lapang pandang, serabut kolagen yang dihitung tampak terlihat berwarna biru. Setelah dihitung pada enam lapangan pandang setiap slide, kemudian dijumlahkan dan dirata-ratakan untuk mendapatkan hasil pada setiap pengamatan, baik itu dari sampel hari ke-9, ke-18, dan hari saat luka sembuh sempurna.

i. Penetapan kadar hidroksiprolin

Penetapan kadar hidroksiprolin menggunakan HPLC sesuai dengan yang dilakukan oleh Nagar *et al.* (2016), Murthy *et al.* (2013) dan Agyare *et al.* (2018) dengan sedikit modifikasi. Jaringan kulit bekas luka dikeringkan terlebih dahulu dalam oven suhu 50⁰ C selama 48 jam atau sampai beratnya konstan. Setelah itu jaringan kering ditimbang dan diambil masing-masing sampel sekitar 40 mg. Jaringan kering dihidrolisis dalam 1 mL HCl 6 N selama 2 x 12 jam pada suhu 100⁰C dalam penangas air mendidih dengan kondisi penangas terbuka dan tabung sampel tertutup untuk menghindari kontaminasi dari uap air, kemudian hidrolisat dibiarkan dingin.

Untuk penetapan kadar hidroksiprolin, dipipet 0,5 mL hidrosilat pada tabung sentrifugasi lalu ditambahkan 0,5 mL larutan asam trikloroasetat (TCA 10%) kemudian dilakukan homogenisasi dengan vortex selama 2 menit dan dilakukan sentrifugasi 4000 rpm selama 7 menit. Supernatan dipipet lalu dimasukkan dalam cup sampel untuk ditentukan kadar hidroksiprolinnya menggunakan HPLC (Gambar Lampiran 5).

j. Secara keseluruhan alur kerja penelitian disajikan pada Gambar 7.



Gambar 7. Alur uji efek luka diabetik ikan bujuk

D. Analisis Data

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RAL-F). Analisis data menggunakan uji ANOVA dengan bantuan program SPSS 24. Jika ada perbedaan yang bermakna (signifikan) maka dilanjutkan dengan uji *Tukey HSD* (Uji beda nyata antar perlakuan).



BAB III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Kandungan ekstrak ikan bujuk

Ikan bujuk (*Channa lucius*) adalah jenis ikan karnivora yang hidup tersebar luas di wilayah Indonesia, ikan bujuk merupakan ikan dari suku *Channidae*, karena itu berkerabat dekat dengan ikan gabus dan ikan toman. Ikan ini sering disebut sebagai ikan kepala ular (*snakehead*) karena bentuk kepalanya lebar dan bersisik besar, mulutnya bersudut tajam, sirip punggung dan sirip dubur panjang dan tingginya hampir sama. Ikan bujuk seperti marga *Channa* spesies lainnya mampu menghirup oksigen dari atmosfer karena pada bagian insang terdapat alat pernapasan tambahan (Azrita1 *et al.*, 2013).

Ekstrak ikan bujuk mengandung senyawa-senyawa yang penting bagi proses sintesis jaringan dan penyembuhan luka, seperti protein, albumin, mineral Zn, karbohidrat dan lemak. Berdasarkan hasil pemeriksaan komposisi gizi yang telah dilakukan pada ekstrak kering menunjukkan bahwa ekstrak ikan bujuk memiliki kandungan protein dan albumin yang tinggi yaitu 74,28% dan 26,20% (Tabel 2).

Tabel 2. Komposisi gizi ekstrak kering daging ikan bujuk

Zat gizi	Kadar
Albumin	26,20%
Protein Total	74,28%
Karbohidrat	4,30%
Lemak	5,73%
Seng (Zn)	6,69 mg/kg

Hasil pemeriksaan komposisi gizi ekstrak kering daging ikan bujuk tersebut agak berbeda hasilnya dengan yang telah dilaporkan sebelumnya oleh Istiqomah (2019) yaitu terlihat dari kandungan protein yang lebih tinggi sebesar 74,28% dan kandungan Zn yaitu 6,69 mg/kg, sedangkan hasil yang dilaporkan Istiqomah (2019) kandungan protein dan Zn nya sedikit lebih rendah yaitu 73,16% dan 4,4 mg/kg. Namun kadar albumin ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini jauh lebih rendah dari pada yang digunakan oleh Istiqomah (2019) yaitu sebesar 33,3%. Dilihat dari kandungan karbohidrat dan kadar

lemak yang dilaporkan Istiqomah (2019) memiliki hasil yang jauh lebih rendah yaitu kadar karbohidrat 1,76%, kadar lemak 1,77%, sedangkan hasil pemeriksaan saat ini sebesar 4,30% karbohidrat dan 5,73% untuk kadar lemaknya, meskipun pengambilan dilakukan pada tempat yang sama yaitu berasal dari Jambi, tetapi pada waktu yang berbeda. Ikan bujuk yang digunakan pada penelitian kali ini diambil pada bulan April 2019, sedangkan ikan bujuk yang digunakan oleh Istiqomah (2019) diambil pada sekitar bulan November 2018 – Januari 2019.

Kandungan gizi ekstrak kering ikan bujuk hasil pemeriksaan saat ini juga berbeda dengan yang dilaporkan oleh Firlianty *et al.* (2013), yaitu kadar protein 3,6 mg/dl dan albumin 2,0 mg/dl. Firlianty *et al.* (2013) menggunakan ekstrak daging ikan bujuk yang belum di *freezedry*, sehingga kadar albumin dan proteinnya jauh lebih rendah. Firlianty *et al.* (2013) menggunakan ikan bujuk yang berasal dari Kalimantan Tengah, sedangkan ikan bujuk dalam penelitian ini berasal dari Jambi. Menurut Azrita *et al.* (2012), perbedaan habitat, ketersediaan jumlah makanan pada habitat dan kebiasaan makan dari ikan bujuk dapat menjadi penyebab terjadinya perbedaan kandungan gizi ikan bujuk dari berbagai daerah. Menurut Syafrialdi *et al.* (2017) perbedaan musim juga dapat menyebabkan perbedaan komposisi kandungan gizi dari ikan diperairan air tawar.

Kandungan komposisi gizi yang terdapat pada ikan bujuk seperti protein, karbohidrat, Zn, lemak dan albumin memiliki peranan penting dalam penyembuhan luka. Protein sangat penting dalam proses penyembuhan luka karena berfungsi dalam pembentukan sel baru sehingga dapat mempercepat pembentukan sel tubuh yang rusak. Protein mempunyai fungsi khas yang tidak dapat digantikan oleh zat gizi lain yaitu membangun serta memelihara sel-sel dan jaringan tubuh. Setiap sel di dalam tubuh mengandung protein, baik sebagai bagian dari membran sel maupun dalam sitoplasma. Protein merupakan zat penting untuk struktur dan fungsi tubuh serta penting untuk sintesis dan pembelahan sel yang sangat vital untuk penyembuhan luka.

Albumin merupakan sumber antioksidan hewani yang berfungsi sebagai pengikat radikal bebas sehingga berperan dalam proses pembersihan dan penangkapan ROS. Albumin memiliki beberapa fungsi dalam penyembuhan luka diantaranya adalah pada fase inflamasi tahapan penyembuhan luka, yakni albumin yang menjaga tekanan osmotik antara cairan di dalam sel dengan cairan di luar sel. Albumin berfungsi menjaga

keberadaan air dalam plasma darah sehingga dapat mempertahankan volume darah dalam tubuh dan menjaga agar cairan dari luar sel tidak masuk ke dalam sel dan menyebabkan sel mengalami edema. Fungsi selanjutnya adalah pada tahapan proliferasi sebagai sarana pengangkut atau transportasi nutrisi serta oksigen yang dibutuhkan tubuh antara lain untuk pembentukan jaringan baru. Selanjutnya, pada tahapan maturasi albumin bermanfaat sebagai bahan dasar dalam pembentukan jaringan tubuh yang baru yaitu melalui proses katabolik tubuh yang memecah albumin menjadi asam amino untuk kemudian digunakan dalam pembentukan jaringan yang baru (Merlot *et al.*, 2014).

Dalam penyembuhan luka seng memiliki peranan penting multifaktor, antara lain diperlukan untuk sintesis kolagen, proliferasi sel dan kekebalan tubuh, yang semuanya penting untuk regenerasi dan perbaikan jaringan yang luka. Semua sel yang sedang berproliferasi, termasuk sel epitel dan fibroblas membutuhkan seng. Meningkatnya konsentrasi seng dapat mempercepat reaksi molekuler yang dilakukan oleh sistem enzim yang terlibat dalam perbaikan luka. Seng membantu berbagai jenis enzim untuk melaksanakan fungsinya, pengaruh enzim yang terlibat dalam penyembuhan luka terutama produksi kolagen. Penurunan kadar seng dapat menghambat epitelisasi dan proliferasi fibroblas serta meningkatkan kerentanan terhadap infeksi (Lin *et al.*, 2018).

Ekstrak ikan bujuk juga mengandung karbohidrat yang dapat membantu untuk memenuhi kebutuhan energi tubuh yang tinggi, yang dapat membantu pergerakan fibroblas dan meningkatkan aktivitas sel darah putih untuk memperkuat respon imun tubuh. Proses penyembuhan luka membutuhkan energi yang besar untuk perbaikan sel dan jaringan (Said *et al.*, 2013). Dengan demikian komposisi kandungan yang terdapat pada ikan bujuk satu sama lain saling memiliki keterkaitan yang sangat penting dalam proses penyembuhan luka.

B. Efek Suplementasi Ekstrak Ikan Bujuk Terhadap Sintesis Kolagen Jaringan Luka

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak ikan bujuk terhadap sintesis kolagen jaringan luka dilakukan pengamatan secara mikroskopis dengan melihat dan menghitung kerapatan serabut kolagen yang terbentuk serta menentukan kadar

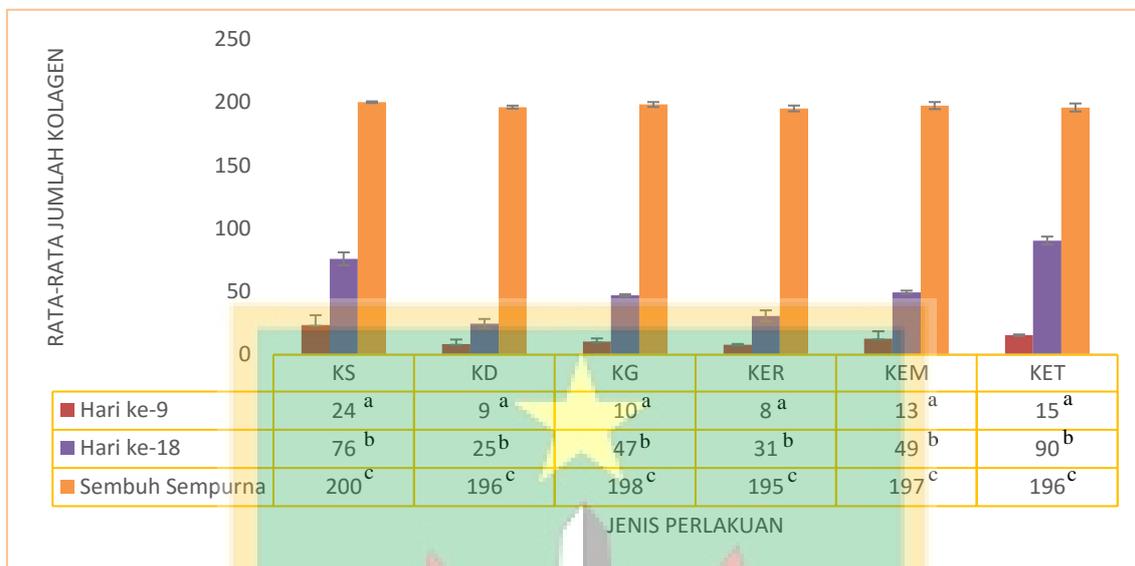
hidroksiprolin jaringan luka. Hidroksiprolin dibentuk pada saat fase proliferaatif penyembuhan luka sebagai bahan dasar dari kolagen.

1. Kerapatan Serabut Kolagen

Kecepatan sintesis kolagen jaringan luka diamati secara mikroskopis dengan melihat kerapatan serabut kolagen yang terbentuk. Hasil pengamatan kerapatan serabut kolagen disajikan pada Gambar 8-12. Untuk mendapatkan data kuantitatif kerapatan serabut kolagen dilakukan penghitungan dalam 6 lapangan pandang, kemudian dijumlah dan dirata-ratakan untuk mendapatkan hasil pada setiap pengamatan, baik itu dari sampel hari ke-9, ke-18 dan hari saat luka sembuh sempurna (Tabel Lampiran 1). Pada hari ke-1 setelah perlukaan tidak dilakukan penilaian kepadatan serabut kolagen karena pada area perlukaan belum terbentuk kolagen baru, hanya terdapat kolagen lama yang mampu mengaktivasi platelet untuk menginisiasi penyembuhan luka.

Pada Gambar 8 tampak bahwa dari semua kelompok tikus perlakuan yang sedang dalam proses penyembuhan luka, rata-rata jumlah serabut kolagennya makin lama makin meningkat. Ini sejalan dengan proses penyembuhan luka yang terjadi. Pada fase awal penyembuhan luka jumlah serabut kolagen masih sedikit, makin lama makin bertambah, dan pada saat luka sudah sembuh sempurna, jumlah serabut kolagen pada jaringan luka semua kelompok tikus percobaan sudah mencapai maksimal sehingga sama banyaknya.

Pengaruh pemberian ekstrak daging ikan bujuk terhadap jumlah serabut kolagen jaringan luka pada hari tertentu (pengamatan dilakukan pada hari ke-9, ke-18, dan pada saat luka sembuh sempurna) dapat dilihat pada Gambar 9-12. Pada Gambar 9 disajikan perbedaan jumlah serabut kolagen pada jaringan luka tikus percobaan, baik yang diberi ekstrak ikan bujuk, glibenklamid dan kontrol sehat, dengan luka diabetik tikus yang tidak diberi pengobatan. Gambar 10, 11 dan 12 menunjukkan perbedaan jumlah serabut kolagen jaringan luka pada hari ke-9, ke-18 dan pada saat luka sudah sembuh sempurna (Tabel Lampiran 2).



Gambar 8. Rata-rata jumlah serabut kolagen jaringan luka

Keterangan: Huruf yang berbeda ^{a,b,c,d} dan menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara satu sama lain. Huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) antara satu sama lain. Mean dihitung berdasarkan Mean \pm SD.

KS (Kelompok tikus sehat non-diabetik)

KD (Kelompok tikus diabetik)

KG (Kelompok tikus diabetik, diberi Glibenklamid 5 mg/kg/BB)

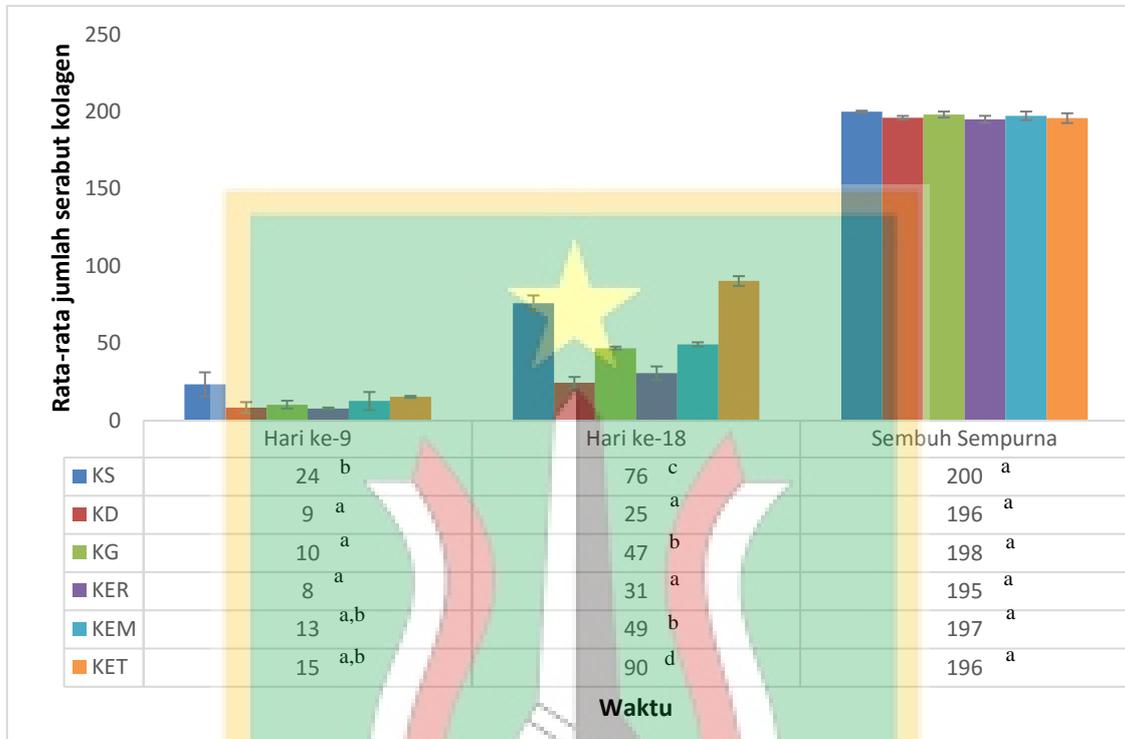
KER (Kelompok tikus diabetik, diberi ekstrak dosis 1,25 g/kg/BB)

KEM (Kelompok tikus diabetik, diberi ekstrak dosis 2,5 g/kg/BB)

KET (Kelompok tikus diabetik, diberi ekstrak dosis 5 g/kg/BB)

Pada gambar 9 dan 10 tampak bahwa hari ke-9 kelompok tikus sehat (KS) memiliki jumlah serabut kolagen yang paling banyak dibandingkan dengan kelompok tikus diabetik lain, baik yang diberi glibenklamid maupun yang diberi ekstrak ikan bujuk dosis 1,25 g/kg/BB (KER), 2,5 g/kg/BB (KEM), dan 5 g/kg/BB (KET). Dari hasil pengamatan ini tampak jelas bahwa kondisi diabetik menyebabkan terganggunya sintesis kolagen, sehingga jumlah serabut kolagen pada luka semua tikus diabetik jauh lebih rendah dibandingkan dengan tikus sehat. Jumlah serabut kolagen kelompok tikus diabetik yang diberi glibenklamid (KG) dan yang diberi ekstrak ikan bujuk (KER, KEM, dan KET) tidak berbeda bermakna dengan kelompok tikus diabetik yang tidak diberi pengobatan apapun. Namun demikian, jumlah serabut kolagen kelompok tikus yang diberi ekstrak ikan bujuk dosis 2,5 g/kg/BB (KEM) dan 5 g/kg/BB (KET) sudah tidak berbeda bermakna dengan tikus sehat (KS). Sehingga dapat disimpulkan bahwa pada hari ke-9 sudah ada

pengaruh pemberian ekstrak daging ikan bujuk terhadap jumlah serabut kolagen jaringan luka, terutama dosis 2,5-5 g/kg/BB (Tabel Lampiran 3).



Gambar 9. Rata-rata jumlah serabut kolagen jaringan luka pada hari ke-9, ke-18, dan pada saat luka sudah sembuh sempurna

Keterangan: Huruf yang berbeda ^{a,b,c,d} dan menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara satu sama lain. Huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) antara satu sama lain. Mean dihitung berdasarkan Mean \pm SD.

KS (Kelompok tikus sehat non-diabetik).

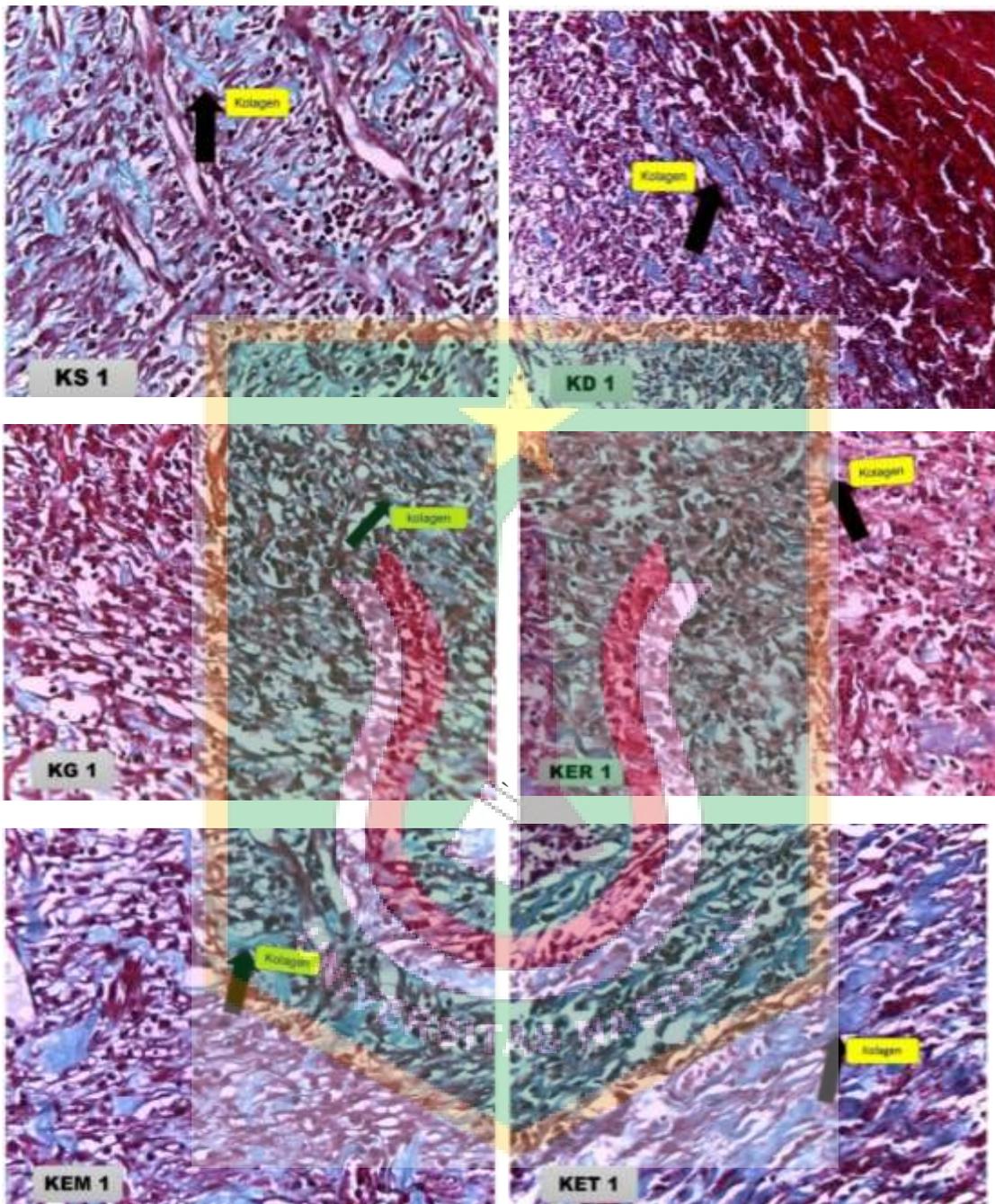
KD (Kelompok tikus diabetik)

KG (Kelompok tikus diabetik, diberi Glibenklamid 5 mg/kg/BB)

KER (Kelompok tikus diabetik, diberi ekstrak dosis 1,25 g/kg/BB)

KEM (Kelompok tikus diabetik, diberi ekstrak dosis 2,5 g/kg/BB)

KET (Kelompok tikus diabetik, diberi ekstrak dosis 5 g/kg/BB)



Gambar 10. Gambaran mikroskopis serabut kolagen jaringan luka pada hari ke-9 masa penyembuhan luka. Tanda panah hitam menunjukkan serabut kolagen (warna biru) (Perbesaran 400x)

KS (Kelompok tikus sehat non-diabetik)

KD (Kelompok tikus diabetik)

KG (Kelompok tikus diabetik, diberi Glibenklamid)

KER (Kelompok tikus diabetik, diberi ekstrak dosis 1,25 g/kg/BB)

KEM (Kelompok tikus diabetik, diberi ekstrak dosis 2,5 g/kg/BB)

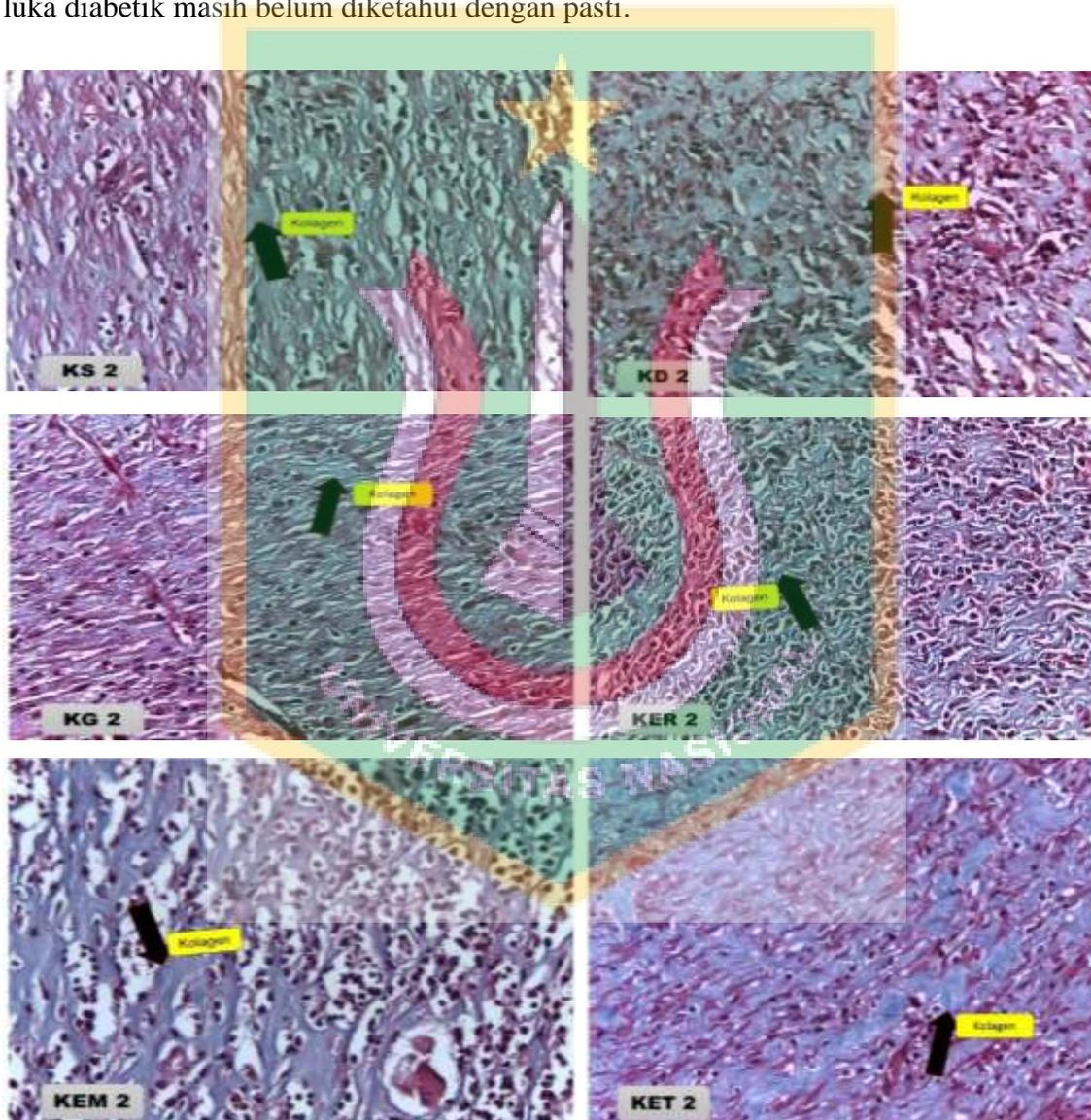
KET (Kelompok tikus diabetik, diberi ekstrak dosis 5 g/kg/BB)

Menurut Suhartono dan Sularsih (2018) pada hari ke-9 sebetulnya sudah mulai terjadi proliferasi fibroblas yang mampu mensintesis kolagen sebagai komponen matriks ekstraseluler. Pada hari ke-9 sel-sel inflamasi dan eritrosit masih tersebar di sekitar area perlukaan. Hal ini dikarenakan pada hari ke-9 terjadi *overlapping* antara fase inflamasi dan fase proliferasi penyembuhan luka. Pada hari ke-9 setelah perlukaan mulai terjadi migrasi dan proliferasi fibroblas yang berperan dalam sintesis kolagen ke area luka sehingga pada hari ke-9 umumnya serabut kolagen mulai tampak pada area luka. Itu sebabnya pada pengamatan hari ke-9 dalam penelitian ini, serabut kolagen sudah mulai ada tetapi jumlahnya masih sedikit.

Menurut Fajriansyah (2016) fase proliferasi umumnya berlangsung pada hari ke 3-14 setelah luka. Pada fase ini terjadi pembentukan fibroblas. Fibroblas yang terbentuk akan bergerak menuju daerah luka dan akan memproduksi matriks kolagen dalam jumlah besar sehingga luka terisi fibroblas dan luka menutup.

Pada hari ke-18 masa penyembuhan luka tampak serabut kolagen jaringan luka sudah meningkat dibandingkan hari ke-9 dan mulai ada perbedaan jumlah serabut kolagen rata-rata antar kelompok (Gambar 9 dan 11). Jumlah rata-rata serabut kolagen paling banyak tampak pada kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak dosis 5 g/kg/BB (KET). Jumlah rata-rata serabut kolagen pada kelompok KET bahkan lebih tinggi secara bermakna dibandingkan dengan tikus sehat non-diabetik (KS). Kelompok tikus yang jumlah rata-rata serabut kolagennya paling rendah adalah kelompok tikus diabetik yang tidak diberi pengobatan apa pun (KD). Hal ini menunjukkan bahwa kondisi diabetik nyata memperlambat sintesis kolagen jaringan luka. Nampaknya pemberian ekstrak dosis 1,25 g/kg/BB (KER) belum memberikan pengaruh terhadap peningkatan sintesis kolagen, jumlah rata-rata serabut kolagen pada kelompok ini tidak berbeda bermakna dengan kelompok tikus diabetik yang tidak diberi pengobatan apa pun (KD). Pemberian ekstrak dosis 2,5 g/kg/BB (KEM) memberikan pengaruh yang kurang lebih sama dengan pemberian glibenklamid 5 mg/kg/BB (KG) (Tabel Lampiran 3). Kedua kelompok tikus ini jumlah serabut kolagennya pada hari ke-18 tidak berbeda bermakna. Pada kelompok tikus diabetik yang diberi glibenklamid, kemungkinan meningkatnya sintesis kolagen ada hubungannya dengan makin rendahnya kondisi hiperglikemia, karena glibenklamid adalah obat standar diabetik yang bekerja menurunkan kadar glukosa darah. Beberapa

hasil penelitian membuktikan bahwa kondisi hiperglikemia dapat menyebabkan penghambatan sintesis kolagen pada jaringan luka. Dari hasil penelitian ini tampak bahwa pemberian ekstrak ikan bujuk dosis 2,5 dan 5 g/kg/BB memberikan pengaruh peningkatan sintesis kolagen yang bermakna. Makin besar dosis ekstrak yang diberikan, makin besar pula efeknya terhadap peningkatan sintesis kolagen jaringan luka. Namun demikian, bagaimana ekstrak daging ikan bujuk dapat meningkatkan sintesis kolagen pada jaringan luka diabetik masih belum diketahui dengan pasti.

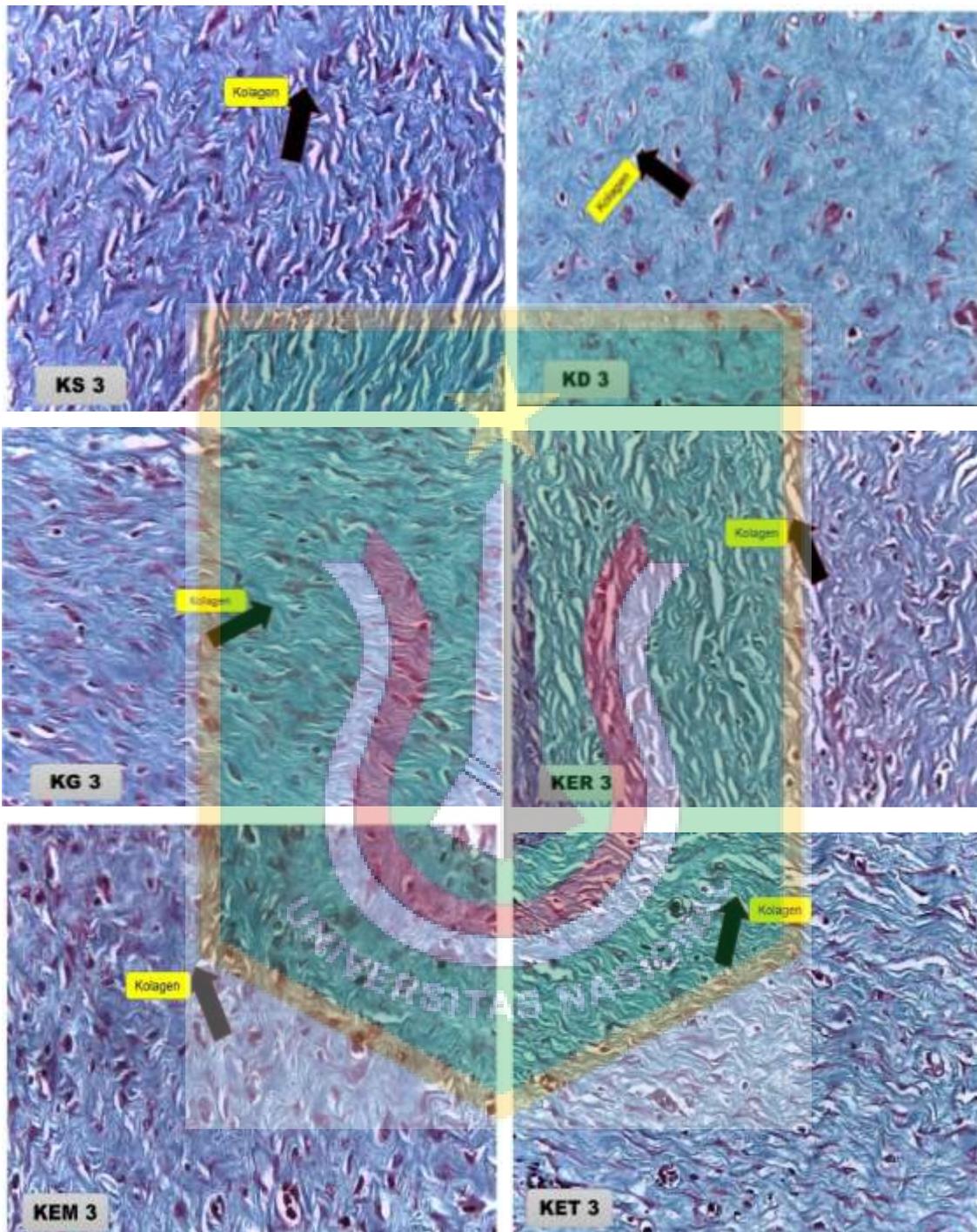


Gambar 11. Gambaran mikroskopis serabut kolagen jaringan luka pada hari ke-18 masa penyembuhan. Tanda panah hitam menunjukkan serabut kolagen (warna biru) (Perbesaran 400x)

Keterangan: sama dengan Gambar 10

Pada hari luka sembuh sempurna tampak rata-rata jumlah serabut kolagen pada semua kelompok tikus percobaan tidak berbeda bermakna bahkan sangat berdekatan jumlahnya (Gambar 9, Gambar 12 dan Tabel Lampiran 3). Pada saat ini semua luka sudah sembuh sempurna, dan pengambilan sampel dilakukan pada hari yang berbeda. Tikus kelompok sehat lukanya sembuh sempurna pada hari ke-21, tikus yang diberi ekstrak dosis 1,25 g/kg/BB (KER) lukanya sembuh sempurna pada hari ke-27, kelompok tikus yang diberi ekstrak 2,5 g/kg/BB (KEM) dan kelompok tikus yang diberi ekstrak 5 g/kg/BB (KET) sembuh sempurna pada hari ke-21. Pada kelompok tikus yang menderita diabetik dan diberi glibenklamid (KG) luka sembuh sempurna pada hari ke-24, namun pada kelompok diabetik yang tidak diberi pengobatan apa pun (KD) penyembuhan luka berlangsung paling lambat yaitu sembuh sempurna pada hari ke-33.

Dari hasil penelitian ini terbukti bahwa pemberian ekstrak daging ikan bujuk dapat mempercepat sintesis kolagen pada jaringan luka. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Rahmawati (2019) yang mengungkapkan bahwa pemberian ekstrak daging ikan bujuk dapat memperbaiki proses penyembuhan luka pada tikus diabetik, dan makin besar dosis yang diberikan, penyembuhan luka makin baik. Pada tikus yang diberi ekstrak dosis 1,25 g/kg/BB (KER) pada hari ke-9 luka sudah nampak mengering dan luas luka sudah banyak berkurang. Pada tikus yang diberi ekstrak dosis 2,5 g/kg/BB (KEM) dan dosis 5 g/kg/BB (KET) pada hari ke-9 luka sudah mengering dan luas luka sudah banyak berkurang lebih banyak dari pada yang diberi ekstrak dosis 1,25 g/kg/BB (KER). Pada hari ke-18 luas luka pada tikus yang diberi ekstrak ikan bujuk, baik dosis 1,25 g/kg/BB (KER), 2,5 g/kg/BB (KEM) maupun 5 g/kg/BB (KET) sudah sangat kecil. Luka sembuh sempurna pada tikus yang diberi ekstrak dosis 1,25 g/kg/BB (KER), 2,5 g/kg/BB (KEM), dan 5 g/kg/BB (KET) berturut-turut pada hari ke-27, 21 dan 21. Pada tikus diabetik (KD) yang tidak diberi ekstrak ataupun glibenklamid, penyembuhan luka berlangsung paling lambat. Pada hari ke-3 luka tampak masih basah, pada hari ke-9 luka sudah mulai mengering tetapi luas luka masih cukup besar. Pada hari ke-18, luas luka mulai berkurang dan baru sembuh sempurna pada hari ke-33. Pada tikus yang menderita luka diabetik dan diberi glibenklamid (KG) penyembuhan luka jauh lebih baik dari pada tikus diabetik yang tidak diberi pengobatan (KD).



Gambar 12. Gambaran mikroskopis serabut kolagen jaringan luka pada hari semua luka sudah sembuh sempurna. Tanda panah hitam menunjukkan serabut kolagen (warna biru) (Perbesaran 400x)

Keterangan: sama dengan Gambar 8

Proses penyembuhan luka secara umum dibagi atas beberapa fase yang masing-masing saling terkait, mulai dari fase inflamasi, proliferasi sampai fase maturasi. Pada fase proliferasi terjadi angiogenesis, deposisi jaringan kolagen, pembentukan jaringan granulasi, dan migrasi sel epitel. Fase remodeling ditandai dengan terdapat remodeling jaringan dan kolagen, maturasi epidermis, dan pengerutan luka (Gonzalez *et al.*, 2016). Menurut Novriansyah (2008) fase inflamasi terjadi pada hari 0-5 dan fase proliferasi terjadi pada hari ke 3-14. Bila tidak ada kontaminasi atau infeksi yang bermakna, fase inflamasi akan berlangsung pendek. Meningkatnya jumlah fibroblas pada daerah luka merupakan kombinasi dari proses proliferasi fibroblas dan migrasi fibroblas ke daerah luka. Fibroblas memproduksi kolagen dalam jumlah yang besar yang merupakan unsur utama matriks luka ekstraseluler yang sangat penting untuk membentuk kekuatan pada jaringan parut. Kolagen pertama kali terdeteksi umumnya pada hari ke-3 setelah luka dan akan tampak nyata jumlahnya di hari ke-7 setelah luka, mulai stabil dan terorganisir sekitar hari ke-14, dan meningkat terus jumlahnya sampai minggu ke-3. Pada fase *remodeling* serabut kolagen membentuk serabut-serabut kolagen lebih besar. Remodeling kolagen selama pembentukan jaringan parut tergantung pada proses sintesis dan katabolisme kolagen yang berkesinambungan. Degradasi kolagen pada luka dikendalikan oleh enzim kolagenase. Kecepatan sintesis kolagen yang tinggi mengembalikan luka ke jaringan normal dalam waktu 6 bulan sampai 1 tahun.

Serabut kolagen dapat dibedakan dengan matriks ekstraselular lainnya secara lebih spesifik dengan menggunakan teknik pewarnaan khusus yaitu dengan pewarnaan *Masson's Trichome*. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 10-12, serabut kolagen tampak berwarna biru. Jumlah serabut kolagen pada hari ke-18 masa penyembuhan luka tampak sangat jauh meningkat dibandingkan dengan hari ke-9. Jumlah serabut makin meningkat terus dan pada saat luka sudah sembuh sempurna jumlah serabut kolagen sudah sangat banyak. Peningkatan jumlah serabut kolagen ini seiring dengan proses penyembuhan luka yang terjadi, sehingga semakin cepat terbentuknya serabut kolagen maka penyembuhan lukanya semakin cepat pula.

Terhambatnya penyembuhan luka pada penderita DM melibatkan berbagai mekanisme seperti peningkatan ROS yang menyebabkan stres oksidatif, disfungsi keratinosit dan fibroblas, penurunan angiogenesis, menurunnya imunitas tubuh dan

neuropati. Kondisi hiperglikemia menyebabkan terbentuknya *advance glycation end-product* (AGE) yang dapat meningkatkan stres oksidatif sehingga produksi ROS pada jaringan melebihi kapasitas antioksidan. Oksigen reaktif tersebut akan menghambat migrasi dan proliferasi sel sehingga fase inflamasi akan sulit untuk dilanjutkan ke fase proliferasi. Disfungsi keratinosit menyebabkan gangguan proses epitelisasi sedangkan disfungsi fibroblas menyebabkan gangguan pada produksi matriks ekstraseluler dan kontraksi luka. Menurunnya imunitas tubuh yang disebabkan oleh hiperglikemia menghambat sifat kemotaksis dan fagositosis dari neutrofil dan makrofag sehingga rentan terjadi infeksi yang akan mempengaruhi fase inflamasi (Okonkwo and DiPietro, 2017).

Walaupun proses penyembuhan luka merupakan proses yang natural dan secara alamiah, namun untuk mempercepat proses penyembuhan luka diperlukan kondisi tertentu yang mendukung keberlangsungan proses penyembuhan luka, salah satunya adalah nutrisi. Proses penyembuhan luka dipengaruhi oleh zat-zat yang terkandung dalam bahan yang diberikan, terutama zat aktif yang mempunyai kemampuan untuk mempercepat penyembuhan luka dengan merangsang pertumbuhan sel-sel baru pada kulit. Gizi yang baik akan mendukung penyembuhan, serta menghambat dan mencegah komplikasi. Selama proses penyembuhan luka dibutuhkan asupan nutrisi yang cukup seperti protein, lemak, karbohidrat, dan mikronutrien. Pengaruh kecukupan gizi terhadap penyembuhan luka telah dibuktikan oleh beberapa peneliti sebelumnya (Gurnida and Lilisari, 2011; Hartining, 2010; Said *et al.*, 2013; Wild *et al.*, 2010).

Ekstrak ikan bujuk telah terbukti mengandung zat-zat nutrisi yang cukup, antara lain protein, karbohidrat dan lipid. Zat-zat nutrisi ini diperkirakan ikut berperan dalam mempercepat proses penyembuhan luka diabetik tikus perobaan. Di samping itu, ekstrak ikan bujuk juga mengandung albumin dalam jumlah yang cukup tinggi. Albumin adalah antioksidan hewani yang berfungsi sebagai pengikat radikal bebas sehingga berperan dalam proses pembersihan dan penangkapan ROS. Albumin juga berperan dalam menjaga tekanan osmotik antara cairan di dalam sel dengan cairan di luar sel. Albumin juga merupakan protein pengangkut berbagai zat nutrisi dan zat-zat aktif medisinal di dalam darah, sekaligus sebagai sumber asam amino dalam proses pembentukan jaringan baru. Di samping albumin, ekstrak ikan bujuk juga mengandung Zn dalam jumlah cukup banyak. Zn diketahui merupakan koenzim yang penting dalam berbagai proses biologis,

antara lain diperlukan untuk sintesis kolagen, proliferasi sel dan proses pembentukan kekebalan tubuh, yang semuanya penting untuk regenerasi dan perbaikan jaringan yang luka. Dalam penelitian ini telah terbukti bahwa pemberian ekstrak ikan bujuk dapat meningkatkan sintesis kolagen jaringan luka. Namun demikian, mekanisme rinci dari efek tersebut masih harus diteliti secara lebih mendalam.

2. Efek suplementasi ekstrak ikan bujuk terhadap kadar hidroksiprolin jaringan luka

Pengaruh pemberian ekstrak daging ikan bujuk terhadap kadar hidroksiprolin jaringan luka pada hari ke-9, ke-18 dan pada saat luka sembuh sempurna dapat dilihat pada Gambar 13 dan 14. Pada Gambar 13 tampak bahwa kadar hidroksiprolin pada jaringan luka semua kelompok tikus secara umum makin lama makin meningkat (Tabel Lampiran 4). Kadar hidroksiprolin pada hari ke-9, ke-18 dan pada saat luka sembuh sempurna cenderung naik, namun perbedaan ini secara statistik (Tabel Lampiran 5 dan 6) tidak bermakna ($P>0,05$). Hidroksiprolin merupakan asam amino utama yang terdapat dalam kolagen. Dalam penelitian ini diharapkan kadar hidroksiprolin sejalan dengan jumlah serabut kolagen. Dari Gambar 13 tampak ada kecenderungan kesamaan pola perubahan kadar hidroksiprolin dengan jumlah serabut kolagen (Gambar 8). Namun, besarnya variasi hasil pengukuran kadar hidroksiprolin dalam satu kelompok tikus percobaan menyebabkan perbedaan yang ada secara statistik tidak bermakna.

Pengaruh pemberian ekstrak daging ikan bujuk terhadap kadar hidroksiprolin jaringan luka dapat dilihat pada gambar 14. Dari gambar ini tampak bahwa pemberian ekstrak daging ikan bujuk cenderung meningkatkan kadar hidroksiprolin pada jaringan luka, namun karena besarnya variasi hasil pengukuran kadar hidroksiprolin dalam satu kelompok tikus percobaan menyebabkan perbedaan yang ada secara statistik tidak bermakna.

Hidroksiprolin adalah asam amino utama yang terdapat dalam kolagen dan menyusun 13,2% dari protein tersebut. Hidroksiprolin merupakan asam amino hasil dari modifikasi asam amino prolin yang dikatalisis oleh enzim prolil-4-hidroksilase pada saat proses pasca-translasi protein. Hidroksiprolin dibentuk pada saat fase proliferasi penyembuhan luka sebagai bahan dasar dari kolagen (Albaugh *et al.*, 2017). Diharapkan,

kadar hidroksiprolin akan berkorelasi atau sejalan dengan jumlah serabut kolagen pada jaringan luka. Namun dalam penelitian ini, walaupun tampak ada kecenderungan kesamaan pola perubahan kadar hidroksiprolin dengan jumlah serabut kolagen, namun berbeda dengan jumlah serabut kolagen yang secara signifikan menunjukkan peningkatan dengan adanya suplementasi ekstrak ikan bujuk, kadar hidroksiprolin, walaupun cenderung meningkat dengan adanya suplementasi ekstrak ikan bujuk, namun secara statistik tidak bermakna. Hal ini mungkin disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain karena metode analisis yang digunakan tidak hanya mengukur jumlah hidroksiprolin yang terikat dalam kolagen, tetapi juga mengukur semua asam amino hidroksiprolin bebas dan yang terikat pada protein lain.



Gambar 13. Rata-rata kadar hidroksiprolin jaringan luka tikus percobaan

Keterangan: Huruf yang berbeda ^{a,b,c,d} dan menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara satu sama lain. Huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) antara satu sama lain. Mean dihitung berdasarkan nilai Mean \pm S.E.M.

KS (Kelompok tikus sehat non-diabetik)

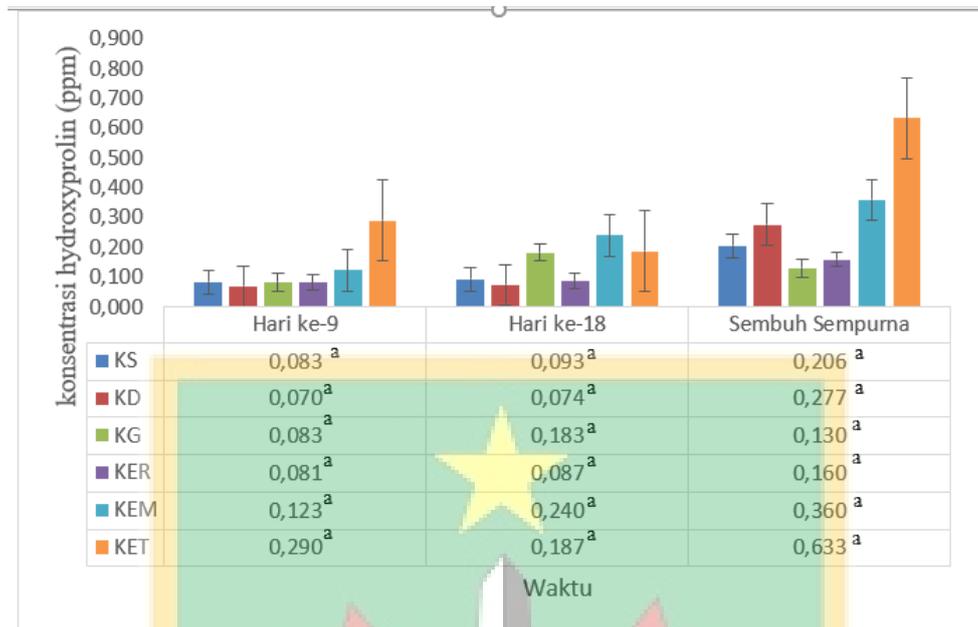
KD (Kelompok tikus diabetik)

KG (Kelompok tikus diabetik, diberi Glibenklamid 5 mg/kg/BB)

KER (Kelompok tikus diabetik, diberi ekstrak dosis 1,25 g/kg/BB)

KEM (Kelompok tikus diabetik, diberi ekstrak dosis 2,5 g/kg/BB)

KET (Kelompok tikus diabetik, diberi ekstrak dosis 5 g/kg/BB)



Gambar 14. Rata-rata kadar hidroksiprolin jaringan luka pada hari ke-9, ke-18, dan pada saat luka sudah sembuh sempurna.

Keterangan: Huruf yang berbeda ^{a,b,c,d} dan menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara satu sama lain. Huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) antara satu sama lain. Mean dihitung berdasarkan nilai Mean \pm S.E.M.

KS (Kelompok tikus sehat non-diabetik)

KD (Kelompok tikus diabetik)

KG (Kelompok tikus diabetik, diberi Glibenklamid 5 mg/kg/BB)

KER (Kelompok tikus diabetik, diberi ekstrak dosis 1,25 g/kg/BB)

KEM (Kelompok tikus diabetik, diberi ekstrak dosis 2,5 g/kg/BB)

KET (Kelompok tikus diabetik, diberi ekstrak dosis 5 g/kg/BB)

Melihat besarnya variasi hasil pengukuran kadar hidroksiprolin dalam satu kelompok tikus percobaan diperkirakan teknik analisis yang digunakan juga berkontribusi terhadap hal ini, di samping kemungkinan kesalahan yang bersumber dari “*human error*”. Ini merupakan kelemahan dari penelitian ini. Preparasi jaringan yang melalui tahap-tahap pengerjaan yang cukup panjang, sangat mungkin menyebabkan kesalahan yang berakibat pada inkonsistensi kadar hidroksiprolin yang diukur. Di samping itu jumlah jaringan kulit yang sangat sedikit menyebabkan tidak luasnya pengulangan penetapan kadar dilakukan. Namun dengan segala keterbatasan tersebut, kadar hidroksiprolin yang diperoleh masih dapat menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan kadar hidroksiprolin jaringan luka yang sejalan dengan peningkatan jumlah serabut kolagen.

BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak daging ikan bujuk (*Channa lucius*) memiliki kandungan zat-zat yang diperlukan untuk mempercepat proses penyembuhan luka diabetik yaitu protein total (74,28%), albumin (26,20%), karbohidrat (4,30%), lemak (5,73%) dan Zn (6,69 mg/kg).
2. Pemberian ekstrak ikan bujuk dapat mempercepat sintesis kolagen pada jaringan luka tikus diabetik yang ditunjukkan dengan makin besarnya jumlah serabut kolagen dan cenderung meningkatnya kadar hidroksiprolin pada jaringan luka kelompok tikus yang diberi ekstrak daging ikan bujuk.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan mengamati jaringan luka secara mikroskopis untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daging ikan bujuk terhadap angiogenesis, makrofag dan faktor-faktor lain yang mempengaruhi penyembuhan luka.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menganalisis secara biokimia untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daging ikan bujuk terhadap kadar senyawa-senyawa yang mempengaruhi proses penyembuhan luka (kadar interleukin-1 β , IL-6 dan lain-lain).



DAFTAR PUSTAKA

- Afrianti R, Nofiandi D, Dira D, *et al.* 2016. Pengujian Efektivitas Penyembuhan Luka Mencit Diabetes Melitus Yang Diberikan Sediaan Krim Ekstrak Etanol Daun Bandotan. *Scientia: Jurnal Farmasi dan Kesehatan* 6: 50-58
- Agyare CA, Boakye YD, Ayande GP, *et al.* 2018. Assessment of wound healing properties of medicinal plants: The case of *Phyllanthus muellerianus*. *Frontiers in pharmacology* 9: 945-947
- Albaugh VL, Mukherjee K dan Barbul A. 2017. Proline Precursors and Collagen Synthesis: Biochemical Challenges of Nutrient Supplementation and Wound Healing. *J Nutr* 147: 201-207
- Andrie M dan Dies S. 2017. Efektivitas Sediaan Salep yang Mengandung Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) pada Proses Penyembuhan Luka Akut Stadium II Terbuka pada Tikus Jantan Galur Wistar. *Pharm Sci Res ISSN*: 207-214
- Andrie M dan Sihombing D. 2017. Uji Efektivitas Penyembuhan Luka Akut Stadium II Terbuka Kombinasi Fase Air Minyak Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) Dalam Sediaan Salep Pada Tikus Jantan Galur Wistar. *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)* 4: 88-101
- Azrita¹, Hafrijal Syandri, Dahelmi, *et al.* 2013. Karakterisasi Morfologi Ikan Bujuk (*Channa lucius*) pada Perairan Danau Singkarak Sumatera Barat, Rawa Banjiran Tanjung Jabung Timur Jambi dan Rawa Banjiran Kampar Riau. *Jurnal Natur Indonesia* 15:1-12
- Azrita, Syandri H, Nugroho E, *et al.* 2012. Fekunditas, Diameter Telur, dan Makanan Ikan Bujuk (*Channa lucius*) pada Habitat Prairan Berbeda. *J. Ris. Akuakultur* 7: 381-392
- Chammas N, Hill R dan Edmonds M. 2016. Increased mortality in diabetic foot ulcer patients: the significance of ulcer type. *Journal of diabetes research* 2016
- Cho NH, Shaw JE, Karuranga Y, *et al.* 2018. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract* 138: 271-281
- Ciptanto, Sapto. 2010. Top 10 Ikan Air Tawar. *Lily Publisher*. Yogyakarta., hal: 138-143
- Fajriansyah MF. 2016. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) Terhadap Kepadatan Kolagen pada Luka Bakar Derajat II Tikus *Sprague dawley* 3:57-60

- Firlianty S, Eddy, Nursyam H, *et al.* 2013. Chemical Composition and Amino Acid Profile of *Channidae* Collected From Central Kalimantan, Indonesia. *IEESE International Journal of Science and Technology* 2: 25-33
- Gonzalez ACdO, Costa TF, Andrade ZdA, *et al.* 2016. Wound healing-A literature review. *Anais brasileiros de dermatologia* 91: 614-620
- Gurnida DA dan Lilisari M. 2011. Dukungan Nutrisi Pada Penderita Luka Bakar. Bagian Ilmu Kesehatann Anak, Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran, Rumah Sakit Hasan Sadikin, Bandung. *Jurnal Kedokteran* 31:43-50
- Hartining S. 2010. Hubungan Pantangan Makan dengan Lama Penyembuhan Luka pada Ibu Nifas di Kecamatan Srengat Kabupaten Blitar. Surakarta: Universitas Sebelas Maret
- International Diabetes Federation. 2011. One Adult In Ten Will Have Diabetes By 2030. [<http://www.idf.org/mediaevents/press-releases/2011/diabetes-atlas-8th-edition>] [Diunduh pada 1 Januari 2020 pukul 17.45 WIB]
- Istiqomah F. 2019. Efektivitas Suplementasi Ekstrak Ikan Bujuk (*Channa lucius*) Dalam Penyembuhan Luka Diabetik Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Sprague Dawley yang Diinduksi Aloksan. *Skripsi*. Universitas Nasional
- Lin P-H, Sermersheim M dan Li H. 2018. Zinc in wound healing modulation. *Nutrients* 10: 16-18
- Merlot AM, Kalinowski DS dan Richardson DR. 2014. Unraveling the mysteries of serum albumin more than just a serum protein. *Frontiers in physiology* 5: 299-301
- Muhammad AA, Arulselvan P, Cheah PS, *et al.* 2016. Evaluation of wound healing properties of bioactive aqueous fraction from *Moringa oleifera* Lam on experimentally induced diabetic animal model. *Drug Design, Development and Therapy* 10: 1715-1717
- Murdani OJ. 2016. Uji Efek Penyembuhan Luka Sayat Ekstrak Ikan Toman (*Channa micropeltes*) Secara Oral Pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Streptozotocin. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN* 3
- Murthy, M.K. Gautam, Shalini Goel, V. Purohit, H. Sharma, and R.K. Goel, "Evaluation of In Vivo Wound Healing Activity of Bacopa monniera on Different Wound Model in Rats," *Biomed Research International*, vol. 2013, Article ID 972028, 9 pages, 2013. <http://doi.org/10.1155/2013/972028>

- Mustafa A, Widodo MA dan Kristianto Y. 2012. Albumin and zinc content of snakehead fish (*Channa striata*) extract and its role in health. *IEESE International Journal of Science and Technology* 1: 1-5
- Nagar HK, Srivastava AK dan Srivastava R. 2016. Pharmacological Investigation of the Wound Healing Activity of *Cestrum nocturnum* (L.) Ointment in Wistar Albino Rats. *J Pharm (Cairo)* 20:36-46
- Novriansyah. 2008. Perbedaan Kepadatan Kolagen Di Sekitar Luka Insisi Tikus Wistar Yang Dibalut Kasa Konvensional dan Penutup Oklusif Hidrokolid Selama 2 dan 14 Hari. *Tesis*. Universitas Diponegoro Semarang
- Okonkwo U dan DiPietro L. 2017. Diabetes and wound angiogenesis. *International journal of molecular sciences* 18: 1419-1423
- Okur ME, Karantas ID dan Siafaka PI. 2017. Diabetes mellitus: A review on pathophysiology, current status of oral medications and future perspectives 3:9-14
- Rahman M, Molla M, Sarker M, *et al.* 2018. Snakehead fish (*Channa striata*) and its biochemical properties for therapeutics and health benefits. *SF J Biotechnol Biomed Eng.* 2018; 1 (1) 1005.
- Rahmawati. 2019. Efek Pemberian Ekstrak Daging Ikan Bujuk (*Channa lucius*) Terhadap Penyembuhan Luka Diabetik Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus L.*). *Skripsi*. Universitas Nasional
- Rismana E, Rosidah I dan Bunga O. 2013. Efektivitas khasiat pengobatan luka bakar sediaan gel mengandung fraksi ekstrak pegagan berdasarkan analisis hidroksiprolin dan histopatologi pada kulit kelinci. *Buletin Penelitian Kesehatan* 41: 45-60
- Sahoo H, Mishra K, Sagar R, *et al.* 2015. Evaluation of the wound-healing potential of *Amaranthus viridis* (Linn.) in experimentally induced diabetic rats. *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases* 5: 50-52
- Said S, Taslim NA dan Bahar B. 2013. Gizi dan Penyembuhan Luka. Jakarta: EGC
- Saini P dan Verma P. 2017. Evaluation of the Wound Healing Properties of *Jasminum mesnyi* H in Diabetic Rats. *Ann of Pharmacol and Pharm* 2: 116-119
- Sarandy MM, Novaes RD, Xavier AA, *et al.* 2017. Hydroethanolic extract of *Strychnos pseudoquina* accelerates skin wound healing by modulating the oxidative status and microstructural reorganization of scar tissue in experimental type I diabetes. *BioMed research international* 5:89-92

- Shetty BS dan Pemmineti S. 2013. Evaluation of centella asiatica leaf extract for wound healing in sterptozotocin induced diabetic rats. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 4: 108-119
- Sinaga E. 2018. Jenis-jenis ikan marga Channa di Indonesia. Universitas Nasional Jakarta
- Sinaga E, Suprihatin, Istiqomah F, (2019). Efektivitas Suplementasi Ekstrak Daging Ikan Bujuk (*Channa lucius*) dalam Mempercepat Penyembuhan Luka Diabetik. *Majalah Farmasetika (Suppl 1)*, 195-200.
- Suhartono M dan Sularsih S. 2018. Perbedaan Pengaruh Aplikasi Gel Kombinasi Kitosan Berat Molekul Tinggi dan Rendah dengan Ekstrak Lidah Buaya (*Aloe vera*) Terhadap Kepadatan Kolagen pada Proses Penyembuhan Ulkus Traumatikus. *DENTA Jurnal Kedokteran Gigi* 12: 60-63
- Syafrialdi, Rini Hertati dan Budiyo. 2017. Pengaruh Musim Terhadap Komposisi Jenis dan Struktur Komunitas Ikan di Perairan Batang Bungo Kabupaten Bungo, Provinsi Jambi. *Pengelolaan Sumberdaya Perair* 1:1
- Tsourdi E, Barthel A, Rietzsch H, *et al.* 2013. Current aspects in the pathophysiology and treatment of chronic wounds in diabetes mellitus. *BioMed research international* 23:111-113
- Tuhin RH, Begum MM dan Rahman MS. 2017. Wound healing effect of *Euphorbia hirta* linn. (*Euphorbiaceae*) in alloxan induced diabetic rats. *BMC Complement Altern Med* 17: 423-437
- Wahab A, Zubaidah S, Abdul Kadir A, *et al.* 2015. The effect of Haruan (*Channa striatus*) extract on pain and wound healing of post-lower segment caesarean section women. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 20:74-80
- Wallace HA dan Zito PM. 2018. Wound Healing Phases. In *StatPearls [Internet]*: StatPearls Publishing 21:28-32
- WHO. 2016. Global report on diabetes.
- Wijonarko B, Anies A dan Mardiono M. 2016. Efektivitas Topikal Salep Ekstrak Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap Proses Penyembuhan Luka Ulkus Diabetik pada Tikus Wistar (*Rattus novergicus*). *Jurnal Ilmiah Kesehatan* 9:10-14
- Wild T, Rahbarnia A, Kellner M, *et al.* 2010. Basics in nutrition and wound healing. *Nutrition* 26: 862-864
- Winarsih W, Wientarsih I dan Sutardi LN. 2012. Aktivitas Salep Ekstrak Rimpang Kunyit dalam Proses Persembuhan Luka pada Mencit yang Diinduksi Diabetes (the activity of turmeric extract ointment in the wound healing process of induced diabetic mice). *Jurnal Veteriner* 13: 242-250