EFEK PEMBERIAN EKSTRAK DAGING IKAN BUJUK (*Channa lucius*) TERHADAP JUMLAH NEUTROFIL DAN MAKROFAG PADA JARINGAN LUKA TIKUS PUTIH DIABETIK

EFFECT OF *Channa lucius* EXTRACT ON NUMBER OF NEUTROPHILS AND MACROPHAGES IN DIABETIC RAT'S WOUND HEALING

SKRIPSI SARJANA SAINS

Oleh

NURHIDAYAH

FAKULTAS BIOLOGI
UNIVERSITAS NASIONAL
JAKARTA

2020

FAKULTAS BIOLOGI UNIVERSITAS NASIONAL

Skripsi, Jakarta 5 Maret 2020

Nurhidayah

EFEK PEMBERIAN EKSTRAK DAGING IKAN BUJUK (*Channa lucius*) TERHADAP JUMLAH NEUTROFIL DAN MAKROFAG PADA JARINGAN LUKA TIKUS PUTIH DIABETIK

viii + 61 halaman, 2 tabel, 12 gambar, 15 lampiran

Salah satu komplikasi yang sering terjadi pada penderita diabetes melitus adalah terjadinya *ulcer* atau luka yang sukar sembuh. Beberapa bahan alam sudah dibuktikan dapat membantu penyembuhan luka diabetik, antara lain ekstrak daging ikan bujuk (*Channa lucius*). Namun demikian belum diketahui dengan jelas bagaimana mekanisme percepatan penyembuhan luka diabetik dari ekstrak ikan bujuk ini. Dalam penelitian ini dilakukan pengujian untuk mengetahui efek suplementasi ekstrak ikan bujuk terhadap jumlah neutrofil dan makrofag pada jaringan luka diabetik tikus putih. Eksperimen dilakukan menggunakan 54 tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague Dawley* yang diinduksi dengan aloksan 150 mg/kg/bb dan diberi perlukaan eksisi pada bagian dorsal. Kemudian tikus percobaan diberi ekstrak ikan bujuk dengan 3 tingkat dosis, yaitu 1,25; 2,5 dan 5 g/kg/bb sampai luka sembuh sempurna. Sebagai pembanding digunakan glibenklamid 5 mg/kg/bb. Pengamatan mikroskopis jaringan luka untuk mengetahui jumlah neutrofil dan makrofag dilakukan pada hari ke-9, ke-18, dan pada saat luka sudah sembuh sempurna. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi ekstrak ikan bujuk dapat menyebabkan bertambah rendahnya jumlah neutrofil dan makrofag pada jaringan luka tikus diabetik, yang dalam penelitian ini tampak sangat nyata pada hari ke-18. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa suplementasi ekstrak daging ikan bujuk dapat mempercepat penyembuhan luka, dan mengakibatkan turunnya jumlah neutrofil dan makrofag pada jaringan luka.

Kata kunci : *Channa lucius*, ikan bujuk, luka diabetik, makrofag, neutrofil,

Daftar bacaan : 31 (2010-2019)

EFEK PEMBERIAN EKSTRAK DAGING IKAN BUJUK (*Channa lucius*) TERHADAP JUMLAH NEUTROFIL DAN MAKROFAG PADA JARINGAN LUKA TIKUS PUTIH DIABETIK

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

Oleh

NURHIDAYAH
183112620120044

FAKULTAS BIOLOGI
UNIVERSITAS NASIONAL
JAKARTA

2020

Judul Skripsi : EFEK PEMBERIAN EKSTRAK DAGING IKAN BUJUK (*Channa lucius*) TERHADAP JUMLAH NEUTROFIL DAN MAKROFAG PADA JARINGAN LUKA TIKUS PUTIH DIABETIK

Nama Mahasiswa : NURHIDAYAH

Nomor Pokok : 183112620120044

MENYETUJUI

Pembimbing Pertama	Pembimbing Kedua
Prof. Dr. Ernawati Sinaga, MS., Apt.	Dra. Suprihatin, M.Si.

Dekan

Dr. Tatang Mitra Setia, M.Si.

Tanggal Lulus : 5 Maret 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 "**Efek Pemberian Ekstrak Daging Ikan Bujuk (*Channa lucius*) Terhadap Jumlah Neutrofil dan Makrofag 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 Dra. Suprihatin, 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. Ibu Dr. Vivitri Dewi Prasasty, M.Si. yang telah membantu dan memberi masukan kepada penulis dalam penyusunan skripsi ini.
5. Bapak Dr. Tatang Mitra Setia, M.Si. selaku Dekan Fakultas Biologi Universitas Nasional.
6. Ibu Drs. Gautama Wisnubudi, M.Si. selaku Ketua Progam Studi Biologi Universitas Nasional.
7. Bapak dan Ibu Dosen Fakultas Biologi konsentrasi studi Biologi Medik yang telah memberikan bimbingan dan ilmu pengetahuannya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.
8. Alhamdulillah terima kasih telah diberika mama dan papa disampingku ya Rabb, terima kasih mama dan papa yang tak pernah lelah memberikan yang terbaik

untuk Nur, semoga kalian selalu diberika kebahagiaan, kesehatan,dan selalu dalam ridho Allah.

9. Dang yopi yang selalu memberikan kata bijaknya ketika adik perempuannya dalam situasi susah,wah selpa yang selalu memberikan motivasi jarak jauhnya terima kasih ya sayangku, adek bungsuku ario yang menjadi partner terbaik dalam semua hal, terima kasih kluargaku.
10. Rahmawati, Wini, Endang, Elvera yang telah bekerjasama dengan baik selama penelitian ini.
11. Awik, Purnama sari, Ayu, Yanti, Riski F, Mardian, Husna yang telah membantu dengan baik selama penelitian ini.
12. Keluarga dan kerabat penulis yang banyak memberikan bantuan moril, material, arahan, dan selalu mendoakan keberhasilan dan keselamatan selama menempuh pendidikan.
13. 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, 5 Maret 2020

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR iii
DAFTAR ISI v
DAFTAR GAMBAR vi
DAFTAR TABEL vii
BAB I. PENDAHULUAN 1
BAB II. METODE PENELITIAN 5
A. Tempat dan waktu penelitian 5
B. Instrumen penelitian 5
C. Cara kerja 7
D. Analisis data 15
BAB III. HASIL DAN PEMBAHASAN 17
A. Komposisi gizi ekstrak ikan bujuk 17
B. Efek pemberian ekstrak ikan bujuk terhadap jumlah neutrofil dan makrofag jaringan luka 19
BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN 35
A. Kesimpulan 35
B. Saran 35
DAFTAR PUSTAKA 37

DAFTAR GAMBAR

Naskah

Gambar 1. Ikan bujuk (*Channa lucius*) 6

Gambar 2. Daging ikan bujuk yang telah dibersihkan dan dipotong-potong 7

Gambar 3. Ekstrak kering daging ikan bujuk 8

Gambar 4. Ekstrak cair daging ikan bujuk 8

Gambar 5. Alur eksperimen efek suplementasi ekstrak ikan bujuk terhadap tikus percobaan 16

Gambar 6. Rata-rata jumlah neutrofil pada jaringan luka tikus. 19

Gambar 7. Rata-rata jumlah makrofag pada jaringan luka tikus 20

Gambar 8a. Gambaran mikroskopis sel neutrofil dan makrofag 9 hari setelah perlukaan 21

Gambar 8b. Gambaran mikroskopis sel neutrofil dan makrofag 9 hari setelah perlukaan 22

Gambar 9a. Gambaran mikroskopis sel neutrofil dan makrofag 18 hari setelah perlukaan. 23

Gambar 9b. Gambaran mikroskopis sel neutrofil dan makrofag 18 hari setelah perlukaan. 24

Gambar 10a. Gambaran mikroskopis sel neutrofil dan makrofag setelah luka sembuh sempurna dengan lamanya hari kesembuhan yang berbeda 25

Gambar 10b. Gambaran mikroskopis sel neutrofil dan makrofag setelah luka sembuh sempurna dengan lamanya hari kesembuhan yang berbeda 26

Gambar 11. Rata-rata jumlah neutrofil pada kulit luka tikus. 28

Gambar 12. Rata-rata jumlah makrofag pada jaringan luka tikus. 29

Lampiran

Gambar Lampiran 1. Ikan bujuk (*Channa lucius*).....43

Gambar Lampiran 2. Pengukusan daging ikan bujuk.....43

Gambar Lampiran 3. Ekstrak cair daging ikan bujuk.....43

Gambar Lampiran 4. Ekstrak cair ikan bujuk sebelum dan setelah disentrifus 43

Gambar Lampiran 5. Skema alur pengolahan daging ikan bujuk 44

Gambar Lampiran 6. Skema pembuatan luka eksisi 45

Gambar Lampiran 7. Induksi aloksan secara intraperitoneal 46

DAFTAR TABEL

Naskah

Tabel 1. Definisi operasional variabel 5
Tabel 2. Komposisi gizi ekstrak kering ikan bujuk (*Channa lucius*) 17

Lampiran

Tabel lampiran 1. Jumlah neutrofil 47
Tabel lampiran 2. Jumlah makrofag 50
Tabel lampiran 3. Hasil analisis statistika jumlah neutrofil 52
Tabel lampiran 4. Hasil post hoc test jumlah neutrofil 53
Tabel lampiran 5. Hasil analisis statistika jumlah makrofag 57
Tabel lampiran 6. Hasil post hoc test jumlah makrofag 58

UNIVERSITAS NASIONAL

UNIVERSITAS NASIONAL

BAB I. PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) adalah kondisi metabolik yang disertai dengan hiperglikemia persisten, sebagai akibat dari gangguan sintesis atau berkurangnya sekresi insulin oleh sel-sel β pankreas, atau berkurangnya sensitivitas reseptor permukaan sel terhadap insulin atau keduanya (Adinortey *et al.*, 2019). Diabetes adalah salah satu penyakit kronis yang berkembang paling cepat di dunia. Diabetes mellitus merupakan kelainan metabolisme kompleks yang dialami 171 juta orang di seluruh dunia, dan jumlah ini diproyeksikan mencapai 366 juta pada tahun 2030 (WHO, 2016).

Diabetes sebagai penyakit kronis yang kompleks, membutuhkan perawatan medis berkelanjutan dengan pendekatan multifaktorial dan pengurangan risiko di luar kondisi glikemik. Salah satu komplikasi yang sering terjadi pada penderita DM adalah terjadinya *ulcer* atau luka pada kaki. Luka kaki diabetik merupakan kejadian infeksi, *ulcer* atau kerusakan jaringan yang lebih dalam yang terkait dengan gangguan neurologis dan vaskuler pada tungkai penderita DM. Kondisi ini akan menyebabkan memanjangnya waktu perawatan, meningkatnya biaya perawatan, peningkatan angka kecacatan, penurunan kualitas hidup dan peningkatan risiko kematian. Luka kaki diabetik ini bisa dicegah jika dideteksi tingkat risikonya sejak awal, namun seringkali tidak mendapat perhatian yang cukup karena keterbatasan waktu dalam melaksanakan pengkajian (Kale and Akoit, 2015). Prevalensi DM di seluruh dunia saat ini cukup besar dan mengkhawatirkan karena terus meningkat dari tahun ke tahun. Oleh sebab itu banyak dilakukan penelitian untuk menemukan bahan yang dapat membantu penyembuhan luka diabetik.

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 atau pun gel. Bahan alam yang terbukti efektif dalam penyembuhan luka diabetes yang diberikan secara topikal, antara lain ekstrak lidah buaya (*Aloe vera)* (Budiyanto, 2011), bandotan (*Ageratum conyzoides),* (Afrianti *et al.*, 2016), kunyit (*Curcuma domestica*), *(Winarsih et al., 2012),* dan binahong *(Anredera cordifolia)*

(Wijonarko *et al.*, 2016). Belum banyak bahan alam yang sudah dibuktikan efeknya dalam membantu penyembuhan luka dengan pemberian per oral, salah satu diantaranya adalah ikan bujuk *(Channa lucius).* Ikan bujuk adalah sejenis ikan marga Channa yang hidup di berbagai daerah di Indonesia (Sinaga, 2018) Ekstrak ikan bujuk (*Channa lucius*) dapat mempercepat proses penyembuhan luka diabetik yang ditunjukkan dengan percepatan pengurangan luas luka dan waktu epitelisasi sempurna (Istiqomah, 2018; Rahmawati, 2019; Sinaga et al., 2019). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Rahmawati (2019), ekstrak ikan bujuk telah terbukti dapat mempercepat penyembuhan luka diabetik yang ditunjukkan makin cepatnya reduksi luas luka, waktu sembuh 50%, waktu epitelisasi sempurna, dan pembentukan jaringan epitel pada jaringan kulit yang luka. Selain itu juga dibuktikan oleh Zaili (2019) bahwa ekstrak ikan bujuk dapat membantu penyembuhan luka non-diabetik dengan pemberian secara oral pada tikus putih, yang ditandai dengan semakin cepatnya pengurangan luas luka dan makin cepatnya waktu epitelisasi sempurna.

Secara umum, penyembuhan luka dibagi dalam 3 fase yaitu fase inflamasi, proliferasi, dan fase remodeling. Fase inflamasi terbagi dua, yaitu fase inflamasi awal atau fase hemostasis dan fase inflamasi akhir. Pada saat jaringan terluka, pembuluh darah yang terputus pada luka akan menyebabkan pendarahan. Reaksi tubuh pertama sekali adalah berusaha menghentikan pendarahan dengan mengaktifkan faktor koagulasi intrinsik dan ekstrinsik, yang mengarah pada agregasi platelet dan vasokontriksi. Fase inflamasi akhir bertujuan untuk menyingkirkan jaringan yang mati, dan pencegahan kolonisasi ataupun infeksi oleh agen mikrobial patogen. Setelah hemostasis tercapai, sel radang akut serta neutrofil akan menginvasi daerah radang dan menghancurkan semua debris dan bakteri. Dengan adanya neutrofil maka dimulai respon peradangan atau inflamasi. Neutrofil, limfosit dan makrofag adalah sel-sel yang pertama kali mencapai daerah luka. Fungsi utamanya adalah melawan infeksi dan membersihkan debris matriks seluler dan benda-benda asing (Primadina *et al.*, 2019).

Fase yang kedua adalah fase proliferasi. Fase proliferasi ditandai dengan pergantian matriks provisional yang didominasi oleh platelet dan makrofag secara bertahap digantikan oleh sel-sel fibroblast dan deposisi sintesis matriks ekstraselular. Pada level mikroskopis ditandai dengan adanya jaringan granulasi yang kaya akan jaringan pembuluh darah baru, fibroblas, dan makrofag, granulosit, sel endotel dan

kolagen yang membentuk matriks ekstraseluler dan neovaskular yang mengisi celah luka dan memfasilitasi adhesi, migrasi, pertumbuhan dan diferensiasi sel. Tujuan fase proliferasi ini adalah untuk membentuk keseimbangan antara pembentukan jaringan parut dan regenerasi jaringan (Primadina *et al.*, 2019).

Fase yang ketiga adalah fase maturasi atau remodeling. Fase maturasi bertujuan untuk memaksimalkan kekuatan dan integritas struktural jaringan baru pengisi luka, pertumbuhan epitel dan pembentukan jaringan parut (Primadina *et al.*, 2019). Fase remodeling dimulai pada sekitar minggu ke 2-3 setelah terjadinya luka dan jaringan granulasi berubah menjadi jaringan bekas luka. Kerapatan pembuluh darah berkurang dan kolagen terbentuk. Selama fase remodeling terbentuk sintesis kolagen baru dan degradasi kolagen yang terus berlanjut, yang diimbangi dengan aktivitas matriks metaloproteinase (Putri dan Sriwidodo, 2016).

Sebagaimana yang sudah dikemukakan sebelumnya, pemberian ekstrak ikan bujuk telah dibuktikan dapat mempercepat penyembuhan luka, bahkan luka diabetik, namun belum diketahui mekanisme kerjanya dan di fase mana dari ketiga fase penyembuhan luka yang telah diuraikan di atas, zat-zat aktif dari ikan bujuk ini bekerja. Untuk itu dilakukan penelitian ini yang bertujuan untuk mengungkapkan pengaruh pemberian ekstrak ikan bujuk terhadap proses penyembuhan luka diabetik, ditinjau dari pengamatan terhadap jumlah neutrofil dan makrofag di jaringan luka. Dalam penelitian ini tikus yang menderita luka diabetik diberi suplemen ekstrak ikan bujuk dalam tiga dosis yang berbeda, lalu diamati jumlah neutrofil dan makrofag pada hari ke-9, ke-18, dan setelah luka sembuh sempurna. Dari hasil penelitian ini diharapkan diperoleh informasi ilmiah yang dapat menambah penjelasan tentang mekanisme kerja penyembuhan luka yang diakibatkan oleh pemberian ekstrak ikan bujuk.

Hipotesis yang diuji dalam penelitian ini adalah :

1. Pemberian ekstrak ikan bujuk dapat meningkatkan jumlah neutrofil jaringan luka pada tikus diabetik.
2. Pemberian ekstrak ikan bujuk dapat meningkatkan jumlah makrofag jaringan luka pada tikus diabetik.

UNIVERSITAS NASIONAL

BAB II. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia, Laboratorium Zoologi dan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Nasional Jakarta Selatan. *Freezedrying* 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

No	Variabel Satuan	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 1,25 g/kg/bb	Ikan bujuk yang diperoleh dari sungai Desa Tanjung Kabupaten Muaro Jambi	ml/hari
2	Histopatologi hitung jumlah neutrofil	Sejenis leukosit granular yang akan meningkat apabila terdapat infeksi bakteri.	Luka kulit diambil setelah tikus dibunuh pada waktu hari ke 9, 18 dan saat luka sembuh sempurna	Sel
3	Histopatologi hitung jumlah makrofag	Sel pada jaringan yang berasal dari sel darah putih yang besar dan akan meningkat apabila terdapat infeksi bakteri.	Luka kulit diambil setelah tikus dibunuh pada waktu hari ke 9, 18 dan saat luka sembuh sempurna	Sel

2. Bahan penelitian

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

Gambar 1. Ikan bujuk (*Channa lucius*)

3. Hewan percobaan

Penelitian ini menggunakan hewan coba sebanyak 54 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) galur *Sprague Dawley* yang berasal dari Unit Pengelolaan Hewan Laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, dengan kriteria inklusi yakni berjenis kelamin jantan, berumur kurang lebih 3-4 bulan dengan berat badan 200-240 g, kondisi sehat.

4. Reagensia dan pelarut

Glukosa 10%, NaCl 0,9%, Na-CMC 0,5%, alkohol 70%, eter 10%.

5. Aloksan dan glibenklamid

Aloksan yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari CV Banyu Bening, sedangkan glibenklamid (Daonil) merupakan produksi PT. Mugi Laboratories.

6. Alat penelitian

a. Alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak ikan bujuk adalah pisau, *Beaker glass*, labu Erlenmeyer gelas ukur, alat sentrifugasi, panci pengukus, botol kaca

(500 ml), timbangan analitik, batang pengaduk, alumunium foil serta alat untuk *freezdry* 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, spuit injeksi 3 ml, kertas millimeter blok.

c. Alat yang digunakan untuk analisis ekstrak yaitu alat fotometer Humastar 80.

d. Alat yang digunakan untuk pemeriksaan histologi jaringan adalah mikroskop, *objek glass* dan kamera mikroskop merk Optilab.

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^3, 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^oC selama 2 jam. Setelah pengukusan selesai daging ikan dibungkus dengan kain flanel kemudian 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 disentrifugasi selama 15 menit, lalu lapisan cairan yang pekat berupa cairan berwarna putih susu diambil dengan menggunakan pipet, lalu disimpan dalam wadah kaca (Gambar 3). Sebelum dilakukan *freezedry* ekstrak disimpan pada suhu $<4^0$C untuk mencegah kerusakan ekstrak. Ekstrak di-*freezedry* di Puspitek (Pusat Penelitian Ilmu Pengetahuan dan Teknologi) Serpong. Untuk perlakuan, ekstrak kering hasil *freezedry* (Gambar 4) dilarutkan dalam air suling sesuai dengan konsentrasi yang ditetapkan.

Gambar 3. Ekstrak cair daging ikan bujuk

Gambar 4. Ekstrak kering daging ikan bujuk

2. Analisis kandungan ekstrak ikan bujuk

Kandungan ekstrak ikan bujuk yang dianalisis adalah kadar protein total, albumin, karbohidrat, lipid dan Zn (Zinc). Ekstrak kering ikan bujuk diambil sebanyak 50 g untuk diperiksa 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 kosentrasi albumin dalam sampel.
- Cara kerja:

  Dimasukkan 10 µl sampel ke dalam kuvet, ditambahkan 1000 µl reagen albumin (dapar sitrat pH 4,2 dan hijau brom kresol), lalu diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37^{o}C. Kemudian absorban diukur pada panjang gelombang 546 nm, dan dicatat nilai absorbannya.

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 labu 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 fenolftalein). Kemudian ditambahkan sedikit CH_3COOH 3% agar suasana larutan sedikit asam, lalu dipindahkan isinya ke dalam labu ukur 500 ml dan diimpitkan hingga tanda garis, kemudian disaring sebanyak 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 terus selama 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 H_2SO_4 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 kadar lipid

- Prinsip pemeriksaan: dengan mengukur intensitas cahaya berdasarkan transmisi atau absorbansi dari cahaya yang dilewatkan pada panjang gelombang tertentu.
- Cara kerja:

  Sampel ditimbang, dihaluskan, diekstraksi dengan cara maserasi selama 2 jam dengan pelarut n-heksana, disaring lalu disentrifugasi pada 3000 rpm selama 20 menit, kemudian disaring dengan kertas Whatman yang diberi Na_2SO_4 anhidrat, dikeringkan, diulangi untuk setiap perlakuan. Sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam kuvet dan ditentukan absorbansinya.

e. 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 sampel. Absorbansi larutan deret standar, blanko dan sampel dibaca dengan alat spektrofotometer serapan atom pada panjang gelombang 213,9 nm, lalu dibuat kurva kalibrasi dengan sumbu y sebagai absorbansi dan sumbu x sebagai kosentrasi (dalam ppm), dan dihitung kadar logam dalam sampel.

3. Uji efektivitas ekstrak ikan bujuk terhadap penyembuhan luka diabetik

a. Desain penelitian dan pengelompokan hewan coba

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vivo* menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague Dawley* yang diinduksi diabetik dengan aloksan dan diberi luka eksisi. Eksperimen menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL). Disiapkan 54 ekor tikus putih galur *Sprague Dawley* yang diadaptasikan selama 2 minggu agar menyesuaikan diri dengan lingkungan percobaan. Tikus dikelompokkan menjadi 18 kelompok, setiap kelompok terdiri dari 3 ulangan, yaitu:

1) KS1, yaitu kelompok tikus sehat (tidak diinduksi diabetik) yang hanya diberi suspensi Na CMC 0,5% per oral sampai hari ke 9.
2) KS2, yaitu kelompok tikus sehat (tidak diinduksi diabetik) yang hanya diberi suspense Na CMC 0,5% per oral sampai hari ke 18.
3) KS3, yaitu kelompok tikus sehat (tidak diinduksi diabetik) yang hanya diberi Na CMC 0,5% per oral sampai hari luka sembuh sempurna.
4) KD1, yaitu kelompok tikus diabetik (diinduksi diabetik dengan aloksan 150 mg/Kg/bb), yang hanya diberi air keran per oral (sebagai pengganti ekstrak) sampai hari ke 9.
5) KD2, yaitu kelompok tikus diabetik (diinduksi diabetik dengan aloksan 150 mg/Kg/bb), yang hanya diberi air keran per oral (sebagai pengganti ekstrak)

sampai hari ke 18.

6) KD3, yaitu kelompok tikus diabetik (diinduksi diabetik dengan aloksan 150 mg/Kg/bb), yang hanya diberi air keran per oral (sebagai pengganti ekstrak) sampai hari dimana luka sembuh sempurna.
7) KG1, yaitu kelompok tikus diabetik (diinduksi diabetik dengan aloksan), yang diberi glibenklamid 5 mg/Kg/bb (sebagai pembanding) sampai hari ke 9.
8) KG2, yaitu kelompok tikus diabetik (diinduksi diabetik dengan aloksan), yang diberi glibenklamid 5 mg/Kg/bb (sebagai pembanding) sampai hari ke 18.
9) KG3, yaitu kelompok tikus diabetik (diinduksi diabetik dengan aloksan), yang diberi glibenklamid 5 mg/Kg/bb (sebagai pembanding) sampai hari dimana luka sembuh sempurna.
10) KER1, yaitu kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak ikan bujuk 1,25 g/Kg/ bb/hari sampai hari ke 9.
11) KER2, yaitu kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak ikan bujuk 1,25 g/Kg bb/hari sampai hari ke 18.
12) KER3, yaitu kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak ikan bujuk 1,25 g/Kg/ bb/hari sampai hari dimana luka sembuh sempurna.
13) KEM 1, yaitu kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak ikan bujuk 2,5 g/Kg/ bb/hari sampai hari ke 9
14) KEM 2, yaitu kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak ikan bujuk 2,5 g/Kg/ bb/hari sampai hari ke 18
15) KEM 3, yaitu kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak ikan bujuk 2,5 g/Kg/ bb/hari sampai hari dimana luka sembuh sempurna.
16) KET 1, yaitu kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak ikan bujuk 5 g/Kg/ bb/hari sampai hari ke 9.
17) (KET 2, yaitu kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak ikan bujuk 5 g/Kg/ bb/hari sampai hari ke 18.
18) KET 3, yaitu kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak ikan bujuk 5 g/Kg/ bb/hari sampai hari dimana luka sembuh sempurna.

b. Pemeliharaan dan aklimatisasi tikus percobaan

Tikus percobaan dipelihara secara individual terpisah satu sama lain dan diadaptasikan selama 2 minggu sebelum percobaan dilakukan. Selama adaptasi dan percobaan tikus diberikan pakan standar serta diberi minum air kran secara ad libitum.

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. 6 jam setelah 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 rambut 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. Semua alat disterilisasi terlebih dahulu sebelum digunakan.

e. Pemberian ekstrak ikan bujuk dan glibenklamid

Ekstrak ikan bujuk kering hasil *freezdry* 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% dengan 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 dan pembuatan preparat histopatologi

Pengambilan jaringan luka dan pembuatan preparat histologis mengacu pada Gautam *et al.*(2014) dan Zandifar *et al.*(2012). Hewan uji dianestesi dengan eter, jaringan kulit diambil dan difiksasi dengan formalin 10% (NBF 10%) selama 24 jam. Dehidrasi dan *clearing* kulit bekas luka dilakukan dengan memasukkan kulit bekas luka 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 yang masih cair, kemudian dimasukkan ke dalam oven suhu 55 – 56 °C selama 30 menit dan diulangi lagi dengan paraffin 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 *Hematoxylin Eosin* (HE) yang dilakukan setelah jaringan yang kering dimasukkan ke dalam xylol I, II dan III, masing masing selama 5, 4, dan 3 menit. Jaringan selanjutnya dimasukkan ke dalam alkohol absolut I (3 menit), alkohol absolut II (2 menit) dan alkohol absolut III (3 menit), alkohol 95% (2 menit), alkohol 90% (2 menit), alkohol 80% (1 menit), alkohol 70% (1 menit), kemudian dicuci dengan air keran mengalir selama 5 menit.

Proses selanjutnya jaringan dimasukkan ke dalam zat warna *hematoxylin* selama 4-10 menit kemudian dicuci dengan air keran mengalir selama 10 menit. Kemudian jaringan dimasukkan ke dalam eosin selama 3-8 menit kemudian dimasukkan berturut-turut ke dalam alkohol 70% (1 menit), 80% (2 menit), 90% (3 menit) dan alkohol absolut I (3 menit), alkohol absolut II (3 menit), alkohol absolut III (3 menit). Selanjutnya jaringan dimasukkan kedalam xylol I (3 menit), xylol II (4

menit) dan xylol III (5 menit).

Proses terakhir adalah *mounting* yaitu penutupan gelas obyek dengan gelas penutup yang sebelumnya telah ditetesi dengan entellan atau canada balsem. Pengamatan histopatologi dilakukan di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 10 x 40 (400x). Foto preparat yang mendukung data diambil dengan menggunakan alat Optilab.

g. Pemeriksaan jumlah neutrofil dan makrofag pada jaringan bekas luka

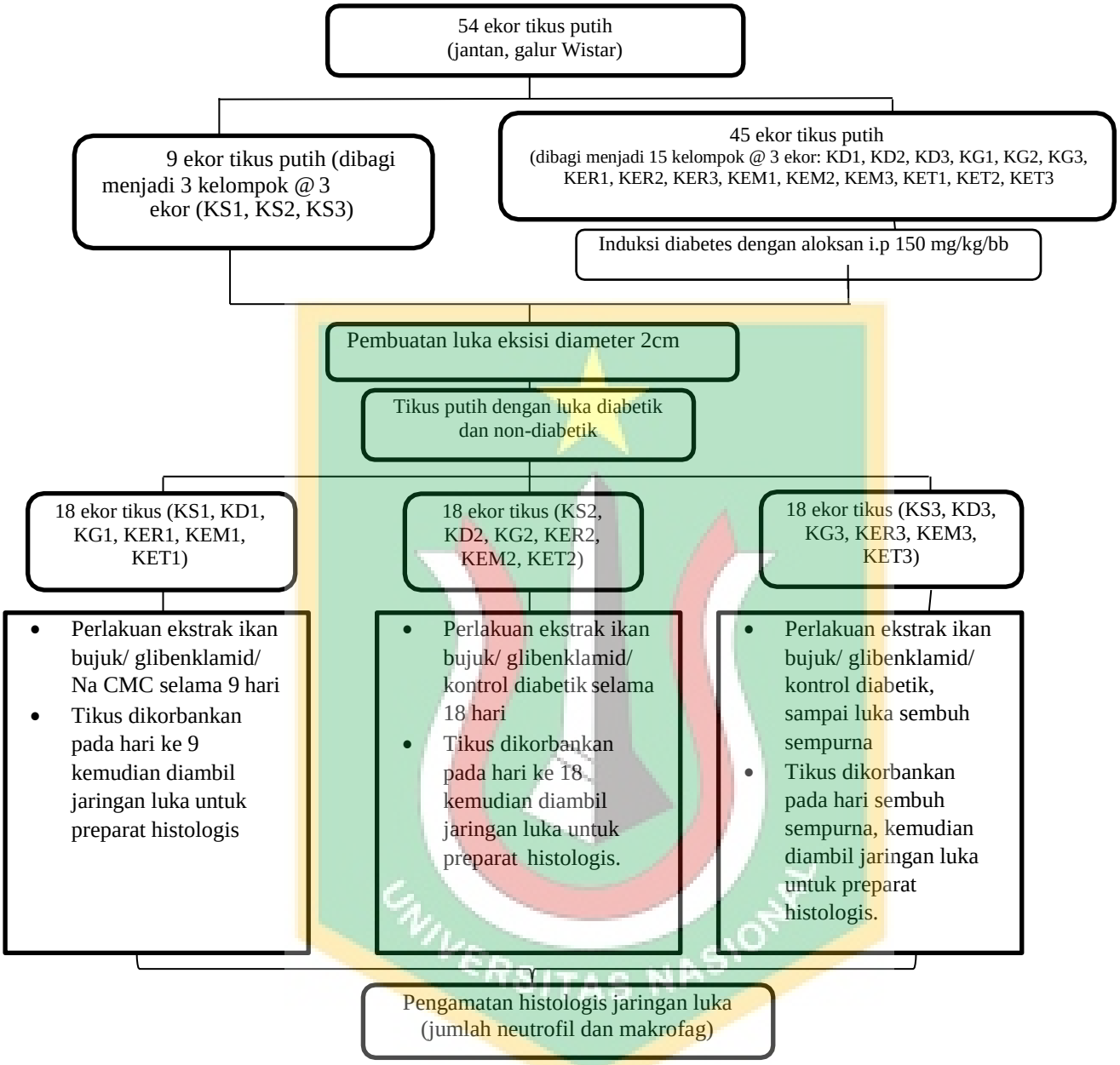
Pemeriksaan jumlah neutrofil dan makrofag dilakukan di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Foto preparat yang mendukung data diambil dengan menggunakan alat Optilab. Pembacaannya dengan menggunakan 5 lapang pandang. Pada lapang pandang pertama dihitung jumlah neutrofil (sitoplasma bergranula) dan makrofag (tidak bergranula, ukurannya lebih besar dibandingkan sel neutrofil). Setelah dihitung pada lima lapangan pandang pada setiap slide, kemudian dijumlahkan dan dirata-ratakan untuk mendapatkan hasil pada setiap pengamatan, baik itu hari ke-9, ke-18, dan saat luka sembuh sempurna.

4. Diagram alir penelitian

Alur kegiatan yang dilakukan pada uji efektivitas ekstrak ikan bujuk disajikan pada Gambar 5.

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.



Gambar 5. Alur eksperimen efek suplementasi ekstrak ikan bujuk terhadap tikus percobaan

BAB III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Komposisi gizi ekstrak ikan bujuk

Ikan bujuk (*Channa lucius)* merupakan kerabat dekat ikan gabus *(Channa striata)* yang sudah diketahui mempunyai kandungan protein, albumin, dan Zn yang tinggi. Kandungan protein ikan bujuk sedikit lebih rendah dibandingkan ikan gabus, tetapi jauh lebih tinggi dibandingkan ikan toman. Kandungan seng ekstrak ikan bujuk juga dua kali lipat lebih tinggi dibandingkan ikan toman (Tabel 2). Dari hasil analisis ini diperkirakan ekstrak ikan bujuk juga memiliki potensi medisinal, terutama untuk penyembuhan luka, karena mengandung albumin dan Zn dalam jumlah yang cukup tinggi.

Tabel 2. Komposisi gizi ekstrak kering ikan bujuk (*Channa lucius*)

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

Kandungan gizi ekstrak ikan bujuk yang dilaporkan oleh Istiqomah (2019) dengan penelitian ini agak berbeda. Istiqomah (2019) melaporkan bahwa ekstrak ikan bujuk mengandung kadar protein 73,16%, kadar albumin 33,3%, kadar karbohidrat 1,76%, kadar lemak 1,77% dan kadar seng (Zn) 4,4 mg/kg. Dari data ini tampak bahwa kandungan protein, karbohidrat, lemak dan seng (Zn) yang dilaporkan oleh Istiqomah (2019) lebih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian ini, walaupun ikan yang digunakan sama-sama berasal dari Jambi. Menurut Syafrialdi *et al.* (2017) perbedaan musim dapat menyebabkan perbedaan komposisi kandungan gizi dari ikan di perairan air tawar. 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.

Hasil analisis komposisi gizi ekstrak ikan bujuk yang diperoleh dalam penelitian ini juga agak berbeda dengan hasil analisis yang dilaporkan 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*freezdry*, 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.

Kandungan zat-zat gizi dalam daging ikan bujuk yaitu protein, albumin, dan seng berperan penting dalam penyembuhan luka. Albumin merupakan sumber antioksidan hewani yang berfungsi sebagai pengikat radikal bebas sehingga berperan dalam proses pembersihan dan penangkapan ROS. Albumin juga berperan meningkatkan fungsi imun tubuh khususnya untuk penyembuhan luka (Merlot *et al.*, 2014).

Ekstrak ikan bujuk juga mengandung Zn dalam jumlah yang cukup tinggi. Zn diketahui memiliki peran penting dalam penyembuhan luka dan Zn merupakan elemen penting (mikronutrient) yang berperan dalam fisiologis manusia. Zn adalah kofaktor untuk banyak metaloenzim yang dibutuhkan sel untuk perbaikan membran, proliferasi sel, pertumbuhan dan fungsi sistem kekebalan tubuh, serta untuk penyembuhan luka. Seng dapat mempengaruhi respons imun dengan berbagai cara, antara lain mengatur homeostasis imun dalam proses perbaikan luka dan epitelisasi ulang, remodeling melalui matriks metalloproteinase (MMPs) dan terkait dengan fungsi berbagai protein dalam proses penyembuhan luka (Lin *et al.*, 2018). Adanya kandungan protein, terutama albumin yang tinggi, dan juga kadar Zn yang tinggi dalam ekstrak daging ikan bujuk, menunjukkan potensinya sebagai bahan yang dapat membantu penyembuhan luka.

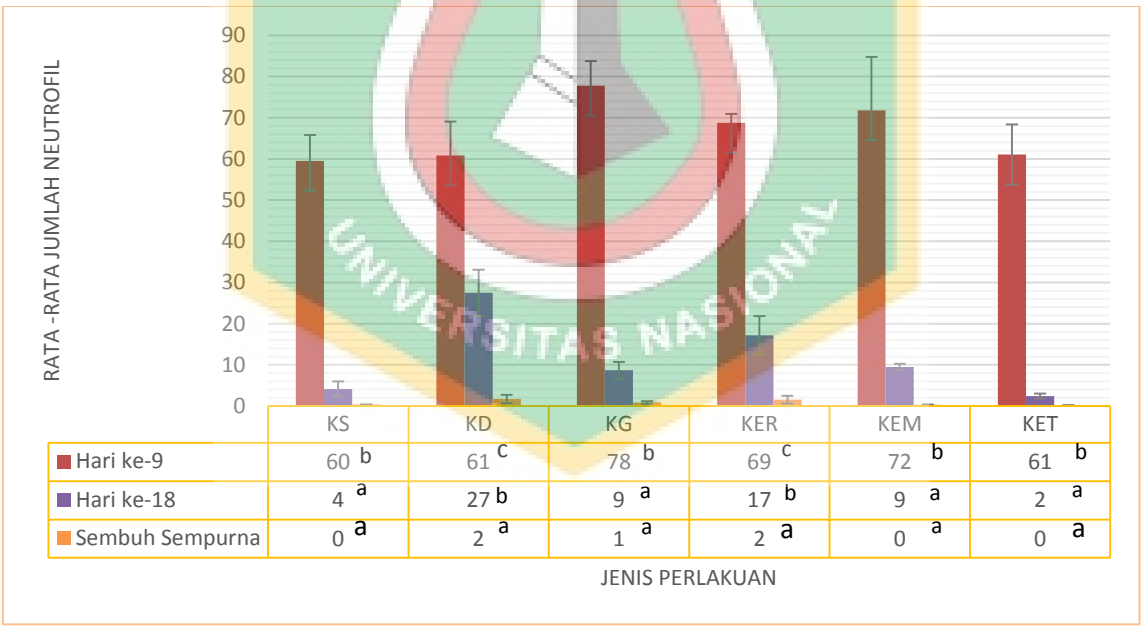
Karbohidrat adalah salah satu zat gizi yang penting untuk memenuhi kebutuhan energi. Karbohidrat membantu untuk memenuhi kebutuhan energi tubuh yang tinggi, yang dapat membantu pergerakan fibroblast dan meningkatkan aktivitas sel darah putih untuk memperkuat respon imun tubuh. Proses penyembuhan luka

membutuhkan energi yang besar untuk perbaikan sel dan jaringan.

B. Efek Pemberian Ekstrak Ikan Bujuk Terhadap jumlah neutrofil dan makrofag jaringan luka

Pada penelitian ini pemberian ekstrak ikan bujuk dilakukan mulai hari ke-1 sampai dengan saat tikus dikorbankan, yaitu pada hari ke 9, 18 dan setelah luka sembuh sempurna. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak ikan bujuk terhadap jumlah neutrofil dan makrofag pada jaringan luka tikus diabetik dilakukan pengamatan secara mikroskopis.

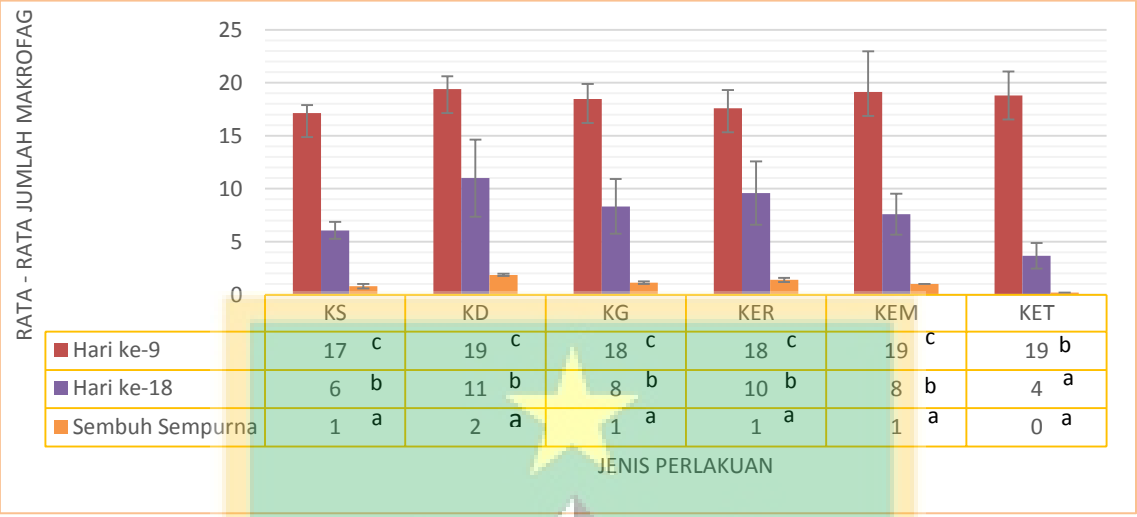
Dari hasil pengamatan yang dilakukan terhadap jaringan luka tampak bahwa untuk semua kelompok, jumlah neutrofil dan makrofag pada hari ke-9 sangat jauh lebih tinggi dibandingkan hari ke-18 dan pada saat luka sudah sempurna. Pada saat luka sembuh sempurna, neutrofil dan makrofag sudah sangat sedikit atau hampir tidak ada lagi di jaringan luka (Gambar 6 dan 7). Gambaran histopatologi jaringan luka disajikan pada Gambar 8-10.



	KS	KD	KG	KER	KEM	KET
Hari ke-9	60 b	61 c	78 b	69 c	72 b	61 b
Hari ke-18	4 a	27 b	9 a	17 b	9 a	2 a
Sembuh Sempurna	0 a	2 a	1 a	2 a	0 a	0 a

Gambar 6. Rata-rata jumlah neutrofil pada jaringan luka tikus.

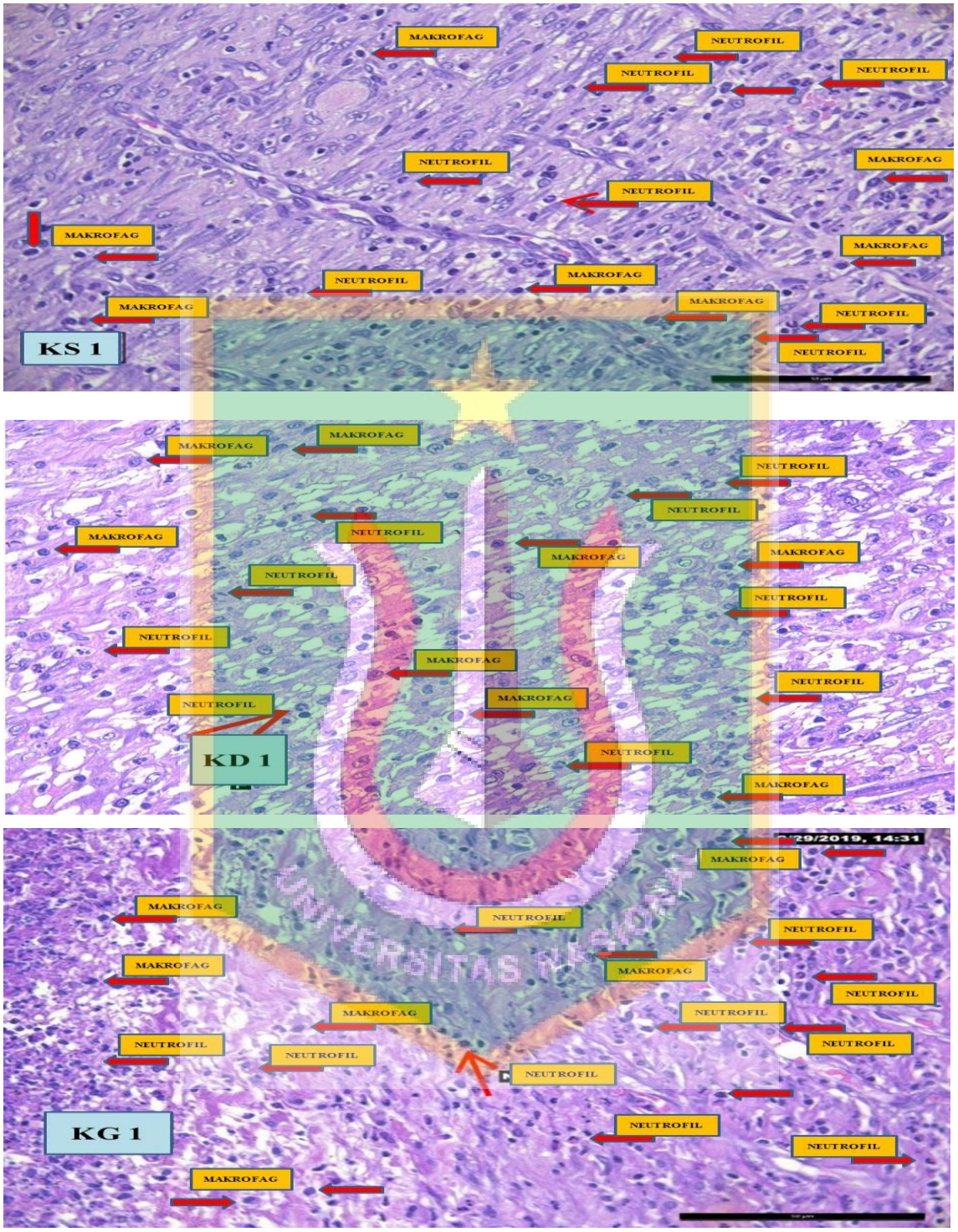
Keterangan:
KS (Kelompok tikus sehat non-diabetik)
KD (Kelompok tikus diabetik)
KG (Kelompok tikus diabetik yang diberi Glibenklamid 5 mg/kg/bb)
KER (Kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak dosis 1,25 g/kg/bb)
KEM (Kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak dosis 2,5 g/kg/bb)
KET (Kelompok tikus diabetik yang diberi ektrak dosis 5 g/kg/bb)



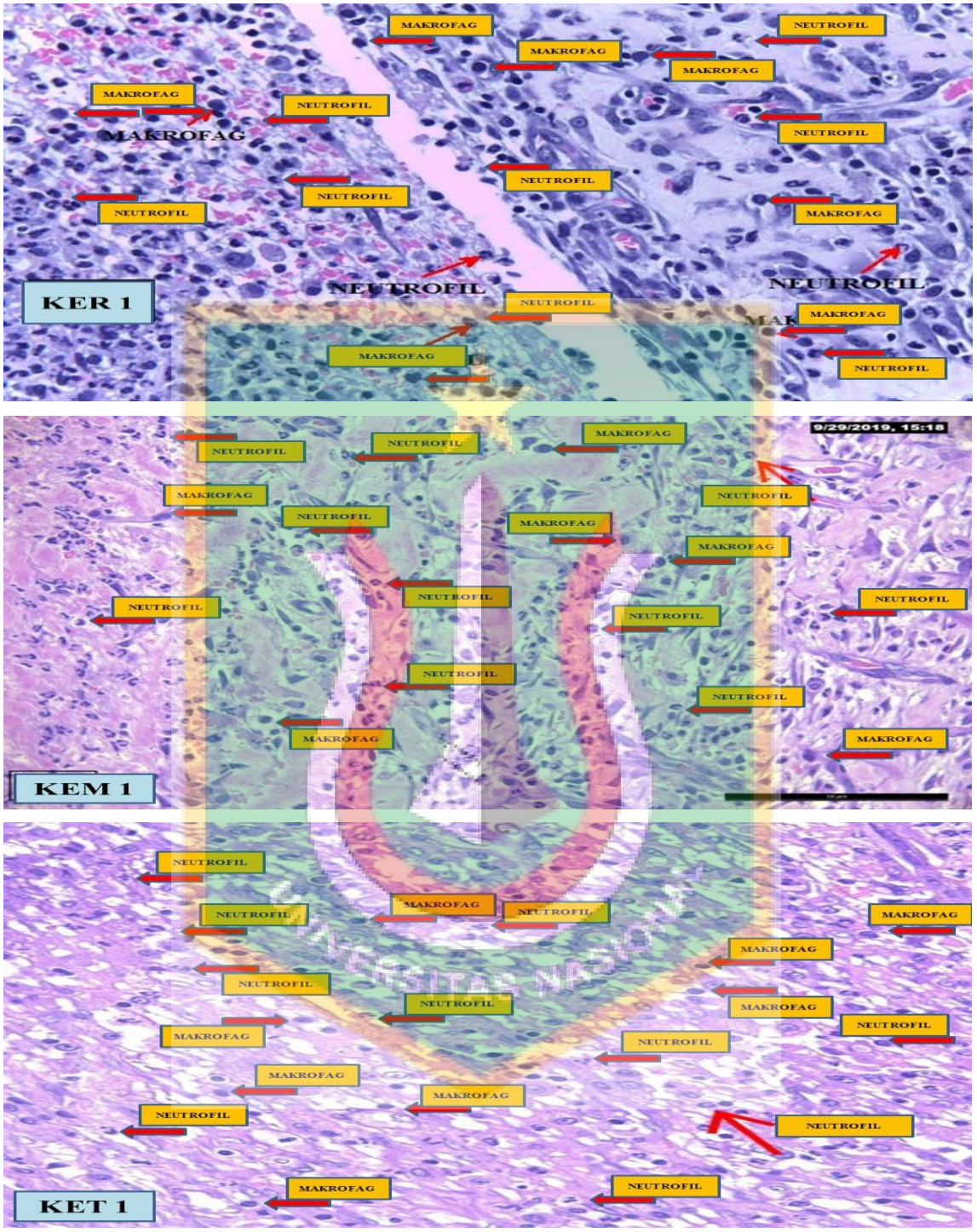
Gambar 7. Rata-rata jumlah makrofag pada jaringan luka tikus

Keterangan:
KS (Kelompok tikus sehat non-diabetik)
KD (Kelompok tikus diabetik)
KG (Kelompok tikus diabetik yang diberi Glibenklamid 5 mg/kg/bb)
KER (Kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak dosis 1,25 g/kg/bb)
KEM (Kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak dosis 2,5 g/kg/bb)
KET (Kelompok tikus diabetik yang diberi ektrak dosis 5 g/kg/bb)

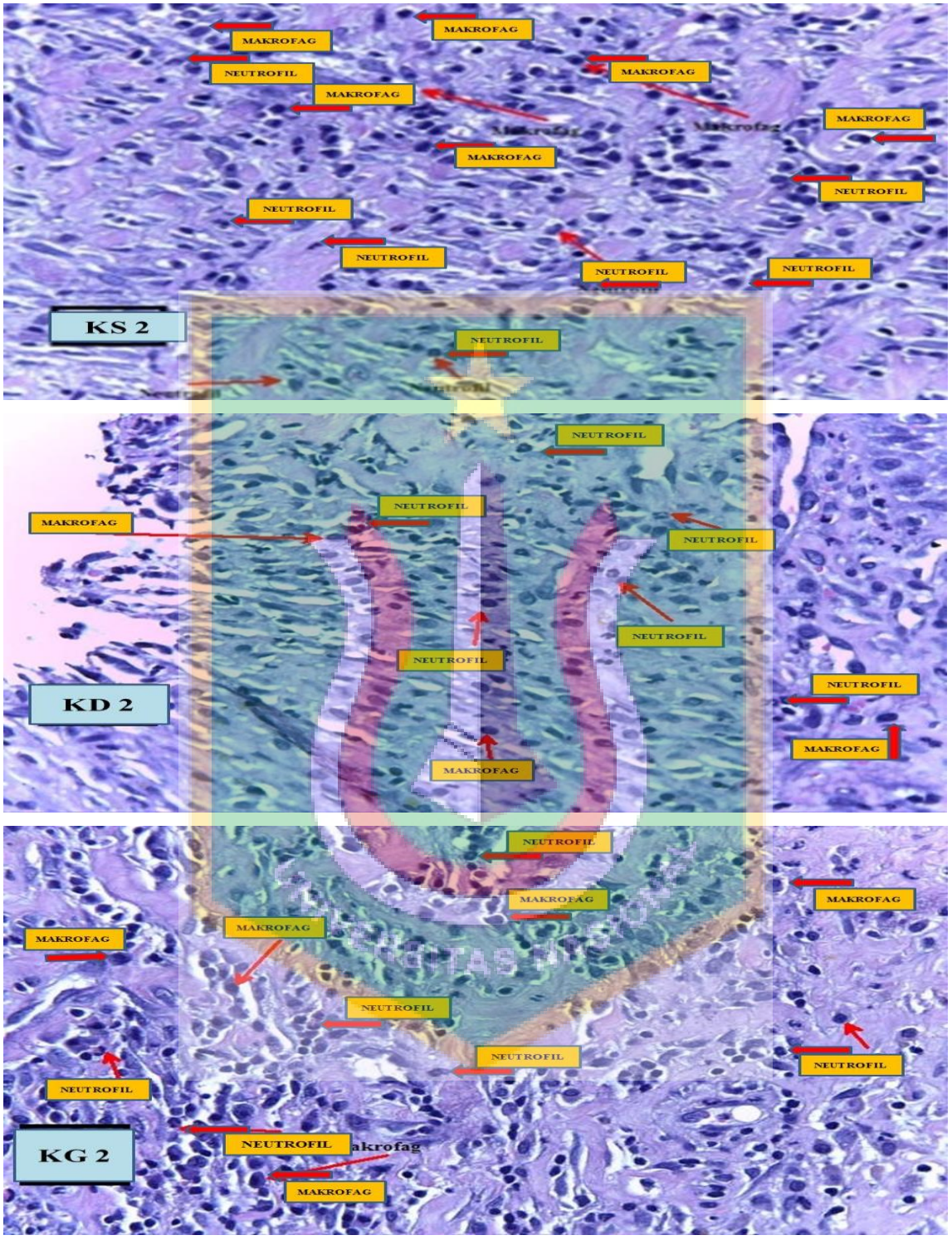
Hasil ini sesuai dengan fase-fase dalam proses penyembuhan luka. Proses penyembuhan luka dapat dibagi menjadi 3 fase, yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase remodeling. Neutrofil dan makrofag adalah sel-sel yang berperan pada fase inflamasi, yaitu fase awal pada proses penyembuhan luka. Setelah homoestasis tercapai, sel neutrofil akan menginvasi daerah radang, kemudian diikuti oleh makrofag, kedua jenis sel ini bekerja menghilangkan semua debris dan bakteri. Neutrofil dan makrofag adalah sel-sel yang pertama kali mencapai daerah luka pada saat proses penyembuhan luka. Fungsi utamanya adalah melawan infeksi dan membersihkan debris matriks seluler dan benda-benda asing. Setelah itu dilanjutkan dengan fase proliferasi yang ditandai dengan pergantian matriks provisional yang didominasi oleh platelet. Pada saat ini, neutrofil dan makrofag secara bertahap digantikan oleh sel-sel fibroblas dan terjadi deposisi sintesis matriks ekstraselular. Oleh sebab itu, makin lanjut proses penyembuhan luka, jumlah neutrofil dan makrofag juga akan makin menurun terus sampai tercapai tahap luka sembuh sempurna.



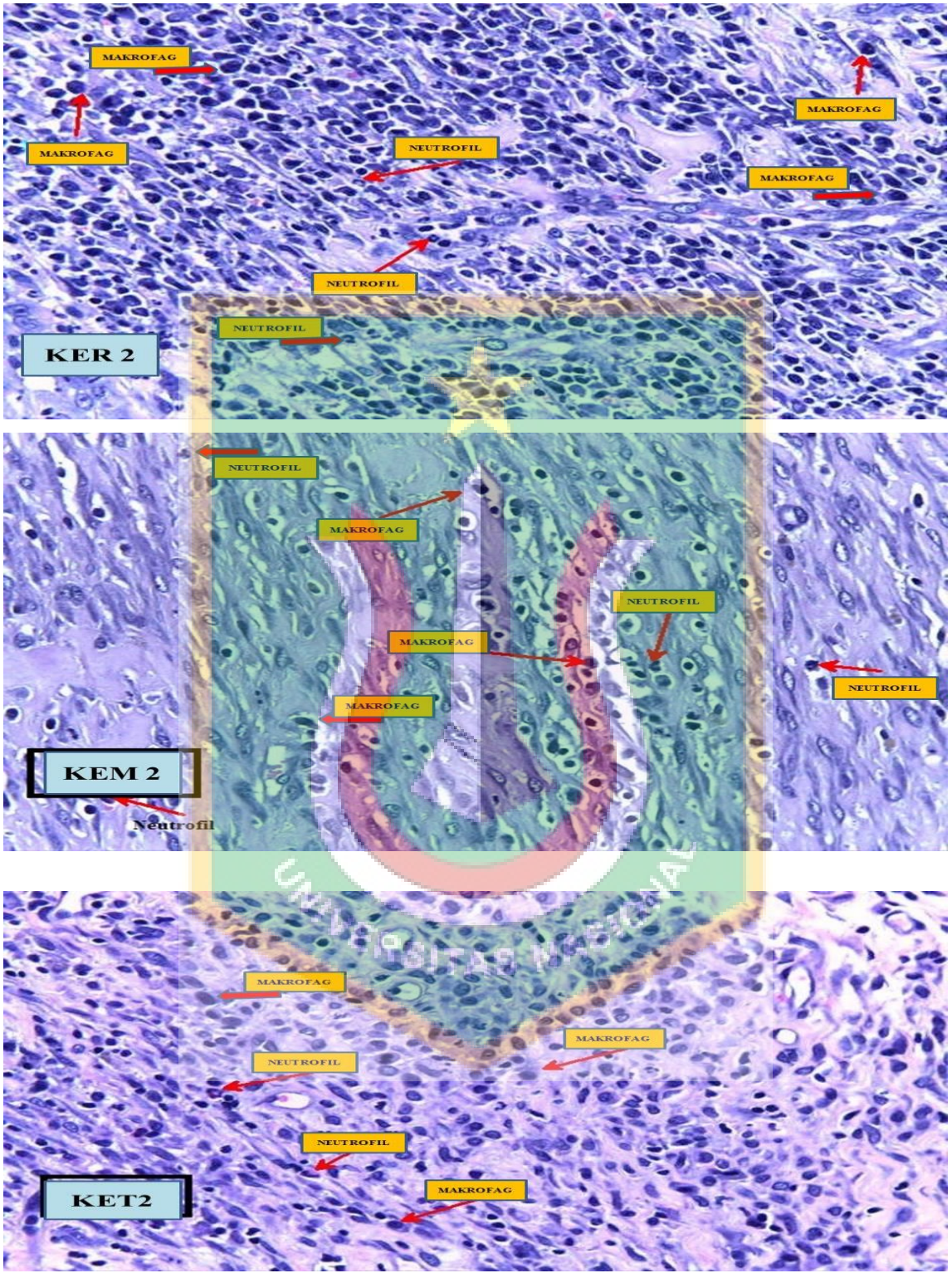
Gambar 8a. Gambaran mikroskopis sel neutrofil dan makrofag 9 hari setelah perlukaan
Keterangan: sama dengan keterangan pada gambar 7



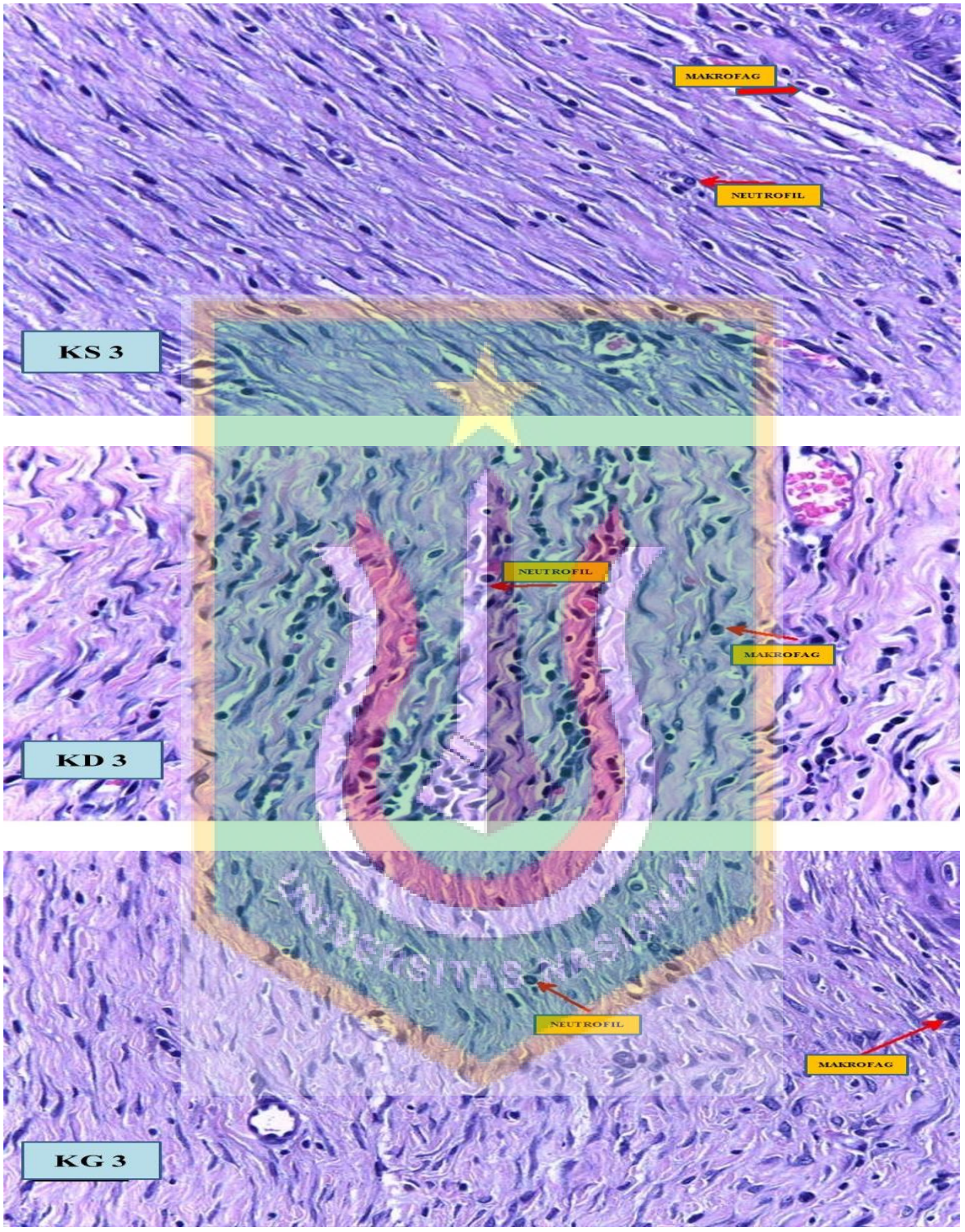
Gambar 8b. Gambaran mikroskopis sel neutrofil dan makrofag 9 hari setelah perlukaan
Keterangan: sama dengan keterangan pada gambar 7



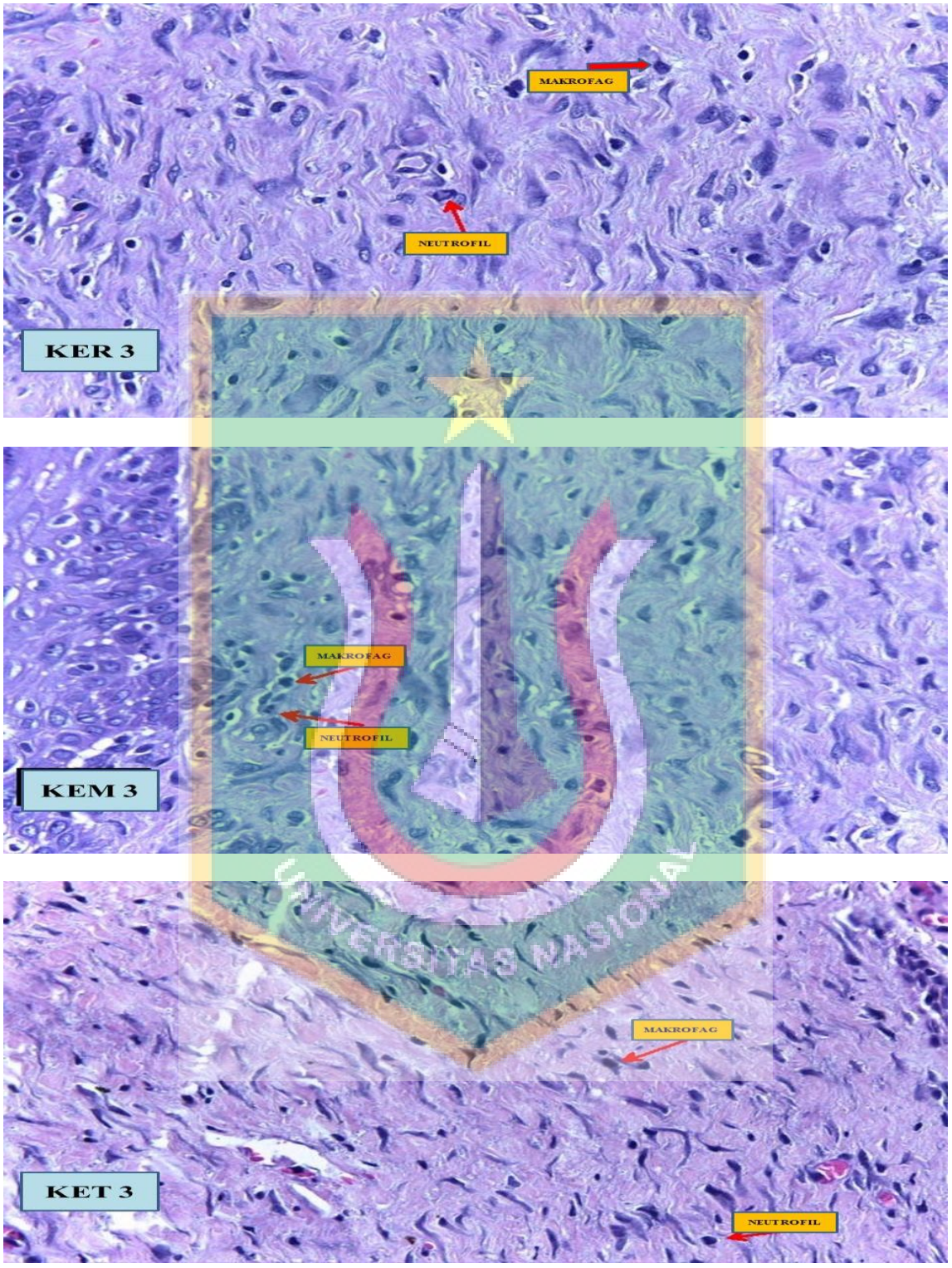
Gambar 9a. Gambaran mikroskopis sel neutrofil dan makrofag 18 hari setelah perlukaan
Keterangan: sama dengan keterangan pada gambar 7



Gambar 9b. Gambaran mikroskopis sel neutrofil dan makrofag 18 hari setelah perlukaan
Keterangan: sama dengan keterangan pada gambar 7



Gambar 10a. Gambaran mikroskopis sel neutrofil dan makrofag setelah luka sembuh sempurna dengan lamanya hari kesembuhan yang berbeda
Keterangan: sama dengan keterangan pada gambar 7



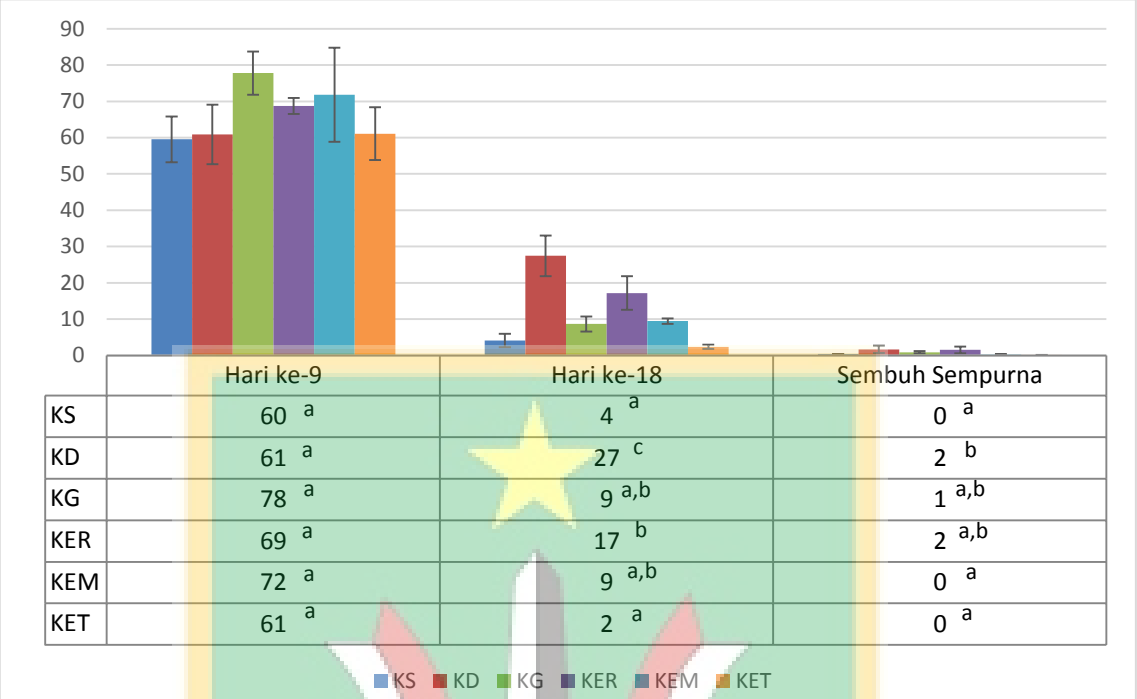
Gambar 10b. Gambaran mikroskopis sel neutrofil dan makrofag setelah luka sembuh sempurna dengan lamanya hari kesembuhan yang berbeda

Keterangan: sama dengan keterangan pada gambar 7

Gambar 6 dan 7 menunjukkan bahwa sel-sel neutrofil dan makrofag lebih tinggi jumlahnya pada semua kelompok di awal penyembuhan (hari ke-9). Jumlah sel-sel neutrofil dan makrofag akan meningkat selama fase inflamasi, dan akan berkurang seiring berjalannya proses penyembuhan luka. Neutrofil dan makrofag adalah sel utama dan penting untuk perbaikan luka. Peran makrofag tidak hanya terbatas pada fagositosis benda-benda asing yang masuk ke dalam tubuh, namun makrofag memiliki peran penting pada proses fibrosis dan angiogenesis. Fibrosis penting agar jaringan dapat pulih dan bertahan terhadap lingkungan luar tubuh. Angiogenesis juga penting karena tanpa adanya pembuluh darah baru nutrisi tidak dapat diperoleh oleh jaringan sehingga jaringan akan mengalami kematian (Budi, et al. 2017; Christina, et al. 2016). Neutrofil yang tersisa akan difagositosis oleh makrofag. Setelah selesai fase inflamasi dilanjutkan fase proliferasi dengan pembentukan jaringan. Fase proliferasi melibatkan pembentukan kembali saluran pembuluh darah, menghasilkan jaringan granulasi, dan epitelisasi permukaan luka. Tahap terakhir adalah fase remodeling, pada fase ini terjadi penurunan jumlah sel makrofag yang cukup banyak.

Pengaruh pemberian ekstrak ikan bujuk terhadap jumlah neutrofil dan makrofag pada proses penyembuhan luka tikus diabetik disajikan pada Gambar 11 dan 12. Pada hari ke-9 tampak jumlah neutrofil rata-rata masing-masing kelompok tikus agak berbeda satu sama lain (Gambar 11). Kelompok tikus yang jumlah neutrofilnya paling tinggi adalah kelompok tikus yang diberi glibenklamid (KG), namun dari hasil uji statistik ternyata tidak ada perbedaan yang signifikan antar jumlah neutrofil pada masing-masing kelompok (Tabel lampiran 4).

Demikian pula untuk jumlah makrofag rata-rata pada hari ke-9 tidak ada perbedaan yang bermakna antar kelompok tikus percobaan. Kelompok tikus yang jumlah makrofagnya paling tinggi adalah kelompok tikus diabetes (KD) yang tidak diberi pengobatan apa pun, namun dari hasil uji statistik ternyata tidak ada perbedaan yang signifikan antar jumlah makrofag pada masing-masing kelompok (Tabel lampiran 6).

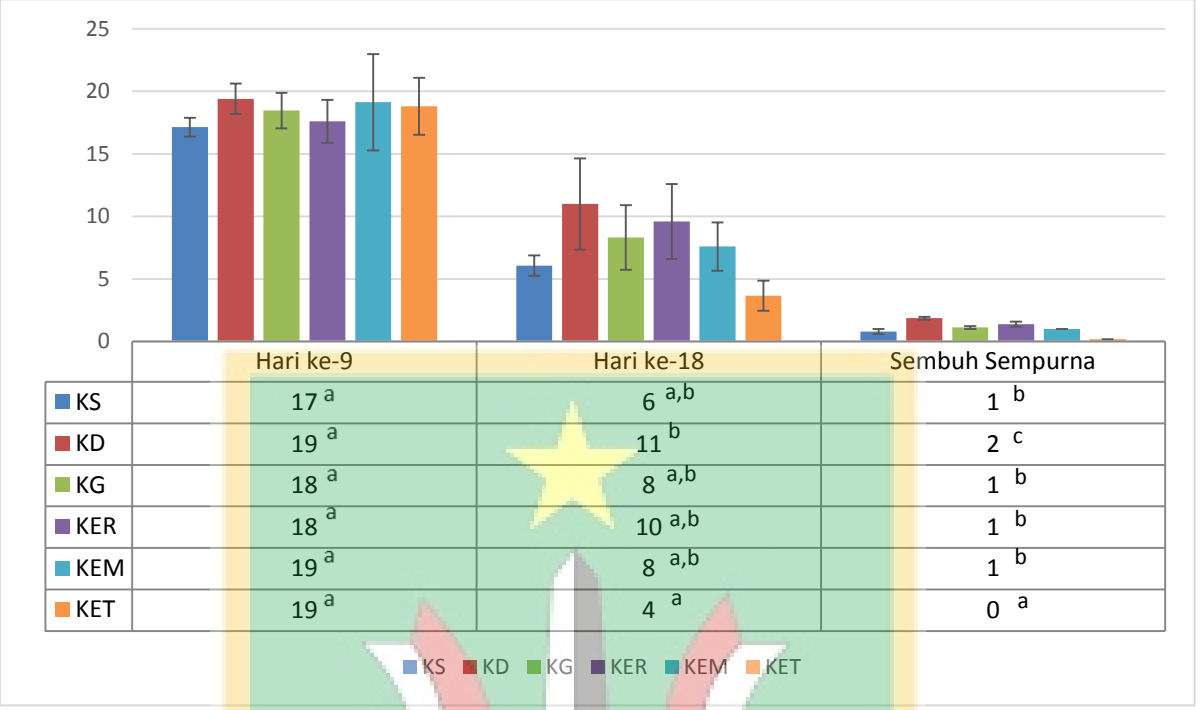


	Hari ke-9	Hari ke-18	Sembuh Sempurna
KS	60 ^{a}	4 ^{a}	0 ^{a}
KD	61 ^{a}	27 ^{c}	2 ^{b}
KG	78 ^{a}	9 ^{a,b}	1 ^{a,b}
KER	69 ^{a}	17 ^{b}	2 ^{a,b}
KEM	72 ^{a}	9 ^{a,b}	0 ^{a}
KET	61 ^{a}	2 ^{a}	0 ^{a}

Gambar 11. Rata-rata jumlah neutrofil pada kulit luka tikus.

Keterangan:
KS (Kelompok tikus sehat non-diabetik)
KD (Kelompok tikus diabetik)
KG (Kelompok tikus diabetik yang diberi Glibenklamid 5 mg/kg/bb)
KER (Kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak dosis 1,25 g/kg/bb)
KEM (Kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak dosis 2,5 g/kg/bb)
KET (Kelompok tikus diabetik yang diberi ektrak dosis 5 g/kg/bb)

Pada hari ke-18 tampak bahwa pemberian ekstrak ataupun glibenklamid menyebabkan adanya perbedaan jumlah neutrofil pada jaringan luka (Gambar 11). Pada hari ke-18, kelompok tikus yang jumlah rata-rata neutrofilnya paling tinggi adalah kelompok tikus diabetik yang tidak diberi pengobatan apapun (KD). Jumlah rata-rata neutrofil kelompok KD secara statistik berbeda nyata dengan semua kelompok yang lain. Pada hari ke-18 ini, kelompok tikus yang jumlah rata-rata neutrofilnya paling rendah adalah kelompok tikus yang diberi ekstrak ikan bujuk sebanyak 5 g/kg/bb (KET) dan kelompok tikus sehat yang tidak diinduksi diabetik (KS). Jumlah neutrofil rata-rata kedua kelompok ini secara statistik tidak berbeda bermakna.



	Hari ke-9	Hari ke-18	Sembuh Sempurna
KS	17 ^{a}	6 ^{a,b}	1 ^{b}
KD	19 ^{a}	11 ^{b}	2 ^{c}
KG	18 ^{a}	8 ^{a,b}	1 ^{b}
KER	18 ^{a}	10 ^{a,b}	1 ^{b}
KEM	19 ^{a}	8 ^{a,b}	1 ^{b}
KET	19 ^{a}	4 ^{a}	0 ^{a}

Gambar 12. Rata-rata jumlah makrofag pada jaringan luka tikus.

Keterangan:
a) KS (Kelompok tikus sehat non-diabetik)
b) KD (Kelompok tikus diabetik)
c) KG (Kelompok tikus diabetik yang diberi Glibenklamid 5 mg/kg/bb)
d) KER (Kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak dosis 1,25 g/kg/bb)
e) KEM (Kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak dosis 2,5 g/kg/bb)
f) KET (Kelompok tikus diabetik yang diberi ektrak dosis 5 g/kg/bb)

Dari Tabel 11 tampak jumlah neutrofil rata-rata kelompok tikus yang diberi glibenklamid (KG) dan ekstrak ikan bujuk dosis 2,5 g/kg/bb (KEM) lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok KS dan KET, namun ternyata secara statistik perbedaan ini tidak bermakna (Tabel lampiran 4). Jumlah neutrofil rata-rata kelompok tikus yang diberi ekstrak ikan bujuk dosis 1,25 g/kg/bb (KER) tampak lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok tikus diabetik yang diberi glibenklamid (KG) ataupun ekstrak dosis 2,5 g/kg/bb (KEM) dan 5 g/kg/bb (KET), namun ternyata secara statistik perbedaan ini tidak bermakna. Namun demikian jumlah neutrofil rata-rata tikus KER berbeda bermakna dengan tikus sehat (KS) dan tikus yang diberi ekstrak dosis 5 g/kg/bb (KET). Walaupun jumlah neutrofil rata-rata kelompok tikus KER tampak hampir mendekati jumlah neutrofil rata-rata kelompok tikus diabetik (KD), namun ternyata antar keduanya terdapat perbedaan yang bermakna.

Demikian pula untuk makrofag, pada hari ke-18 tampak bahwa pemberian ekstrak ataupun glibenklamid sudah memperlihatkan pengaruh (Gambar 12 dan Tabel lampiran 6). Pada hari ke-18, kelompok tikus yang jumlah rata-rata makrofagnya paling tinggi adalah kelompok tikus diabetik yang tidak diberi pengobatan apa pun (KD). Jumlah rata-rata makrofag kelompok KD secara statistik berbeda nyata dengan kelompok tikus yang diberi ekstrak ikan bujuk dosis 5 g/kg/bb (KET), sedangkan kelompok tikus yang jumlah rata-rata makrofag paling rendah adalah kelompok tikus yang diberi ekstrak ikan bujuk dosis 5 g/kg/bb (KET). Jumlah makrofag kelompok KET bahkan lebih rendah dibandingkan dengan kelompok tikus sehat yang tidak diinduksi diabetik (KS), namun perbedaan ini secara statistik tidak berbeda bermakna. Walaupun tampak jumlah makrofag rata-rata kelompok tikus yang diberi glibenklamid (KG) dan ekstrak ikan bujuk dosis 2,5 g/kg/bb (KEM) lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok KS dan KET, namun ternyata secara statistik perbedaan ini tidak bermakna (Tabel lampiran 6). Demikian pula, walaupun jumlah makrofag rata-rata kelompok tikus yang diberi ekstrak ikan bujuk dosis 1,25 g/kg/bb (KER) tampak lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok tikus diabetik yang diberi glibenklamid (KG) ataupun ekstrak dosis 2,5 g/kg/bb (KEM) dan 5 g/kg/bb (KET), namun ternyata secara statistik perbedaan ini tidak bermakna. Jumlah makrofag rata-rata tikus KER tidak berbeda bermakna dengan tikus sehat (KS) dan tikus yang diberi ekstrak dosis 5 g/kg/bb (KET). Jumlah makrofag kelompok tikus (KET) dan jumlah makrofag kelompok tikus diabetik (KD) terdapat perbedaan yang bermakna. Dari hasil ini tampak bahwa dari seluruh tikus percobaan, tikus diabetik yang tidak diberi pengobatan apapun jumlah makrofagnya paling tinggi. Pemberian ekstrak ikan bujuk dosis 1,25-5 g/kg/bb atau pemberian glibenklamid secara signifikan menyebabkan rendahnya jumlah makrofag pada jaringan luka, dan makin besar dosis ekstrak yang diberikan makin rendah jumlah makrofag pada luka tikus.

Dari hasil pengamatan jumlah neutrofil dan makrofag pada hari ke-18 tampak bahwa pemberian ekstrak ikan bujuk menyebabkan rendahnya jumlah neutrofil dan makrofag pada jaringan luka, dan makin besar dosis ekstrak yang diberikan makin sedikit jumlah neutrofil dan makrofag rata-rata pada jaringan luka. Jumlah neutrofil kelompok tikus yang diberi ekstrak ikan bujuk 5 g/kg/bb (KET) secara statistik tidak

berbeda bermakna dengan tikus sehat (KS), dengan perkataan lain pemberian ekstrak ikan bujuk dengan dosis 5 g/kg/bb (KET) sudah dapat menghilangkan efek kondisi diabetik pada penyembuhan luka. Pemberian ekstrak ikan bujuk dengan dosis 5 g/kg/ bb (KET) bahkan membuat jumlah makrofag pada jaringan luka lebih sedikit dibandingkan dengan tikus sehat, walaupun perbedaan ini secara statistik tidak bermakna. Dari hasil penelitian ini juga tampak bahwa pemberian ekstrak ikan bujuk 5 g/kg lebih cepat menurunkan jumlah neutrofil dan makrofag jaringan luka dibandingkan dengan pemberian obat standar antidiabetik, yaitu glibenklamid.

Pada hari semua luka sembuh sempurna terlihat jumlah neutrofil sangat kecil, hampir tidak ada lagi (Gambar 11). Namun demikian hasil statistik menunjukkan bahwa jumlah neutrofil rata-rata kelompok sehat (KS) berbeda nyata dengan kelompok diabetik (KD). Jumlah neutrofil rata-rata kelompok diabetik (KD) tampak paling tinggi dan berbeda nyata dengan kelompok tikus sehat (KS), kelompok tikus diabetik yang diberi ekstrak ikan bujuk 2,5 g dan 5 g/kg/bb. Ini berarti, pada saat luka sudah sembuh sempurna pun masih ada sel-sel neutrofil pada jaringan bekas luka dan tampak ada pengaruh pemberian ekstrak ikan bujuk terhadap jumlah neutrofil pada saat luka sembuh sempurna. Makin besar dosis ekstrak yang diberikan makin rendah jumlah neutrofil rata-rata pada luka tikus, sama dengan efeknya pada jumlah neutrofil pada hari ke-18.

Hal yang sama tampak pada jumlah makrofag, pada saat luka sudah sembuh sempurna jumlah makrofag sudah sangat kecil, hampir tidak ada lagi (Gambar 12). Namun demikian hasil statistik menunjukkan bahwa jumlah makrofag rata-rata kelompok tikus diabetik yang tidak diberi pengobatan apa pun (KD) jauh lebih tingi secara bermakna dibandingkan dengan semua kelompok. Pemberian glibenklamid, obat standar antidiabetik yang masih digunakan sampai saat ini, memberikan efek yang sama atau tidak berbeda secara signifikan dengan ekstrak dosis 1,25 dan 2,5 g/kg/bb. Jumlah makrofag ketiga kelompok ini (KG, KER, dan KEM) tidak berbeda signifikan dengan kelompok tikus sehat non-diabetik (KS). Pemberian ekstrak dosis 5 g/kg/bb (KET) bahkan menyebabkan jauh lebih rendahnya jumlah makrofag di jaringan luka, dan perbedaan ini secara statistik signifikan.

Sebagaimana yang sudah disampaikan, proses penyembuhan luka diawali oleh

fase inflamasi yang ditandai dengan adanya peningkatan aliran darah dan permeabilitas kapiler darah diikuti dengan vasodilatasi. Hal ini memungkinkan leukosit fagositik seperti neutrofil dan makrofag serta platelet dan limfosit T bermigrasi ke tempat luka (Agustin, et al. 2016). Dibuktikan dengan hasil pengamatan mikroskopis pada hari ke 9 proses penyembuhan luka (Gambar 8a & 8b), pada jaringan luka semua kelompok tikus percobaan terlihat adanya sel-sel neutrofil dan makrofag yang sangat banyak, yang pada hari ke-18 sudah menurun dengan drastis, dan makin menurun sehingga mendekati nol pada saat luka sudah sembuh sempurna. Dengan demikian, makin sembuh luka, maka jumlah netrofil akan makin sedikit.

Dari hasil penelitian ini tampak bahwa untuk hari ke-9 jumlah neutrofil masih banyak, tetapi tidak ada perbedaan antara kelompok yang diberi ekstrak ikan bujuk dan yang tidak diberi ekstrak ikan bujuk. Pada hari ke-18 jumlah neutrofil sudah sangat menurun, tetapi ada perbedaan bermakna jumlah neutrofil kelompok yang diberi ekstrak ikan bujuk dengan yang tidak diberi ekstrak ikan bujuk. Apabila dikaitkan dengan hari sembuh sempurna, yaitu kelompok KS pada hari 21, KD pada hari ke-33, KG pada hari ke-24, KER pada hari 27, KEM pada hari ke-21, dan KET pada hari ke-21, dapat dinyatakan bahwa jumlah netrofil yang jauh lebih rendah pada kelompok KS dan KET pada hari ke-18 disebabkan oleh fase penyembuhan luka yang sudah hampir mendekati sembuh sempurna, sehingga jumlah netrofil pada jaringan luka jumlahnya sudah sedikit. Demikian pula jumlah neutrofil yang masih banyak pada kelompok KD, besar kemungkinan karena proses penyembuhan lukanya masih belum mendekati sembuh sempurna. Luka tikus kelompok KD baru sembuh sempurna pada hari ke-33. Dengan demikian dapat disampaikan bahwa makin sedikitnya jumlah neutrofil dengan pemberian ekstrak yang dosisnya makin besar belum tentu merupakan efek langsung pemberian ekstrak ikan bujuk terhadap jumlah neutrofil, tetapi kemungkinan ekstrak ikan bujuk mempercepat penyembuhan luka dengan mekanisme yang belum diketahui, sehingga dengan makin sembuhnya luka jumlah neutrofil pada jaringan luka semakin sedikit.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh para peneliti lain menunjukkan hasil yang serupa dengan hasil yang diperoleh dalam penelitian ini. Suharto *et al.* (2017)

melaporkan bahwa pemberian ekstrak jahe *per oral* pada tikus putih yang menderita luka insisi juga menurunkan jumlah neutrofil pada jaringan luka yang diamati pada hari ke-1, ke-5, dan ke-10. Demikian pula Dewi et al. (2016) melaporkan bahwa pemberian ekstrak cumi (*Loligo sp.*) per oral juga menurunkan jumlah neutrofil pada jaringan luka tikus diabetik yang diamati pada hari ke-14. Santoso (2017) melaporkan bahwa pemberian krim ekstrak ikan kutuk (*Chana striata*) menurunkan jumlah makrofag pada jaringan luka tikus putih. Penelitian yang dilakukan oleh Silalahi dan Khoiri (2018) juga mendapatkan bahwa pemberian gel ekstrak ikan gabus (*Chana striata*) menurunkan jumlah sel makrofag.

UNIVERSITAS NASIONAL

BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak daging ikan bujuk (*Channa lucius*) yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kandungan zat-zat yang diperlukan untuk mempercepat proses penyembuhan luka diabetik yaitu protein total (74,28%), albumin (26,20 mg/dl), karbohidrat (4,30%), lemak (5,73%) dan Zn (6,69 mg/kg).
2. Pemberian ekstrak daging ikan bujuk menurunkan jumlah neutrofil dan makrofag pada jaringan luka, yang dalam penelitian ini sangat nyata terlihat pada hari ke-18.

B. Saran

Setelah dilakukan penelitian ini, maka disarankan beberapa hal sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak ikan bujuk terhadap jumlah neutrofil dan makrofag jaringan luka pada tahap penyembuhan luka yang lebih awal dari hari ke-9, karena ada kemungkinan pada hari ke 2 - 6 dapat terlihat lebih nyata pengaruh pemberian ekstrak ikan bujuk terhadap jumlah neutrofil dan makrofag jaringan luka.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan mengamati jaringan luka secara mikroskopis untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daging ikan bujuk terhadap angiogenesis, kerapatan serabut kolagen dan faktor-faktor lain yang mempengaruhi penyembuhan luka.

UNIVERSITAS NASIONAL

DAFTAR PUSTAKA

Adinortey MB, Agbeko R, Boison D, *et al.* 2019. Phytomedicines Used for Diabetes Mellitus in Ghana: A Systematic Search and Review of Preclinical and Clinical Evidence. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.*4:4-6.

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: 50-8

Agustin R, Nurdiana D, and Suka DR. 2016. Efektivitas Ekstrak Ikan Haruan (*Channa Striata*) Dan Ibuprofen Terhadap Jumlah Sel Neutrofil Pada Proses Penyembuhan Luka Studi in Vivo pada Mukosa Bukal Tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar. Dentino 1(1):68-74.

Azrita, Hafrijal S, 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.

Budi HS, Soesilowati P, Imanina Z. 2017. Gambaran histopatologi penyembuhkan luka pencabutan gigi pada makrofag dan neovaskular dengan pemberian getah batang pisang ambon. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia* 3: 3-9.

Budiyanto MAK. 2011. Penyembuhan Luka Decubitus pada Tikus Putih. *Farmasains: Jurnal Farmasi dan Ilmu Kesehatan* 1 4:2-8

Christina, Barnabas BH, *et al*. 2016 Peran Monosit (Makrofag) pada Proses Angiogenesis dan Fibrosis. Prosiding Seminar Nasional Cendekiawan.

Dewi, Kadek NP, Heri K, *et al*. 2016 The Effect of Squid Extract (*Loligo Sp*) on TNF-α and TGF-β1 Serum Levels during Wound Healing in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. Makara Journal of Health Research:73-78.

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

Gautam MK, Purohit V, Agarwal M, *et al.* 2014. In vivo healing potential of Aegle marmelos in excision, incision, and dead space wound models. *ScientificWorldJournal* 2014: 740107

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

Kale E, Akoit E. 2015. Analisis Risiko Luka Kaki Diabetik pada Penderita DM di Poliklinik DM dan Penyakit Dalam. *Jurnal Info Kesehatan* 14: 1007-17

Lin P-H, Sermersheim M, Li H, *et al.* 2018. Zinc in wound healing modulation. *Nutrients* 10: 16

Merlot AM, Kalinowski DS, Richardson DR. 2014. Unraveling the mysteries of serum albumin—more than just a serum protein. *Frontiers in physiology* 5: 299

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

Nagar HK, Srivastava AK, Srivastava R, *et al.* 2016. Pharmacological Investigation of the Wound Healing Activity of Cestrum nocturnum (L.) Ointment in Wistar Albino Rats. *J Pharm (Cairo)* 2016: 9249040

Niwanggalih, *et al*. 2014. Pengaruh Ekstrak Kulit Semangka (*Citrullus Lanatus (Thunb*) terhadap Jumlah Neutrofil pada Radang Luka Gores Mencit (*Mus musculus*) Jantan BALB/c dan Pemanfaatannya sebagai Karya Ilmiah Populer.

Primadina N, Basori A, Perdanakusuma DS. 2019. Proses Penyembuhan Luka Ditinjau dari Aspek Mekanisme Seluler dan Molekuler. *Qanun Medika-Medical Journal Faculty of Medicine Muhammadiyah Surabaya* 3: 31-43

Rahmawati S. 2019. Efek Pemberian Ekstrak Daging Ikan Bujuk (*Channa Lucius*) Terhadap Penyembuhan Luka Diabetik Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus L.)*. *Skripsi*. Universitas Nasional

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

Santoso, Maria YKP. 2017. Pengaruh pemberian krim ekstrak ikan kutuk (*Channa striata*) terhadap jumlah makrofag, neutrofil, dan panjang luka pada tikus putih dengan luka insisi, Widya Mandala Catholic University Surabaya.

Silalahi, Amalia K. 2018. Efek Gel Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) Terhadap Jumlah Sel Makrofag Pasca Gingivektomi pada Tikus Wistar Jantan. *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara.

Sinaga E. 2018. Jenis-jenis ikan marga Channa di Indonesia. Universitas Nasional. Jakarta

Sinaga E, Suprihatin, Istiqomah F. 2019. Efektifitas Suplementasi Ekstrak Daging Ikan Bujuk Channa lucius dalam Mempercepat Penyembuhan Luka Diabetik. Majalah Farmasetika 4 (Suppl 1), 195-200.

Suharto, Idola, Kun R, *et al*. 2017 The Effect of Ginger (*Zingiber Officinale Roscoe*) Extract to the Number of Neutrophil Cell in Incision Wound of White Rats (*Rattus Norvegicus*). Health Science International Conference (HSIC 2017).Atlantis Press.

Syafrialdi, Rini H, Budiyono. 2017. Pengaruh Musim Terhadap Komposisi Jenis dan Struktur Komunitas Ikan di Perairan Batang Bungo Kabupaten Bungo, Provinsi Jambi

Taverna M, Marie A-L, Mira J-P, *et al.* 2013. Specific antioxidant properties of human serum albumin. *Annals of intensive care* 3: 4

Tuhin RH, Begum MM, Rahman MS, *et al.* 2017. Wound healing effect of Euphorbia hirta linn. (*Euphorbiaceae*) in alloxan induced diabetic rats. *BMC Complement Altern Med* 17: 423

WHO. 2016. Global Report on Diabetes.

Wijonarko B, Anies A, Mardiono M. 2016. Efektvitas Topikal Salep Ekstrak Binahong (*Anredera Cordifolia (Tenore) Steenis*) terhadap Proses Penyembuhan Luka Ulkus Diabetik pada Tikus Wistar (*Rattus Novergicus*). *Jurnal Ilmiah Kesehatan* 9

Winarsih W, Wientarsih I, 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: 242-50

Zandifar E, Sohrabi Beheshti S, Zandifar A, *et al.* 2012. The effect of captopril on impaired wound healing in experimental diabetes. *Int J Endocrinol* 2012: 785247

Zaili I, 2019. Efektivitas suplementasi ekstrak ikan bujuk *(Channa lucius)* dalam penyembuhan luka pada tikus putih. *Skripsi.* Universitas Nasional