

- *Achatina fulica*
- *Wound Healing*

**PEMBERIAN EKSTRAK LENDIR BEKICOT (*Achatina fulica*)
ISOLAT LOKAL KEDIRI TERHADAP JUMLAH SEL EPITEL
BASALIS LUKA PADA TIKUS PUTIH *STRAIN WISTAR***

SKRIPSI



Oleh :

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

DINA KARIMAH PUTRI
020710142

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA BHMN
SURABAYA
2010**

LEMBAR PENGESAHAN

**PEMBERIAN EKSTRAK LENDIR BEKICOT (*Achatina fulica*)
ISOLAT LOKAL KEDIRI TERHADAP JUMLAH SEL EPITEL
BASALIS LUKA PADA TIKUS PUTIH *STRAIN WISTAR***

SKRIPSI

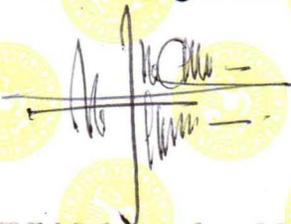
Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat untuk Menyelesaikan
Pendidikan Dokter Gigi di Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Airlangga Surabaya

Oleh :

DINA KARIMAH PUTRI
020710142

Menyetujui / Mengetahui,

Pembimbing Utama



(Edhi Jularso, drg., MS.)
NIP. 195607291981031004

Pembimbing Serta



(Dr. Titiek Berniyanti, drg., MKes.)
NIP. 195810201989022001

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA BHMN
SURABAYA
2010

PENETAPAN PANITIA PENGUJI SKRIPSI

SKRIPSI ini telah diuji pada tanggal 30 Desember 2010

PANITIA PENGUJI SKRIPSI

1. Dr. Indah Listiana K., drg., M.Kes (ketua penguji)
2. Edhi Jularso, drg., MS.(pembimbing utama/anggota)
3. Dr. Titiek Berniyanti, drg., M.Kes. (pembimbing serta/anggota)
4. Prof. Dr. Jenny Sunariani, drg., MS. (anggota)
5. Sidarningsih, drg., M.Kes. (anggota)

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kepada Allah SWT, karena atas rahmat dan karuniaNya saya dapat menyelesaikan skripsi tepat pada waktunya. Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar sarjana.

Skripsi ini mengambil bidang kajian Biologi Oral bagian Patologi Anatomi dengan judul “Pemberian Ekstrak Lendir Bekicot (*Achatina fulica*) isolat lokal Kediri terhadap Jumlah Sel Epitel Basalis Luka pada Tikus Putih *Strain Wistar*”

Saya ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah banyak membantu terselesaikannya skripsi ini. Dalam kesempatan ini, saya ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. RM. Coen Pramono D., drg., SU, Sp. BM (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberi kesempatan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
2. Prof. Dr. Jenny Sunariani, drg., MS selaku Kepala Departemen Biologi Oral yang telah memberi ijin untuk pembuatan skripsi.
3. Edhi Jularso, drg., MS selaku dosen pembimbing I atas bimbingan, masukan serta arahan yang telah diberikan sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Dr. Titiek Berniyanti, drg., M. Kes selaku dosen pembimbing II atas saran, kritik, ide, dan ilmu sehingga telah banyak membantu terselesaikannya skripsi ini.

5. Prof. Dr. Jenny Sunariani, drg., MS, Dr. Indah Listiana K., drg., M.Kes, dan Sidarningsih, drg., M.Kes. selaku dosen penguji atas segala kritikan, dan saran yang membangun.
6. Devi Rianti, drg., M.Kes yang telah bersedia meminjamkan timbangan digital sehingga saya bisa menyelesaikan skripsi dengan lancar.
7. Joni Susanto, dr., M.Kes, PA selaku staf pengajar Departemen Anatomi dan Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah meminjamkan mikroskop dan membimbing saya dalam mengamati preparat.
8. Adi Hapsoro, drg., M.Kes yang telah membantu saya dalam hal statistik.
9. Drs. M. Fatoni, MS selaku peneliti laboratorium kimia Balai Penelitian dan Konsultasi Industri Surabaya yang telah membantu saya dalam mengekstrak lendir bekicot dan menghitung kadar protein ekstrak tersebut.
10. Pak Heri selaku staf laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah membantu saya dalam melakukan penelitian pada hewan coba dan telah memelihara hewan coba saya dengan baik.
11. Pak Eko beserta kru di bagian laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang telah membantu dalam pembuatan preparat histologis.
12. Keluarga besar saya di rumah, Mama, Papa, Ria, Kiki yang telah banyak memberi dorongan dan semangat serta doa agar skripsi ini cepat selesai dengan baik sehingga saya cepat lulus sarjana dan melanjutkan profesi. Saya sayang kalian semua.

13. Pelangi-pelangiku yang selalu memberi warna hari-hariku, menemani saat senang dan sedih, selalu menjadi pendengar yang baik di setiap ceritaku, wahai sahabat-sahabatku, Evi, Adel, Arkki, Metha, dan Icha..Bestfriends forever. Juga untuk Kay, terimakasih atas semua bantuannya tenaga maupun pikiran selama ini. Maaf kalau aku ada salah. Eva makasi uda bantuin waktu pengamatan mikroskop dan sudah mengajarkan SPSS.

14. Segenap dosen dan karyawan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya serta teman-teman yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu.

Saran dan kritik saya harapkan agar skripsi ini dapat memberi manfaat bagi semua pihak yang memerlukan.

Surabaya, Desember 2010

Penulis

ABSTRACT

Background: *Acharan sulfate, a new glycosaminoglycan isolated from the giant snail, Achatina fulica which is from Kediri, East Java, Indonesia, play a big role in wound healing process, because it can promote re-epithelialization. In dentistry, there are many problems or treatments which is related to injuries, such as injury after tooth extraction, after scalling, traumatic injuries, stomatitis, lesions in oral mucous, etc. Because of this problems, this study may be able to prove these effect, so it can be developed as an alternative therapy for injuries in oral mucous.* **Purpose:** *The aim of this study is to prove that extract of snail mucous (Achatina fulica) which is locally isolated from Kediri will increase the number of basal epithelial cells of the wound incision in the back of white male rats of wistar strain.* **Method:** *This research was done by in-vivo experimental laboratoris, using 14 white male rats of wistar strain that given an incision injury with a length of ± 2 cm and depth of ± 2 mm in the back of the experimental animals. They were divided into two treatment groups, that are group 1, incision wounds were given saline solution as group control and group 2, incision wounds were given extract of snail mucous (Achatina fulica) with protein (crude acharan sulfate) level is 86,74 % . This treatment both are given 3 ml once a day for five days. On sixth day doing a biopsy to make a histological specimens of back skin of the rats, then evaluate microscopically to account the number of basal epithelial cells of the wound incision in the back of white male rats of wistar strain. And then doing statistical analysis with independent samples t-test with $\alpha = 0,05$.* **Results:** *There were a significant differences between two treatment group, that are the number of basal epithelial cells in control group and extract group ($p < 0,05$).* **Conclusion:** *Extract of snail mucous (Achatina fulica) with protein (crude acharan sulfate) level is 86,74 % increase the number of basal epithelial cells of the wound incision in the back of white male rats of wistar strain.*

Key words: *Wound healing, Re-epithelialization, Achatina fulica, Acharan sulfate, Snail mucous*

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL DALAM	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PENETAPAN PANITIA PENGUJI	iii
UCAPAN TERIMA KASIH	iv
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	4
I.3 Tujuan Penelitian	4
I.3.1 Tujuan Umum	4
I.3.2 Tujuan Khusus	4
I.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Bekicot Tanah (<i>Achatina fulica</i>).....	5
II.1.1 Klasifikasi	5
II.1.2 Morfologi dan Ekologi	6
II.1.2.1 Bagian luar (cangkang)	8
II.1.2.2 Bagian dalam	9
II.1.3 Kandungan <i>Achatina fulica</i>	10

II.1.4	Khasiat <i>Achatina fulica</i>	15
II.2	Penyembuhan Luka	18
II.2.1	Tahapan Penyembuhan Luka.....	19
II.2.2	Klasifikasi Penyembuhan Luka.....	27
II.3	Peran Glikosaminoglikan dalam Penyembuhan Luka.....	28
II.4	Struktur Kulit dan Mukosa Rongga Mulut.....	29
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL		31
III.1	Kerangka Konseptual	31
III.2	Hipotesa Penelitian	32
BAB IV METODE PENELITIAN		33
IV.1	Jenis Penelitian	33
IV.2	Lokasi Penelitian	33
IV.3	Variabel Penelitian	33
IV.4	Definisi Operasional	34
IV.5	Kriteria dan Besar Sampel.....	35
IV.6	Alat dan Bahan	36
IV.7	Tahapan Kerja	38
IV.7.1	Persiapan Binatang Coba	38
IV.7.2	Isolasi Lendir Bekicot (<i>Achatina fulica</i>).....	39
IV.7.3	Penghitungan Kadar Ektrak Lendir Bekicot Presipitasi Ethanol....	40
IV.7.4	Perlakuan	42
IV.7.4.1	Metode Pembuatan Luka.....	42
IV.7.4.2	Cara Perlakuan	42
IV.8	Teknik Penghitungan Jumlah Sel Epitel Jaringan Luka.....	44

IV.9	Analisis Data	44
IV.10	Alur Penelitian	46
BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA		47
V.1	Hasil Penelitian	47
V.1.1	Isolasi Lendir Bekicot	47
V.1.2	Perlakuan pada Tikus Putih Jantan <i>strain wistar</i>	50
V.1.2.1	Tahap Perlakuan	50
V.1.2.2	Tahap Pemberian Perlakuan	51
V.1.2.3	Evaluasi Makroskopis	51
V.1.2.4	Tahap Persiapan Jaringan untuk Pembuatan Preparat Histologi	52
V.1.2.5	Evaluasi Mikroskopis	53
V.1.3	Hasil Penghitungan Jumlah Sel Epitel Basalis Luka	55
V.2	Analisis Hasil Penelitian	56
V.2.1	Uji Homogenitas Varian	56
V.2.2	Uji Distribusi Data	57
V.2.3	Uji <i>independent samples t-test</i>	57
BAB VI PEMBAHASAN		58
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN		65
VII.1	Kesimpulan	65
VII.2	Saran	65
DAFTAR PUSTAKA		66
LAMPIRAN		

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Perbedaan bentuk dan corak cangkang bekicot *Achatina variegata* dan *Achatina fulica* 6

Gambar 2.2 Struktur tubuh bekicot 8

Gambar 2.3 Struktur kimia *Acharan sulfata*..... 14

Gambar 2.4 Tahapan penyembuhan luka21

Gambar 2.5 Epitel berlapis pipih29

Gambar 2.6 Struktur lapisan kulit30

Gambar 4.1 Kandang tikus putih jantan *strain wistar*..... 38

Gambar 5.1 Bekicot *Achatina fulica*47

Gambar 5.2 Merangsang permukaan tubuh bekicot dengan *electric shock*.....48

Gambar 5.3 Padatan kecoklatan (granula) dari ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*)49

Gambar 5.4 Tahap perlukaan tikus putih jantan *strain wistar*..... 50

Gambar 5.5 Luka tikus ditutup kasa steril dan plester..... 51

Gambar 5.6 Gambaran makroskopis pada hari ke-3..... 51

Gambar 5.7 Gambaran makroskopis pada hari ke-5..... 52

Gambar 5.8 Tahap persiapan jaringan untuk preparat histologi..... 53

Gambar 5.9 Gambaran mikroskopis kelompok kontrol..... 54

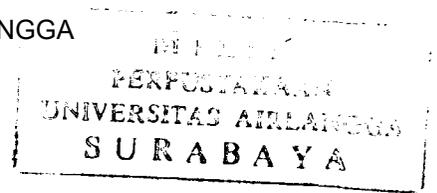
Gambar 5.10 Gambaran mikroskopis kelompok perlakuan.....54

Gambar 5.11 Hasil penghitungan jumlah sel epitel basalis luka dengan menggunakan program *Image Tool* dari komputer..... 55

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi kimia bekicot (<i>Achatina fulica</i>) (%).....	10
Tabel 2.2 Komposisi kimia tepung bekicot (<i>Achatina fulica</i>) (%).....	11
Tabel 2.3 Komposisi asam amino daging bekicot, telur ayam ras, dan telur ayam lokal (gram/100 gram bahan berat kering).....	11
Tabel 2.4 Substansi matriks dan seluler yang berperan dalam fase akhir respon inflamasi dan awal fase granulasi.....	23
Tabel 5.1 Pembagian berat dan pengenceran ekstrak lender bekicot (<i>Achatina fulica</i>)	49
Tabel 5.2 Jumlah sel epitel basalis pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan beserta nilai uji statistiknya.....	56

BAB I
PENDAHULUAN



BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Luka adalah kerusakan pada jaringan tubuh oleh karena adanya suatu jejas atau trauma yang menyebabkan gangguan kontinuitas yang normal dari struktur jaringan (Sjamsuhidajat, 2004). Pada bidang kedokteran gigi seringkali dilakukan tindakan perawatan kesehatan gigi dan mulut yang berkaitan dengan luka, seperti pencabutan gigi, *scaling*, sariawan dan sebagainya. Dalam aspek klinis, proses penyembuhan luka dititik beratkan pada subyektivitas penderita yaitu tidak adanya keluhan rasa nyeri, serta pemeriksaan intra oral yaitu terjadinya epitelisasi pada permukaan daerah bekas luka yang sebelumnya didahului peradangan dan proliferasi fibroblast (Amler dalam Kusumawati, 2006).

Achatina fulica, atau yang biasa disebut dengan nama bekicot tanah merupakan hewan yang dapat ditemui di mana saja dan hingga saat ini masih menjadi konsumsi masyarakat Indonesia yang disajikan dalam bentuk keripik. (Berbudi, 2009). Bekicot jenis ini telah ditetapkan oleh Pemerintah Provinsi Jawa Timur sebagai maskot (fauna identitas/khas) untuk kota Kediri (Alamendah, 2010). Secara empiris, hewan ini dianggap berkhasiat baik dagingnya maupun lendirnya. Secara turun-temurun oleh nenek moyang kita digunakan sebagai obat penyembuh luka ringan, penyakit kuning (*Jaundice*), penyakit kulit seperti gatal-gatal, serta lendirnya dapat mengobati sakit gigi dengan cara lendir bekicot dengan bantuan kapas ditempelkan pada gigi yang sakit, sehingga ada anggapan

lendir bekicot dapat berkhasiat sebagai penghilang nyeri (analgetik) (Anonim A, 2000).

Di dalam lendir bekicot jenis *Achatina fulica* ini terdapat suatu glikosaminoglikan yang disekresi dari butir-butir di dalam tubuh bekicot yang terletak di permukaan terluar, sebagai hasil dari paparan *stress* pada bekicot (Rosaceabalm, 2009). Kandungan ini disebut *acharan sulfate* yang mengandung sebagian besar unit disakarida berulang dari $\rightarrow 4$ -2-acetamido-2-deoxy- α -D-glucopyranose(1 \rightarrow 4)-2-sulfo- α -L-idopyranosyluronic acid(1 \rightarrow (GlcNAc-IdoA2SO₃⁻) (Joo EJ *et al*, 2005). Glikosaminoglikan dapat membentuk fraksi polisakarida dari struktur proteoglikan, serta dapat menghasilkan efek biologis yang bermanfaat pada perawatan kulit melawan penuaan dan untuk rangkaian perawatan pada berbagai kondisi kulit, persendian, dan sejenisnya. Hal ini dikarenakan proteoglikan dan glikosaminoglikan adalah pengatur aktif dari fungsi sel, berpartisipasi dalam interaksi sel dan matriksnya, serta berperan penting dalam proliferasi fibroblast, diferensiasi dan migrasi yang diatur secara efektif oleh fenotipe seluler (Rosaceabalm, 2009).

Berdasarkan penelitian terdahulu oleh Martins, Maria de Fatima *et.al* (2003), yang menggunakan 3 kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol yang tidak diberi apapun, kelompok perlakuan pertama dengan menggunakan lendir bekicot (*Achatina fulica*) murni, dan kelompok perlakuan kedua dengan menggunakan salep kulit yang mengandung ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*), menunjukkan hasil bahwa pada kelompok perlakuan yang keduanya diberi lendir bekicot walaupun dalam bentuk yang berbeda, proses penyembuhan dan perbaikan jaringan kulit terjadi dalam waktu yang lebih cepat dan lebih baik

dibanding dengan kelompok kontrol. Oleh sebab itu, ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*) ini di luar negeri banyak dikembangkan untuk perawatan kosmetik.

Dalam penelitian yang tersebut di atas, digunakan lendir bekicot murni yang langsung diaplikasikan pada hewan coba setelah diambil dari bekicotnya. Padahal, menurut Vieira *et.al* (2004), *Achatina fulica* merupakan *host* perantara dari *Angiostrongylus cantonensis*, yaitu agen penyebab meningoencephalic angiostrongiliasis, dan berperan sebagai sumber terbesar infeksi pada manusia di tempat di mana orang tersebut makan. Oleh karena itu, untuk mencegah larva parasit yang terkandung dalam lendir bekicot, masuk dan menyebabkan infeksi dalam tubuh manusia, maka perlu dimurnikan dengan cara presipitasi fraksional (Kim *et.al*, 1996).

Re-epitelialisasi jaringan adalah salah satu tahap dalam proses penyembuhan luka setelah tahap inflamasi. Dalam tahap ini, terjadi interaksi antara sel dan matriks ekstraseluler, proliferasi fibroblast, angiogenesis dan kontraksi luka (Daly, 1995). Dalam fase proliferasinya, fibroblast mensintesa kolagen dan glikosaminoglikan yang akan saling berinteraksi dan berperan dalam kontraksi luka, sedangkan glikosaminoglikan sendiri dapat menstimulasi proses re-epitelialisasi dengan meningkatkan pertumbuhan dan diferensiasi sel epitel, serta menstimulasi migrasi sel yang penting dalam mempercepat re-epitelialisasi luka (Im A-Rang, 2009). Penelitian ini diharapkan dapat membuktikan bahwa glikosaminoglikan dalam ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*) yaitu *acharan sulfate* yang didapat dari isolasi, ekstraksi dan presipitasi ethanol dengan kadar *acharan sulfate* yang dihitung dapat membantu proses re-epitelialisasi jaringan

luka dengan melihat peningkatan jumlah sel epitel basalis luka, sehingga nantinya dapat dijadikan obat alternatif untuk mempercepat penyembuhan luka.

I.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*) isolat lokal Kediri akan meningkatkan jumlah sel epitel basalis luka sayatan pada punggung tikus putih jantan *strain wistar*?

I.3 Tujuan Penelitian

I.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan pemberian ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*) isolat lokal Kediri akan meningkatkan jumlah sel epitel basalis luka sayatan pada punggung tikus putih jantan *strain wistar*.

I.3.2 Tujuan Khusus

Menghitung dan membandingkan jumlah sel epitel basalis pada luka kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

I.4 Manfaat Penelitian

Dengan penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh pemberian ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*) isolat lokal Kediri terhadap jumlah sel epitel basalis luka untuk menghasilkan obat alternatif dalam penanganan luka khususnya luka pada mukosa mulut manusia yang efektif, praktis, aman, mudah didapat, dan murah dengan menggunakan bahan yang alami tanpa toksis dan efek samping.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

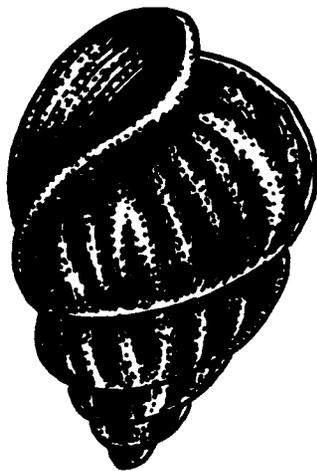
II.1 Bekicot *Achatina fulica*

II.1.1 Klasifikasi (Anonim A, 2000)

Kingdom (filum)	: <i>Mollusca</i>
Kelas	: <i>Gastropoda</i>
Ordo	: <i>Pulmonata</i>
Famili (suku)	: <i>Achatinidae</i>
Genus (marga)	: <i>Achatina</i>
Species (jenis)	: <i>Achatina fulica</i>

Bekicot merupakan hewan lunak (*Mollusca*) dari kelas *Gastropoda* yang berarti berjalan dengan perut. Bekicot menggunakan bagian bawah tubuhnya (perut) untuk berjalan. Bekicot menggunakan paru-paru untuk bernafas, sehingga ia dimasukkan ke dalam ordo *Pulmonata*, berbeda dengan jenis keong air yang berinsang. Secara rinci bekicot dikelompokkan ke dalam famili *Achatinidae*. Dari famili ini ada dua jenis bekicot yang terdapat di Indonesia yaitu *Achatina fulica* dan *Achatina variegata*.

Perbedaan kedua jenis bekicot tersebut dapat dilihat secara mudah dari bentuk cangkang dan pola garis cangkang. *Achatina fulica* bercangkang lebih ramping (runcing) dan pola garis pada cangkangnya tidak terlalu nyata (halus), sedangkan *Achatina variegata* berpenampilan lebih bulat (gemuk) dan pola garis cangkangnya lebih tegas berwarna coklat lenggak-lenggok.



Achatina variegata



Achatina fulica

Gambar 2 1 Perbedaan bentuk dan corak cangkang bekicot *Achatina variegata* dan *Achatina fulica* (Anonim A, 2000).

II.1.2 Morfologi dan Ekologi

Secara historis diperoleh kepastian bahwa bekicot merupakan hewan yang berasal dari Afrika Timur. Selanjutnya karena mudah berkembang biak, menyebar ke seluruh kawasan dunia, mulai dari kepulauan Bismark di Inggris, Birma, Ceylon (Srilanka), Cina, Hawaii, Hongkong, India, Jepang, Vietnam, Malaysia dan Indonesia. Di negara Indonesia, bekicot pertama kali ditemukan tahun 1922 di Buitenzorg (sekarang Bogor) yang masuk melalui Singapura. Pada zaman Jepang, bekicot banyak dimanfaatkan di beberapa daerah di negara Indonesia untuk dimakan. Setelah masa kemerdekaan, hewan ini sudah tidak dihiraukan lagi. Baru beberapa tahun terakhir ini bekicot mulai ramai lagi dibicarakan karena banyak mendatangkan keuntungan. Oleh karena itu bermunculanlah pedagang dan peternak bekicot yang semuanya ingin mereguk keuntungan (Anonim A, 2000).

Mulanya bekicot hanya dikenal sebagai hama tanaman, karena memakan tanaman yang ditanam manusia sehingga menjadi rusak. Perkembangan dalam

pengetahuan telah banyak mempengaruhi pola pikir masyarakat sehingga hewan lunak ini bukan lagi dianggap sebagai hewan yang merugikan, namun lebih merupakan salah satu sumber protein hewani yang mulai banyak dibudidayakan orang untuk dikonsumsi di dalam maupun di luar negeri. Hal ini bisa dimengerti karena dari segi protein, bekicot tidak kalah bila dibandingkan dengan sumber protein hewani lainnya, seperti daging sapi dan telur (Berniyanti, 2008) yang akan dijelaskan lebih jelas dalam kandungan *Achatina fulica*.

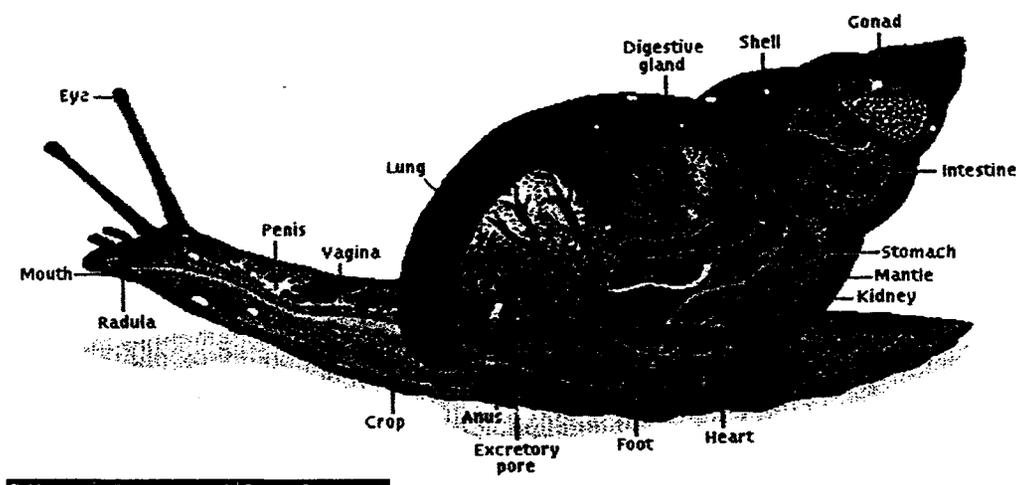
Bekicot juga merupakan salah satu sumber penerimaan devisa negara karena termasuk komoditi ekspor. Indonesia telah mengekspor bekicot ke Perancis sebanyak 1084 ton pada tahun 1988. Berat rata-rata tiap ekor adalah 50 gram atau antara 35-70 gram, dan bagian yang diekspor adalah kaki bekicot yang mempunyai berat setiap kaki sekitar 5-10 gram, yang berarti ekspor tersebut setara dengan 136.125.000 ekor bekicot (Berniyanti, 2008).

Tubuh bekicot ditandai dengan lendir yang banyak yang menutup seluruh permukaan tubuhnya, yang disebut sebagai achasin. Lendir ini selain dikeluarkan oleh kelenjar yang berada di bawah kakinya, dan alat pencernaan makanan, juga dihasilkan oleh kulit, sehingga memudahkan bekicot untuk memanjat, menggantung pada tanaman atau tembok (Berniyanti, 2008).

Lendir tersebut dimaksudkan untuk mencegah terjadinya penguapan, membantu pergerakan secara halus, dan melindungi tubuh dari luka-luka mekanis (Simkiss & Wilbur dalam Berniyanti, 2008). Oleh karena itu, walaupun tubuhnya sangat fragil dan kondisi jaringan kulitnya sangat basah, hewan ini mempunyai resistensi terhadap mikroorganisme. Volume rata-rata lendir bekicot sebesar 3 mililiter atau sekitar 2-5 mililiter setiap ekornya. Hal ini berarti dari pemotongan

ternak bekicot di Indonesia menghasilkan limbah lendir bekicot sebanyak 408.375 liter setiap tahun, jumlah tersebut setara dengan 1121,6 liter setiap hari. Jumlah ini akan terus meningkat seiring dengan meningkatnya ekspor bekicot tersebut dari tahun ke tahun (Berniyanti, 2008).

Tubuh bekicot secara sederhana dapat dibagi dalam dua bagian yaitu bagian luar yang keras sebagai rumah disebut pula cangkang dan bagian dalam yang lunak disebut badan.



Gambar 2.2 Struktur tubuh bekicot (Berniyanti, 2008).

II.1.2.1 Bagian luar (cangkang)

Bekicot bercangkang besar, padat berbentuk piramid (seperti kerucut) dengan spira (lilitan seperti sekrup) dan dasar cangkang yang membulat. Cangkang bekicot yang telah dewasa mempunyai panjang sekitar 10 cm sampai 12 cm, lebar 4-5 cm, dan berat 100-120 gr. Lingkar cangkang mempunyai arah putaran ke kanan (Anonim A, 2000).

Fungsi cangkang selain sebagai rumah juga untuk mempertahankan diri dari musuh dan untuk memperkecil penguapan tubuhnya. Sebagian besar penyusun cangkang adalah zat kapur sehingga cangkang tersebut sangat keras.

Komposisi cangkang bekicot adalah protein 28%, serat kasar 1%, kalsium 25%, fosfor 0,14% (Anonim A, 2000).

II.1.2.2 Bagian dalam

Badan bekicot bersifat lunak dan ini yang biasanya dimanfaatkan sebagai bahan makanan manusia dan ternak. Tubuh tersebut dapat dijulurkan ke luar cangkang seperti umumnya keong-keong yang lain. Gerakan menjulur tersebut dilakukan dengan bantuan otot *columela* yang terbentang ke dalam sampai puncak spira. Berikut ini adalah bagian dalam bekicot :

a. Kepala

Terdapat di bagian depan tubuh dan dapat dilihat dengan jelas. Ada sebuah mulut yang dilengkapi dengan gigi parut (*radula*). Bekicot mempunyai dua buah tentakel sebagai alat peraba (perasa) yang mudah ditarik ke dalam bila menyentuh sesuatu benda dan mudah digerakkan dari sisi ke sisi sambil mengubah panjangnya. Tentakel ini berguna untuk merasakan perubahan suhu tubuhnya, sebagai petunjuk jalan, dan sebagai petunjuk adanya makanan. Dua tanduk yang lain mempunyai dua buah bintik hitam yang berfungsi sebagai mata untuk membedakan keadaan gelap dan terang (Anonim A, 2000).

Di sisi kanan badan, tepat di belakang kepala terdapat lubang kelamin (porus genital). Separuh bagian atas lubang berlaku sebagai vagina sedangkan separuhnya lagi adalah tempat penis keluar (Anonim A, 2000).

b. Kaki

Bekicot bergerak menggunakan kaki yang melebar yang terdapat di bawah badan. Gerakan ini berupa kontraksi berurutan yang dilakukan oleh otot tubuh.

Pada bagian bawah kaki terdapat kelenjar yang dapat mengeluarkan lendir pada saat berjalan. Berkat lendir tersebut, bekicot dapat berjalan di atas pisau cukur yang tajam tanpa menderita luka pada tubuhnya. Namun lendir tersebut menjadi bumerang baginya karena di sepanjang tempat yang ia lewati akan terlihat bekas lendir yang mengering berwarna putih mengkilat yang bisa menjadi pertanda bagi musuhnya. Pada tanah yang basah dan lembab, lendir tidak akan keluar (Anonim A, 2000).

II.1.3 Kandungan *Achatina fulica* (Anonim A, 2000)

Bagian tubuh bekicot terdiri atas rumah (cangkang), daging atau kaki dan isi perut. Rumah bekicot berfungsi untuk melindungi tubuh dari penguapan. Sebagian besar penyusun cangkang adalah zat kapur sehingga cangkang tersebut sangat keras. Komposisi cangkang bekicot adalah protein 28%, serat kasar 1%, kalsium 25%, fosfor 0,14%. Daging bekicot merupakan bagian yang bisa dikonsumsi. Isi perut bekicot meliputi seluruh saluran pencernaan yang terdiri dari mulut, rongga mulut, tenggorokan, tembolok, lambung, usus, dan dubur serta alat-alat tubuh lainnya seperti jantung, limpa, hati, ginjal, dan sebagainya. Tabel berikut menyajikan komposisi kimia bekicot berdasarkan berat kering laboratorium.

Tabel 2.1 Komposisi kimia bekicot (*Achatina fulica*) (%) (Anonim A, 2000)

Komponen	Tepung Kaki + Isi Perut		Tepung Rumah Bekicot
	Direbus	Mentah	
Protein kasar	57,08	46,03	3,25
Lemak	3,34	7,62	1,24
Serat kasar	2,05	2,28	-
Abu	13,88	11,14	56,39
Kalsium	1,58	3,62	31,54
Fosfor	1,48	1,61	1,00

Kandungan kalsium seluruh bagian yang lunak dari bekicot berkisar antara 1-8%, tergantung kepada derajat pembersihan rumahnya. Di samping itu adanya telur yang terdapat di dalam perut bekicot akan turut mempengaruhi kandungan kalsium tersebut. Bekicot sangat kaya akan protein. Kadar proteinnya berkisar antara 50-60%. Menurut penelitian para ahli, bekicot yang direbus mempunyai kadar protein yang lebih rendah daripada bekicot mentah. Tabel berikut menyajikan komposisi tepung bekicot berdasarkan berat kering laboratorium.

Tabel 2.2 Komposisi kimia tepung bekicot (*Achatina fulica*) (%) (Anonim A, 2000)

Komposisi	Bahan	
	T. Bekicot Mentah	T. Bekicot Rebus
Air	7,59	7,54
Protein	59,27	57,72
Lemak	3,62	4,60
Kalsium (Ca)	6,40	7,83
Fosfor (P)	0,85	0,95
Serat kasar	2,47	0,08

Dari hasil penelitian, ternyata daging bekicot mengandung asam amino yang sangat diperlukan tubuh. Kandungan asam amino tersebut dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 2.3 Komposisi asam amino daging bekicot, telur ayam ras, dan telur ayam lokal (gram/100 gram bahan berat kering) (Anonim A, 2000)

Asam Amino	Daging Bekicot	Telur Ayam Ras	Telur Ayam Lokal
Asam Amino Esensial			
:			
Isoleusin	2,64	1,93	1,96
Leusin	4,62	3,59	3,47
Lisin	4,35	2,95	2,65
Metionin	1,00	1,13	1,30
Sistin	0,60	0,93	0,92
Fenilalanin	2,62	2,95	2,51
Tirosin	2,44	1,80	1,89
Treonin	2,76	2,08	2,29
Triptofan	-	0,60	0,51
Valin	3,07	2,69	2,73
Asam Amino Non-esensial :			
Arginin	4,88	2,66	2,39

Histidin	1,43	1,06	0,88
Alanin	3,31	2,39	2,26
Asam aspartat	5,98	4,78	4,58
Asam glutamat	8,16	6,47	5,93
Glisin	3,82	1,46	1,43
Prolin	2,79	1,86	1,47
Serin	2,96	3,06	3,04

Dari tabel di atas, ternyata daging bekicot mengandung asam amino lebih tinggi dibanding dengan telur, terutama asam amino esensial (pembatas), seperti Isoleusin, Leusin, Lisin, Metionin, Sistin, Treonin, Triptofan dan Valin. Sifat ini menguntungkan sekali mengingat asam amino pembatas merupakan penentu dari protein yang dapat dimanfaatkan oleh tubuh. Artinya, asam amino dari protein konsumsi yang telah terurai di dalam tubuh akan diserap tubuh sebanyak asam amino esensial yang paling rendah.

Pemanfaatan daging bekicot dalam menu sehari-hari secara langsung telah menyumbang asam amino pembatas bagi bahan makanan lain. Lisin di dalam daging bekicot dapat mengatasi masalah keterbatasan Metionin, Triptofan, dan Lisin dalam bahan makanan pokok, seperti beras, jagung, dan sebagian besar jenis umbi-umbian.

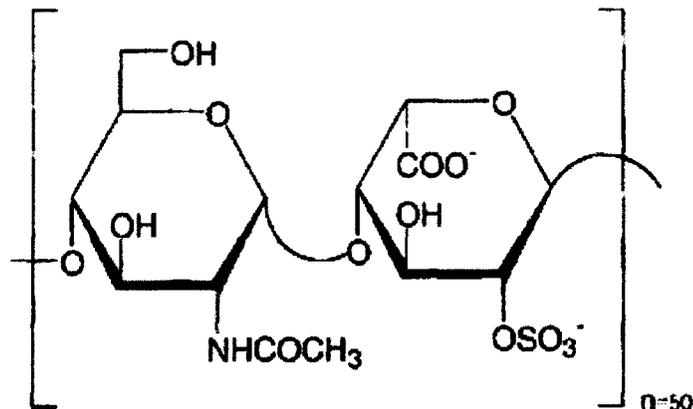
Asam amino Sistin dan Tirosin yang dikandung daging bekicot berfungsi untuk membantu sintesa Metionin dan Fenilalanin di dalam tubuh, sehingga dapat melengkapi kekurangan asam amino yang mengandung sulfur, yaitu Sistin, dan Metionin pada konsumsi biji-bijian berlemak. Daging bekicot kaya akan vitamin B kompleks, terutama vitamin B₂. Vitamin B kompleks mempunyai fungsi cukup berarti dalam metabolisme karbohidrat, asam amino, dan asam lemak. Vitamin ini berperan pula dalam proses oksidasi dan reduksi intraseluler, membantu

dehidrogenase, aktif dalam enzim asetilase, dan diduga berperan pula dalam penyusunan sel darah merah.

Dalam mengkonsumsi daging bekicot, hendaknya bersamaan dengan sayuran atau buah-buahan, agar asam organik dari sayuran dan buah-buahan dapat meningkatkan penyerapan kalsium dari saluran pencernaan, dikarenakan daging bekicot mengandung mineral kalsium dan fosfor yang cukup tinggi.

Di dalam lendir bekicot jenis *Achatina fulica* ini terdapat suatu glukokonjugat utama, yaitu glikosaminoglikan yang strukturnya berbeda dengan glikosaminoglikan lain, disekresi dari butir-butir di dalam tubuh bekicot yang terletak di permukaan terluar, sebagai hasil dari paparan *stress* pada bekicot (Rosaceabalm, 2009). Glikosaminoglikan yang disebut *Acharan sulfat* ini memiliki struktur disakarida berulang dari $\rightarrow 4$)-2-acetamido-2-deoxy- α -D-glucopyranose(1 \rightarrow 4)-2-sulfo- α -L-idopyranosyluronic acid(1 \rightarrow (GlcNAc-IdoA2SO₃) dan memiliki berat molekul 29kDa. Glikosaminoglikan ini berkisar antara 3-5% berat kering dari jaringan lunak tubuh bekicot, sehingga diduga mempunyai peranan penting pada kelangsungan hidup dari organisme ini. Glikosaminoglikan adalah turunan dari polisakarida linier anionik yang diisolasi sebagai cabang dari proteoglikan. Fungsi biologis dari proteoglikan antara lain berperan dalam pengaturan pertumbuhan sel, melalui interaksi rantai glikosaminoglikan dalam proteoglikan dengan protein, seperti *growth factor* dan reseptornya. Ada dua kelompok besar dari glikosaminoglikan, yaitu glukosaminoglikan (heparin, heparan sulfat, asam hyaluronat, dan keratan sulfat) dan galaktosaminoglikan (kondroitin dan dermatan sulfat) (Kim *et.al*, 1996). Dalam penelitian dari Shim *et.al* (2002), menunjukkan bahwa ada beberapa

aktivitas farmakologis dari *Acharan sulfate* seperti aktivitas hipoglikemik pada hiperglikemia yang disebabkan epinefrin, dan aktivitas sebagai imunostimulasi pada aktivitas hipolipidemik menciit.



Gambar 2.3 Struktur kimia *Acharan sulfate* (Shim *et.al*, 2002).

Glikosaminoglikan tersebut mengandung *hexosamine* dan asam heksuronat atau unit galaktosa yang tersusun berupa rangkaian tidak bercabang yang bertukar-tukar dan membawa substansi sulfat dalam berbagai posisi. Oleh karena itu, glikosaminoglikan ini memperlihatkan rangkaian yang heterogen, sehingga membuatnya berperan penting dalam interaksi sel-sel dan sel-matriks yang berhubungan pada peristiwa normal maupun patologis dari pengenalan sel, adhesi, migrasi dan pertumbuhan sel (Vieira *et.al*, 2004).

Menurut Vieira *et.al* (2004), *Achatina fulica* merupakan host perantara dari *Angiostrongylus cantonensis*, yaitu agen penyebab meningoencephalic angiostrongiliasis, dan berperan sebagai sumber terbesar infeksi pada manusia di tempat di mana orang tersebut makan. Oleh karena itu, untuk mencegah larva parasit yang terkandung dalam lendir bekicot, masuk dan menyebabkan infeksi

dalam tubuh manusia, maka perlu dilakukan isolasi dengan proteolisis dan dimurnikan dengan cara presipitasi fraksional (Kim *et.al*, 1996).

II.1.4 Khasiat *Achatina fulica*

Achasin (lendir bekicot) pada *Achatina fulica* sudah sejak dahulu juga dikenal masyarakat bisa digunakan sebagai obat selain untuk dikonsumsi, bahkan dikatakan semua kelas hewan lunak (*mollusca*) termasuk bekicot mengandung bahan aktif berkhasiat obat (Rahimsyah dan Srihastutik dalam Berniyanti, 2008). Secara empiris, achasin ini sejak beberapa tahun yang lalu telah dimanfaatkan oleh masyarakat pedesaan, terutama masyarakat di Jawa untuk pengobatan sakit gigi, yaitu dengan cara meneteskannya pada lubang gigi yang sakit, atau untuk pengobatan luka (Berniyanti, 2008). Ekstrak daging bekicot dan lendirnya bermanfaat mengobati berbagai macam gejala penyakit, seperti abortus, sakit waktu menstruasi, radang selaput mata, sakit gigi dan hipertensi. Ada pula yang memanfaatkannya untuk pengobatan penyakit kulit seperti gatal-gatal, dan eksim. Bahkan juga untuk penyakit asma, ayun, dan penyakit kuning. Di antara bahan-bahan yang berhasil diisolasi oleh para ahli kimia farmasi dan diteliti oleh ahli-ahli farmakologi adalah asetilkolin, dopamin, 5-hidroksitriptamin, kolinesterase dan monoaminoksidase. Bahan-bahan obat itu bersifat simpatomimetik atau berkemampuan memacu syaraf simpatis. Syaraf ini mengasuh otot-otot dalam pembuluh darah dan organ-organ dalam termasuk jantung. Pacuan pada syaraf ini menyebabkan relaksasi (pengenduran) otot-otot polos pembuluh darah sehingga terjadi vasodilatasi (pelebaran pembuluh darah) dan juga memacu otot jantung. Secara dominan reaksinya menyebabkan vasodilatasi pembuluh darah di daerah splankhikus (punggung) sehingga tekanan darah menurun (Anonim A, 2000).

Menurut A.Tella, seorang ahli farmakologi dari Nigeria, pengaruh ekstrak jaringan dan lendir bekicot pada tikus memiliki daya sebagai penekan sistem syaraf pusat (depresan), mampu mencegah kematian akibat keracunan amfetamin, dan juga berkhasiat memperpanjang waktu tidur oleh pemberian obat heksobarbiton pada tikus (Anonim A, 2000).

Sebuah penelitian telah dilakukan oleh Mutiarawati (2005) tentang daya analgetik lendir bekicot terhadap mencit (anak tikus putih). Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa lendir bekicot terbukti mempunyai daya analgetik walaupun lebih rendah bila dibandingkan dengan asetosal. Diduga hal ini terjadi karena lendir bekicot tersebut menghilangkan nyeri dengan jalan menghambat mediator nyeri (zat-zat yang menyebabkan nyeri) seperti histamin, bradikinin, serotonin, dan prostaglandin, sehingga rasa nyeri tidak terjadi karena mediator nyeri terhalangi untuk merangsang reseptor nyeri sehingga rangsangan nyeri tersebut tidak diteruskan ke pusat nyeri.

Achasin yang berasal dari *African giant snail Achatina fulica ferussac* menurut Otsuka-Fuchino (1992) adalah suatu glikoprotein dengan berat molekul protein ada di antara 70-80 kDa, juga terbukti mempunyai efek penting sebagai antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* (gram positif) serta *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* (gram negatif). Spektrum antibakteri achasin tergolong luas (*broad spectrum*), karena sangat efektif, baik terhadap gram positif maupun gram negatif (Iguchi dalam Berniyanti, 2008), serta membunuh dua macam tipe bakteri tersebut dengan cara menyerang atau menghambat pembentukan bagian-bagian yang umum dari strain bakteri tersebut seperti lapisan peptidoglikan dan membran sitoplasma. Sel yang mengalami

gangguan pada bagian-bagian tersebut pada akhirnya akan mengalami lisis. Penelitian terbaru juga telah dilakukan oleh T. Berniyanti (2008) dan terbukti bahwa achasin memiliki efek antibakteri terhadap viabilitas bakteri *Escherichia coli* dan *Streptococcus mutans* yang merupakan bakteri penyebab karies gigi.

Menurut penelitian yang dilakukan Lee, *et.al* (2003) telah ditemukan bahwa di dalam lendir bekicot *Achatina fulica* terkandung suatu glikosaminoglikan, yaitu *Acharan sulfat* yang berpotensi sebagai agen antitumor baik dalam penelitian secara *in vivo* maupun *in vitro*, juga memiliki aktivitas anti-angiogenesis. Angiogenesis atau neovaskularisasi adalah pembentukan kapiler-kapiler baru dari pembuluh darah yang ada dan merupakan dasar dari proses fisiologis dan patofisiologis. Pada kanker, proses ini berperan dalam perkembangan pertumbuhan dan metastasis dari tumor. Oleh karena itu, jika angiogenesis pada sel kanker dihambat oleh *Acharan sulfat* maka ukuran tumor akan berkurang dan pertumbuhannya ditekan. Selain itu, pada permukaan sel kanker terdapat suatu protein yaitu nucleolin yang berperan sebagai reseptor permukaan sel kanker untuk berbagai ligan, termasuk *growth factors* (misalnya *basic fibroblast growth factor*) dan kemokin. *Acharan sulfat* dapat menghambat aktivitas pertumbuhan tumor dengan cara mengikat reseptor nucleolin yang terdapat pada permukaan sel kanker tersebut (Joo EJ *et al*, 2005).

Seperti yang telah dijelaskan di atas bahwa dalam lendir bekicot terkandung suatu glikosaminoglikan yaitu *Acharan sulfat*. Glikosaminoglikan dapat membentuk fraksi polisakarida dari struktur proteoglikan, serta dapat menghasilkan efek biologis yang bermanfaat pada perawatan kulit melawan penuaan dan untuk rangkaian perawatan pada berbagai kondisi kulit, persendian,

dan sejenisnya. Hal ini dikarenakan proteoglikan dan glikosaminoglikan adalah pengatur aktif dari fungsi sel, berpartisipasi dalam interaksi sel dan matriksnya, serta berperan penting dalam proliferasi fibroblast, diferensiasi, dan migrasi yang diatur secara efektif oleh fenotipe seluler (Rosaceabalm, 2009). Interaksi sel epitel dengan matriks ekstraseluler yang salah satunya adalah glikosaminoglikan dapat menstimulasi proses re-epitelialisasi jaringan luka (Im, A-Rang , 2009). Oleh karena itu, lendir bekicot diduga dapat mempercepat penyembuhan luka biasa, luka kronis akibat komplikasi penyakit seperti DM, ataupun untuk mempercepat setiap penyembuhan luka setelah terapi dengan pembedahan (Berbudi, 2009).

II.2 Penyembuhan Luka

Luka adalah kerusakan pada jaringan tubuh oleh karena jejas baik fisik maupun kimia yang menyebabkan gangguan kontinuitas yang normal dari struktur jaringan (Sjamsuhidajat, 2004), dapat mengenai lapisan terluar kulit (epidermis), bahkan lebih dalam lagi hingga mencapai otot, tergantung dari keparahan luka (Rosaceabalm, 2009). Jejas fisik yang menyebabkan kerusakan jaringan antara lain trauma benda tajam atau tumpul, insisi, temperatur yang ekstrim, radiasi, dan obstruksi aliran darah. Bahan kimia dapat menyebabkan kerusakan jaringan meliputi *ischaemia* karena konstiksi vaskuler atau trombosis. Proses penyembuhan adalah suatu proses untuk membentuk jaringan atau mengganti jaringan yang rusak dengan jaringan baru yang sehat (Sjamsuhidajat, 2004). Luka dapat sembuh atau terobati dengan spontan melalui peristiwa-peristiwa dalam tubuh organisme, dimulai dengan mengeluarkan berbagai sinyal kimia dalam tubuh yang memfasilitasi perbaikan kontinuitas anatomi dan fungsinya. Pada

beberapa individu, proses penyembuhan luka ini bisa berlangsung berlebihan sehingga menghasilkan bentuk *hypertrophic scars* atau keloid (Rosaceabalm, 2009).

II.2.1 Tahapan Penyembuhan Luka

Proses ini dibagi dalam tiga fase, yaitu respon inflamasi, re-epitelialisasi-kontraksi, dan pembentukan jaringan ikat (Kloth *et.al* 1995).

a. Respon Inflamasi (0-3 hari)

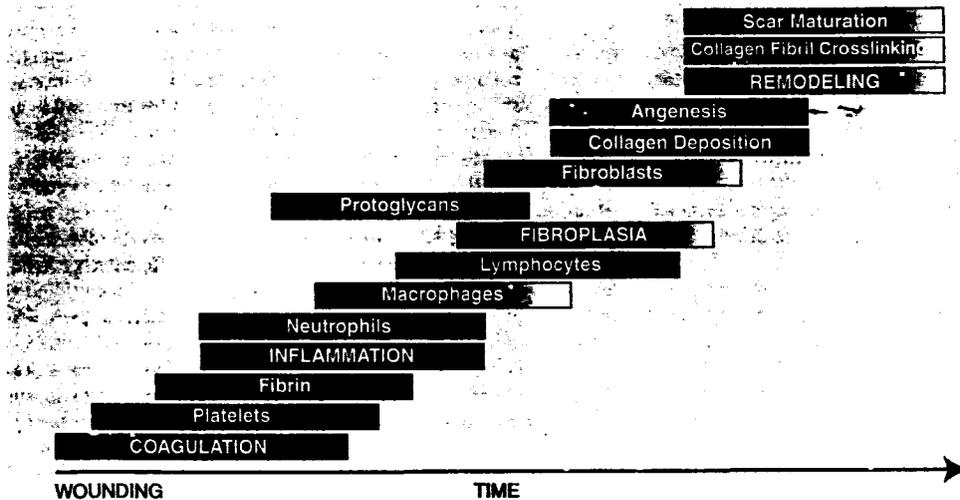
Tahap pertama dalam penyembuhan luka adalah respon inflamasi. Peradangan merupakan suatu respon non spesifik terhadap invasi benda asing / kerusakan jaringan (Sherwood, 2001). Dalam tahap ini terjadi reaksi awal penyembuhan luka yaitu respon vaskuler dan seluler. Vasodilatasi pembuluh darah lokal, keluarnya cairan ke ekstravaskuler, dan bloking dari drainase limfatik menghasilkan tiga dari empat tanda kardinal dari inflamasi yaitu kemerahan, pembengkakan, dan panas. Tanda keempat yaitu nyeri dihasilkan dari distensi jaringan karena pembengkakan dan tekanan dan iritasi kimia pada reseptor nosiseptif (Kloth *et.al*, 1995).

Radang adalah reaksi jaringan hidup terhadap semua bentuk jejas. Dalam reaksi ini ikut berperan pembuluh darah, saraf, cairan dan sel tubuh di tempat jejas. Keradangan menurut waktunya dibagi menjadi dua yaitu radang akut dan radang kronis. Radang akut merupakan respon langsung dan dini terhadap agen jejas yang hanya berlangsung beberapa jam atau hari. Proses radang akut ini melibatkan sel neutrofil / sel PMN (Poli Morfonuklear) (Robins & Kumar, 1995).

Radang kronis merupakan proses yang berlangsung lama (beberapa minggu/bulan), dihubungkan dengan derajat kerusakan jaringan dan menyebabkan

infiltrasi mononuklear serta proliferasi fibroblast sehingga sering dihubungkan dengan proses penyembuhan/pemulihan. Radang kronis dapat timbul menyusul radang akut atau respon awal memang bersifat kronik. Perubahan radang akut menjadi kronis berlangsung bila respon radang akut tidak dapat reda, disebabkan agen penyebab jejas yang menetap atau terdapat gangguan pada proses penyembuhan normal. Radang kronis ditandai adanya sel-sel mononuklear yaitu makrofag, limfosit, dan sel plasma. Radang akut dan kronis seringkali sukar dibedakan oleh karena tidak ada batas yang tegas yang memisahkan baik secara klinik maupun morfologi. Dikatakan bila suatu radang berlangsung lebih lama dari 4 atau 6 minggu disebut kronis (Robins & Kumar, 1995).

Radang akut berawal saat terjadi luka, memberi isyarat untuk peristiwa biologis. Tujuan utama dari fase inflamasi ini adalah untuk mengadakan hemostasis dan menghasilkan daerah luka yang bersih untuk perbaikan jaringan. Dimulai dengan koagulasi melalui aktivasi platelet, hemostasis, mitogenesis dan kemotaksis dari *growth factors*, hipoksia dan fungsi pengaturan dari gradien tekanan oksigen, aktivasi komplemen untuk mengontrol infeksi, neutrofil, makrofag, mast sel, dan fibroblast (Sussman & Bates-Jensen, 2007).



Gambar 2 4 Tahapan penyembuhan luka (Sussman & Bates-Jensen, 2007)

Keradangan memiliki tiga fase yaitu vaskuler, seluler, dan humoral. Fase vaskuler merupakan tahap awal dalam proses penyembuhan luka. Bila pembuluh darah mengalami cedera, tubuh akan meresponnya dengan reaksi homeostasis (pencegahan kehilangan darah) (Guyton & Hall, 1997). Membran sel akan mengeluarkan tromboksan A₂ dan prostaglandin 2 α sebagai vasokonstriktor. Spasme/konstriksi pembuluh darah ini membantu mengurangi terjadinya perdarahan. Vasokonstriksi terjadi selama 5-10 menit yang kemudian diikuti oleh vasodilatasi yang terjadi sekitar 20 menit pasca luka. Vasodilatasi ini terjadi akibat adanya pelepasan mediator kimia (histamin) oleh sel platelet. Sel platelet sebagai sel radang pertama melepaskan kemokin termasuk *growth factor* (EGF/*Epithelial Growth Factor*, PDGF/*Platelet Derived Growth Factor*), fibrinogen, fibronektin, serotonin, dan komponen matriks ekstraseluler (Rosenberg, 2006). Komponen-komponen tersebut mendukung influks dari fibroblast dan keratinosit. Sel-sel inflamasi, sisa-sisa jaringan dan bakteri pada luka, memberi tanda yang dapat mengganggu migrasi dari fibroblast dan keratinosit (Im A-Rang, 2009).

Aktivitas seluler pada reaksi inflamasi dimulai ketika arteriol berdilatasi pada awal peradangan akut. Leukosit bergerak dari pembuluh darah ke daerah yang luka secara ameoboid. Leukosit/neutrofil untuk selanjutnya mengalami marginasi/melekat ke sel endotel aktif. Neutrofil mencapai jumlah maksimal dalam 24-48 jam pertama berada di jaringan luka (Rook, 1998). Neutrofil bertanggung jawab untuk menghancurkan bakteri melalui proses fagositosis, pelepasan radikal bebas, *respiratory burst mechanism*, dan mengopsonisasi bakteri lewat sistem komplemen (Rosenberg, 2006). Pada hari ke-3, monosit/makrofag selanjutnya direkrut dalam jumlah besar menggantikan neutrofil. Kemampuan monosit (yang setelah bermigrasi ke jaringan disebut makrofag) antara lain :

- Fungsi fagositosis melalui pelepasan radikal oksigen (H_2O_2 , O_2^- , OH^-)
- Debridement luka melalui pelepasan enzim kolagenase dan elastase
- Mengatur regulasi sintesa matrik melalui pelepasan *growth factor* (VEGF/*Vascular Endothelial Growth Factor*, FGF/*Fibroblast Growth Factor*, TGF β /*Transforming Growth Factor*, EGF/*Epidermal Growth Factor*, PDGF/*Platelet-derived Growth Factor*), sitokin (TNF α /*Tumour Necrotizing Factor α* , IL/*Interleukin* 1, 6, 8, IFN γ /*Interferon γ*), enzim dan prostaglandin E2.
- Mengaktivasi sel dan angiogenesis (Falanga, 2006).

Selain itu, makrofag juga menstimulasi proses re-epitelialisasi dan membentuk jaringan granulasi dan mempercepat angiogenesis (Mercandetti, 2005). Di akhir peradangan, jumlah sel radang kronis akan berkurang (Torre, 2006).

Mekanisme humoral dari peradangan berupa sekresi zat perantara kimiawi oleh sel fagositik yang meningkatkan respon imun non spesifik dan spesifik yaitu berupa pelepasan laktoferin, histamin sebagai vasodilatator, EP (*Endogenous Pyrogen*), menurunkan konsentrasi besi dalam plasma, merangsang granulopoeisis, merangsang pengeluaran protein fase akut dan meningkatkan proliferasi dan diferensiasi limfosit B dan limfosit T yang selanjutnya berperan menghasilkan antibodi dan imunitas seluler (Sherwood, 2001).

b. Tahap Re-epitelialisasi dan Kontraksi (2 hari – 3 minggu)

Pada tahap ini terjadi empat peristiwa yaitu pembentukan jaringan granulasi, re-epitelialisasi, neovaskularisasi, dan kontraksi. Ketika luka sudah bersih dari benda asing, agen infeksius telah hilang, terjadi infiltrasi makrofag dan fibroblast, penyembuhan luka bisa berlanjut. Dalam tabel di bawah ini, akan menunjukkan substansi matriks dan seluler yang berperan dalam fase granulasi (Daly, 1995).

Tabel 2.4 Substansi matriks dan seluler yang berperan dalam fase akhir respon inflamasi dan awal fase granulasi (Daly, 1995)

Matriks	Seluler
- Enzim	- Sel endotel
- Glikosaminoglikan	- Makrofag
- Elastin	- Fibroblast
- Proteoglikan	- Limfosit
- Kolagen tipe III / I	- Platelet
- Fibrin	- Sel epidermal
- Fibronektin	
- Asam hyaluronat	

Makrofag yang teraktivasi sejak fase inflamasi menghasilkan FGF yang merangsang mitogenesis, kemotaksis, diferensiasi, dan angiogenesis, serta mulai

mensintesa kolagen, glikosaminoglikan, proteoglikan, dan fibronektin (Im A-Rang, 2009).

Stress dari lingkungan pada kulit yang rusak akan berkurang atau hilang dengan pembentukan kembali barier epidermal. Perubahan pertama yang terjadi pada re-epitelialisasi adalah pergantian morfologis dari epidermal dan sel basal adneksal (folikel rambut dan kelenjar keringat) pada tepi luka (Daly, 1995).

EGF adalah polipeptida yang menstimulasi proliferasi epidermal dengan cara meningkatkan fosforilasi dari protein seluler endogen. Epiboin dan PDGF juga berperan dalam menstimulasi re-epitelialisasi (Daly, 1995).

Perubahan yang kedua adalah pembentukan membran basal. Sel basal epidermal melewati permukaan luka diikuti beberapa substansi dalam matriks, antara lain fibronektin, fibrin, dan kolagen tipe IV. Pada tahap akhir re-epitelialisasi, terjadi kontraktur yaitu keratinosit berdiferensiasi untuk membentuk lapisan protektif luar atau stratum korneum (Puji, 2009). Sel epidermal kembali ke bentuk kuboidal atau rectangular aslinya saat re-epitelialisasi selesai dan membran basal ada dalam stadium akhir sintesanya (Daly, 1995).

Fibroblast dermal mulai berubah dengan menarik kembali organel seluler dan miofibroblast berproliferasi dan migrasi ke daerah luka. Miofibroblast menghasilkan struktur makromolekul dan mensintesa fibronektin, kolagen, glikosaminoglikan, berbagai enzim, trombospondin, dan molekul lain. Proliferasi fibroblast dan migrasinya ke daerah luka dimodulasi oleh interaksi PDGF, EGF, FGF, dan serum (Daly, 1995).

Miofibroblast mulai mensintesa sejenis gel matriks ekstraseluler yang bergerak ke luka. Fibronektin adalah komponen terbesar dari gel tersebut yang

membantu meningkatkan aktivitas miofibroblast. Trombin dan EGF menstimulasi sintesa fibronektin beserta sekresinya dan juga mendukung proliferasi fibroblast. Fibronektin menyebabkan fibroblast untuk mengikat matriks ekstraseluler, menghasilkan basis pengikat untuk migrasi sel., menyebabkan fibroblast melekat ke kolagen, fibrin, dan asam hyaluronat. Oleh karena itu, fibronektin berperan penting dalam kecepatan dan arah dari proses perbaikan luka dermal pada penyembuhan luka (Daly, 1995).

Asam hyaluronat dapat menyerap air dalam jumlah banyak, menyebabkan edema jaringan. Pembengkakan edema ini menyebabkan adanya daerah tambahan yang dapat meningkatkan migrasi fibroblast ke daerah luka. Hyaluronidase secara enzimatis merusak asam hyaluronat di daerah luka tersebut, membuat glikosaminoglikan menstimulasi secara kimia proses fibroplasia. Glikosaminoglikan sulfat (kondroitin-4-sulfat dan dermatan sulfat) pada hari ke 5-7 menggantikan asam hyaluronat dan mendukung sintesa kolagen dan pematangannya. Produksi kolagen berawal sekitar hari ke-5 setelah migrasi miofibroblast ke daerah luka (Daly, 1995).

Neovaskularisasi atau angiogenesis terjadi pada luka dengan tiga jalan, yaitu peningkatan jaringan vaskuler *de novo* pada daerah luka, anastomosis (percabangan) dari pembuluh darah yang sudah ada, dan perangkaian kembali pembuluh darah di sepanjang daerah luka. Neovaskularisasi meliputi perubahan fenotipe dari sel endotel, migrasi dan berbagai stimulus mitogenik. Setelah proses ini, tahap terakhir dalam fase ini adalah kontraksi, yaitu suatu proses penutupan luka setelah kehilangan jaringan (Daly, 1995). Kontraksi luka tersebut akan

menutup luka dengan menyusutkan ukuran sehingga tepi luka mendekat disertai dengan epitelisasi, deposisi jaringan ikat, dan kontraksi (Im A-Rang, 2009).

c. Pembentukan Jaringan Ikat (3 minggu – 2 tahun)

Tahap ini merupakan tahap terakhir dari proses penyembuhan luka yang berlangsung dalam waktu 3 minggu hingga berbulan-bulan dan dinyatakan berakhir kalau semua tanda radang sudah tidak ada. Pada tahap ini terjadi proses pematangan yang terdiri dari penyerapan kembali jaringan yang berlebihan dan akhirnya pembentukan kembali jaringan baru (Sjamsuhidajat, 2004). Pada tahap ini, jaringan granulasi dan serabutnya diperbaiki, sehingga menyebabkan jaringan menjadi kuat, jaringan ini disebut jaringan parut sebagai akibat dari peningkatan proses kolagenesis. Kolagen mengandung hidroksiprolin dalam jumlah banyak. Keduanya memegang peranan penting untuk mempertahankan struktur dan kekuatan kolagen. Kolagen yang tertimbun pada permulaan penyembuhan luka adalah kolagen tipe III, selang beberapa saat secara bertahap berganti dengan pembentukan kolagen tipe I yang mempunyai daya rentang tinggi (Dealay, 1999).

Terdapat perbedaan antara proses penyembuhan luka di daerah oral dan bagian tubuh lain yaitu terjadi proses penyembuhan luka mukosa mulut yang lebih cepat dibandingkan pada kulit, kemungkinan terjadinya jaringan parut lebih sedikit, serta proses regenerasi dan remodelling jaringan yang lebih cepat. Namun, harus diingat bahwa tidak ada luka, baik pada kulit, mukosa oral, maupun otot tanpa pembentukan jaringan parut pada penyembuhan lukanya. Jaringan parut dapat ditimbulkan oleh kontraksi dari luka yang berlebihan. Hal ini biasa terjadi

pada luka yang tepinya tidak dapat menutup guna mengurangi ukuran luka (Rinastiti, 2003).

II.2.2 Klasifikasi Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka kulit tanpa pertolongan dari luar berjalan secara alami. Luka akan terisi jaringan granulasi dan kemudian ditutup jaringan epitel. Penyembuhan ini disebut penyembuhan sekunder atau *sanatio per secundam intentionem*. Cara ini biasanya membutuhkan waktu cukup lama dan meninggalkan parut yang kurang baik, terutama kalau lukanya terbuka lebar (Sjamsuhidajat, 2004).

Jenis penyembuhan yang lain adalah penyembuhan primer atau *sanatio per primam intentionem*, yang terjadi bila luka segera diusahakan bertaut, biasanya dengan bantuan jahitan. Parut yang terjadi biasanya lebih halus dan kecil (Sjamsuhidajat, 2004).

Namun, penjahitan luka tidak dapat langsung dilakukan pada luka yang terkontaminasi berat dan / atau tidak berbatas tegas. Luka yang compang-camping seperti luka tembak, sering meninggalkan jaringan yang tidak dapat hidup yang pada pemeriksaan pertama sukar dikenal. Keadaan ini diperkirakan akan menyebabkan infeksi bila luka langsung dijahit. Luka yang demikian sebaiknya dibersihkan dan dieksisi (debridement) dahulu dan kemudian dibiarkan selama 4-7 hari. Baru selanjutnya dijahit dan akan sembuh secara primer. Cara ini umumnya disebut penyembuhan primer tertunda. Terjadinya infeksi pada luka pasca eksisi umumnya terjadi karena eksisi luka yang tidak cukup luas dan teliti (Sjamsuhidajat, 2004).

II.3 Peran Glikosaminoglikan dalam Penyembuhan Luka

Glikosaminoglikan adalah polisakarida tinggi gugus sulfat yang tersusun dari unit disakarida berulang yang mengandung heksosamin (D-glucosamine atau D-galactosamine) dan asam uronik (D-glucuronic acid atau L-iduronic acid) kecuali keratan sulfat (D-glucosamine dan D-galactose). Glikosaminoglikan merupakan sejenis molekul yang termasuk kondroitin sulfat/dermatan sulfat, heparin/heparan sulfat/acharan sulfat, asam hyaluronat, dan keratan sulfat. Kecuali asam hyaluronat, glikosaminoglikan yang lain secara kovalen menempel pada protein inti untuk membentuk proteoglikan yang ada di permukaan sel, pada jaringan hewan, dan di matriks ekstraseluler (Im A-Rang, 2009).

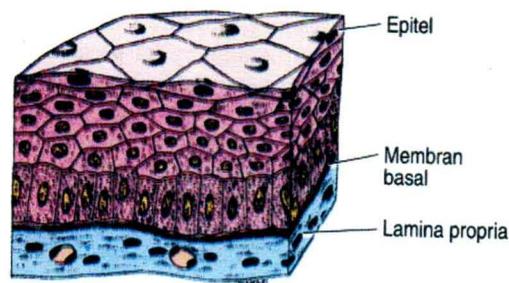
Selama fase proliferasi fibroblast, fibroblast mensintesa kolagen dan glikosaminoglikan yang berubah selama periode jaringan granulasi untuk interaksi adhesif dan non-adhesif pada matriks. Ikatan silang antara kolagen dan glikosaminoglikan memberikan kekuatan yang cukup pada jaringan selama fase remodeling (pembentukan jaringan ikat) menghambat kolagenesis dengan memblok lokasi pembelahan dari kolagen. Glikosaminoglikan mengikat pada kolagen dengan afinitas yang tinggi dan interaksi glikosaminoglikan-kolagen mempengaruhi deposisi serabut kolagen secara *in vivo*. Mediator penyembuhan luka, seperti IL-8, *keratinocyte growth factor* dan VEGF yang diproduksi oleh fibroblast dermal manusia tumbuh bersamaan dengan matriks kolagen-glikosaminoglikan. Glikosaminoglikan juga efektif mengurangi area lesi pada tikus yang terkena radiasi UV dan berpengaruh juga terhadap keratinosit epidermal. Pada beberapa penelitian, glikosaminoglikan dapat merangsang proses re-epitelialisasi yaitu dengan keberadaan *growth factors* dan faktor diferensiasi,

stimulasi dan fasilitasi dari migrasi sel, sehingga berperan dalam mempercepat re-epitelialisasi luka (Im A-Rang, 2009).

II.4 Struktur Kulit dan Mukosa Rongga Mulut (Junqueira, 2007)

Tubuh makhluk hidup hanya terdiri dari 4 tipe dasar jaringan, yaitu jaringan epitel, jaringan otot, jaringan ikat, dan jaringan saraf. Jaringan epitel terdiri atas sel-sel polihedral yang berhimpitan, dengan substansi ekstrasel dalam jumlah yang sangat sedikit. Sel-sel ini saling melekat erat dan membentuk lembaran-lembaran sel yang menutupi permukaan tubuh dan membatasi rongga-rongga tubuh.

Fungsi utama epitel adalah menutupi dan melapisi permukaan (misalnya kulit), absorpsi (misalnya usus), sekresi (misalnya sel epitel kelenjar), sensasi (misalnya neuroepitel). Karena sel-sel epitel melapisi semua permukaan luar dan permukaan dalam tubuh, segala sesuatu yang memasuki atau keluar dari tubuh harus menembus lembaran epitel.



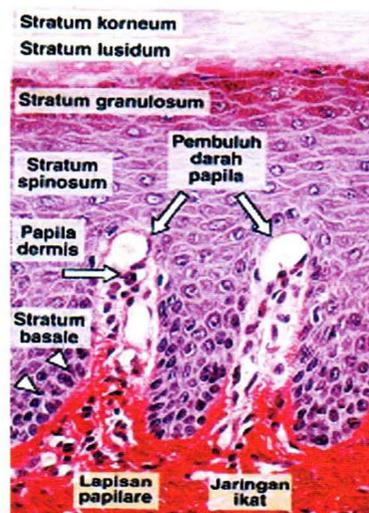
Gambar 2 5 Epitel berlapis pipih (Junqueira, 2007).

Kulit terdiri dari epidermis dan dermis. Pada epidermis dilapisi epitel berlapis pipih dengan lapisan tanduk/keratin. Selnya membentuk banyak lapisan, dan sel-sel yang lebih dekat dengan jaringan ikat dibawahnya umumnya

berbentuk kuboid atau silindris. Makin ke atas (permukaan), makin berubah bentuknya menjadi tidak teratur, yang kemudian memipih menjadi tipis. Kulit ada yang tebal dan tipis, disesuaikan dengan ketebalan lapisan epidermis, yang bervariasi antara 75-150 μm untuk kulit tipis dan 400-600 μm untuk kulit tebal.

Sedangkan pada mukosa rongga mulut dan permukaan yang basah lain dalam tubuh (seperti esofagus, usus, vagina) dilapisi epitel berlapis pipih tanpa lapisan tanduk/keratin. Pada epitel ini, permukaannya terdiri atas sel-sel pipih hidup berinti, berbeda dengan epitel lain yang mempunyai lapisan tanduk dengan sel-sel permukaan yang mati dan inti yang tidak terlihat lagi.

Baik kulit maupun mukosa rongga mulut, pada epidermisnya terdiri atas lima lapisan sel penghasil keratin (keratinosit) yaitu dari dalam ke luar, stratum basalis, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lusidum dan stratum korneum. Stratum basalis terdiri atas selapis sel kuboid atau silindris basofilik yang terletak di atas lamina basalis pada perbatasan epidermis dan dermis. Stratum basalis bertanggungjawab terhadap mitosis sel dan pembaruan sel-sel epidermis secara berkesinambungan.



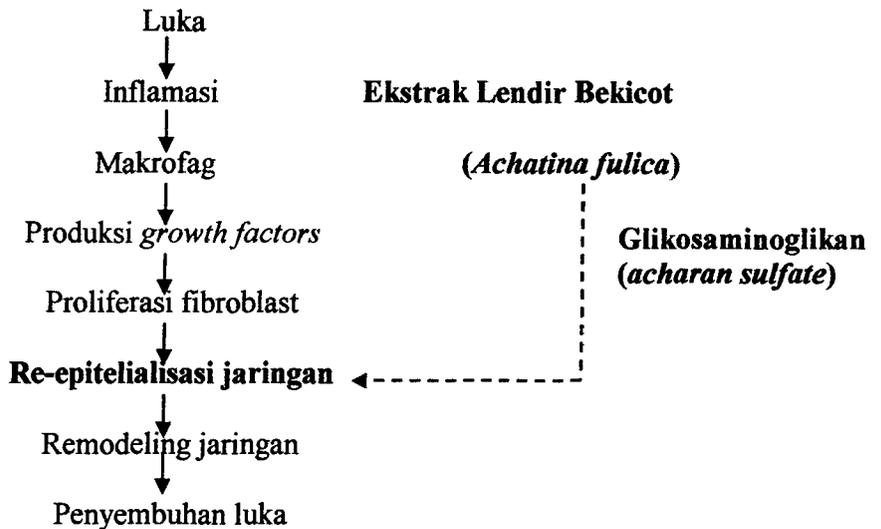
Gambar 2 6 Struktur lapisan kulit (Junqueira, 2007).

BAB III
KERANGKA KONSEPTUAL

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

III.1 Kerangka Konseptual



Keterangan bagan:

- → Merangsang

(huruf tebal) : fokus yang diteliti

Keterangan Kerangka Konseptual:

Radang merupakan reaksi jaringan hidup terhadap semua bentuk jejas. Luka pada punggung tikus akan menimbulkan kerusakan jaringan kulit yang akan memicu terjadinya proses peradangan di mana respon utamanya berupa pengiriman sel-sel radang (PMN, makrofag, monosit, dll). Sel radang PMN terutama berfungsi untuk menghancurkan bakteri melalui proses fagositosis. Sel radang makrofag selain berfungsi sebagai fagositosis juga dapat merangsang pengeluaran *growth factor*, yaitu FGF, EGF, PDGF, VEGF, TGF β . Makrofag yang teraktivasi sejak fase inflamasi menghasilkan *Fibroblast Growth Factors (FGF)* yang merangsang mitogenesis, kemotaksis, diferensiasi, dan angiogenesis,

serta mulai mensintesa kolagen, glikosaminoglikan, proteoglikan, dan fibronektin. EGF menstimulasi proliferasi epidermal dengan cara meningkatkan fosforilasi dari protein seluler endogen. PDGF merupakan faktor pertumbuhan untuk fibroblast bila berinteraksi dengan FGF dan EGF, dapat menstimulasi re-epitelialisasi, dan juga untuk kemotaksis leukosit. VEGF bersama dengan IL-8 dan *keratinocyte growth factor* berasal dari fibroblast dermal dan berkembang bersama dengan matriks kolagen-glikosaminoglikan. TGF β diproduksi oleh sebagian besar sel-sel dalam jaringan granulasi dan menyebabkan migrasi serta proliferasi fibroblast. Dengan adanya komponen-komponen di atas, fibroblast dapat berproliferasi. Dalam fase proliferaatif ini, fibroblast mensintesa matriks ekstraseluler, antara lain kolagen dan glikosaminoglikan yang akan saling berinteraksi dan berperan dalam kontraksi luka, sedangkan glikosaminoglikan sendiri dapat menstimulasi proses re-epitelialisasi dengan meningkatkan pertumbuhan dan diferensiasi sel epitel, serta menstimulasi migrasi sel yang penting dalam mempercepat re-epitelialisasi luka. Ekstrak lendir bekicot yang mengandung *Acharan* sulfat suatu glikosaminoglikan diduga dapat membantu proses re-epitelialisasi jaringan dengan cara berperan dalam pertemuan dan ketutupan membrana basalis, pertumbuhan epidermal, serta reaksi pertumbuhan keratinosit basalis selama proses re-epitelialisasi berlangsung.

III.2 Hipotesa Penelitian

Pemberian ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*) isolat lokal Kediri meningkatkan jumlah sel epitel basalis luka sayatan pada punggung tikus putih jantan *strain wistar*.

BAB IV
METODE PENELITIAN

BAB IV

METODE PENELITIAN

IV.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris.

IV.2 Lokasi Penelitian

Pembuatan ekstrak lendir bekicot dan penghitungan kadar ekstrak lendir bekicot dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Konsultasi Industri, Balai Penelitian dan Konsultasi Industri (BPKI) Surabaya. Penimbangan berat ekstrak dilakukan di Laboratorium IMTKG Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya. Pelaksanaan penelitian dilakukan di laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya. Pembuatan preparat histopatologis dilakukan di laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Pengamatan preparat dengan mikroskop dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya dan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

IV.3 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas:

Ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*) dengan kadar protein (*crude acharan sulfate*) sebesar 86,74 % .

2. Variabel terikat:

Jumlah sel epitel basalis luka

3. Variabel kendali:

- a. Cara pemeliharaan hewan coba dan bekicot *Achatina fulica*
- b. Teknik pembuatan luka sayatan pada punggung tikus putih jantan *strain wistar* pada tiap kelompok
- c. Cara pemberian air saline dan ekstrak lendir bekicot
- d. Lamanya pemberian perlakuan pada kelompok kontrol dan perlakuan

IV.4 Definisi Operasional

1. Ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*) dengan kadar protein (*crude acharan sulfate*) sebesar 86,74 % .

Ekstrak lendir bekicot adalah sediaan cair yang dibuat dengan cara merangsang permukaan tubuh bekicot dengan menggunakan *electric shock* yaitu suatu aliran listrik, kemudian dilakukan maserasi dengan air lalu dilakukan pemurnian dengan presipitasi ethanol, dan diteteskan pada daerah kulit punggung tikus yang telah dilukai. Kadar adalah banyaknya kandungan protein (*acharan sulfate*) ekstrak lendir bekicot dalam ethanol yang dihitung dengan menggunakan metode Biuret.

2. Jumlah sel epitel basalis luka

Jumlah sel epitel basalis luka adalah jumlah sel epitel silindris yang duduk terletak pada stratum basalis dengan batas tepi luka pada daerah cekungan (Laplante, 2001) dalam satu lapangan pandang dengan bantuan mikroskop

cahaya pembesaran 400x lalu dihitung setelah difoto dengan kamera resolusi minimal 3 megapiksel dan dimasukkan dalam komputer.

IV.5 Kriteria dan Besar Sampel

Pada penelitian ini, sampel yang digunakan adalah tikus putih strain wistar berkelamin jantan yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, usia sekitar 2,5-3 bulan, berat badan berkisar antara 150-200 gram, kondisi fisik sehat dan memungkinkan untuk dijadikan sampel, setelah dipelihara selama 3-4 hari untuk beradaptasi, dipelihara pada tempat dan kondisi yang sama serta diberi pakan yang sama pada tempat penelitian.

Besar sampel dihitung berdasarkan rumus :

$$N = \frac{2\sigma^2(Z_{1-\frac{1}{2}\alpha} + Z_{1-\beta})^2}{(\mu_1 - \mu_0)^2} = \frac{2 \times (6,50)^2 \times (1,96 + 1,64)^2}{(42,43 - 75)^2} = 1,03 \sim 2$$

Keterangan :

N = besar sampel

σ = Standar Deviasi populasi kontrol = 6,50

Z = nilai yang dapat ditoleransi jika :

α = tingkat kesalahan = 0,05 maka nilai Z = 1,96

$1 - \beta$ = power test/uji kekuatan $\rightarrow 1 - \beta = 0,9$ maka nilai Z = 1,64

μ_1 = rata-rata populasi sampel kontrol = 42,43

μ_0 = rata-rata populasi sampel perlakuan = 75,0

Hasil penghitungan jumlah sampel untuk penelitian ini yaitu membutuhkan minimal 2 sampel tiap kelompok perlakuan, sedangkan penelitian

ini telah menggunakan 7 sampel tiap kelompok perlakuan sehingga syarat minimal sudah terpenuhi.

IV.6 Alat dan Bahan

Dalam penelitian ini digunakan beberapa alat sebagai berikut :

1. Tabung kaca besar untuk tempat memberikan anestesi secara inhalasi.
2. Alat untuk mengisolasi lendir bekicot berupa *electric shock*, botol bekas yang bersih untuk menampung.
3. Alat untuk pemurnian lendir bekicot berupa sentrifuse dan magnet stirrer.
4. Jarum suntik dengan ujung tumpul dan spet sebagai alat untuk memberikan ekstrak lendir bekicot dan air saline pada punggung tikus putih *strain wistar* yang telah diberi sayatan luka.
5. Peralatan biopsi yang terdiri dari scalpel no.12, handle scalpel no.3, tabung reaksi/botol kecil untuk menempatkan spesimen, kertas saring dan pinset chirurgis.
6. Jarum jahit medis dan benang silk non-absorbable untuk *suturing*, serta gunting medis, *needle holder*.
7. Peralatan untuk membuat sediaan dan mikroskop.
8. Tabung reaksi, spektrofotometer 550 nm, dan kuvet kaca untuk menghitung kadar ekstrak lendir bekicot dalam ethanol menggunakan metode biuret.
9. Kain kasa steril dan plester untuk menutup luka.
10. Silet untuk mencukur bulu pada daerah kulit punggung tikus yang akan dilukai.

11. Syringe untuk injeksi anestesi lokal pehacain, masker dan sarung tangan.
12. Ependorf untuk menyimpan ekstrak lendir bekicot yang telah dibagi sebelum diencerkan kembali.

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah :

1. Kulit punggung tikus putih jantan *strain wistar* yang disayat.
2. Ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*) dalam ethanol yang diteteskan pada luka sayatan punggung tikus pada kelompok perlakuan.
3. Larutan aquades steril untuk pengenceran ekstrak lendir bekicot dan air saline untuk diirigasikan pada luka sayatan punggung tikus putih jantan *strain wistar* (kelompok kontrol).
4. Bahan untuk pemurnian lendir bekicot secara presipitasi berupa potassium asetat 1% dalam etil alkohol, cetylpyridinium chloride 5%, 2,5 M NaCl, ethanol, dan pengenceran kembali dengan Tris-HCL pH 8,0.
5. Larutan-larutan yang digunakan untuk metode biuret dalam menghitung kadar ekstrak seperti Sodium Potassium tartrate, Copper (II) Sulfate, Potassium Iodide, NaOH 0,2M dan H₂O.
6. Larutan formalin 10% untuk fiksasi sediaan dalam botol kecil.
7. Larutan ether untuk anestesi inhalasi, Pehacain untuk anestesi lokal, alkohol 70% untuk sterilisasi alat.
8. Bahan-bahan untuk biopsi dan untuk membuat sediaan histopatologik.
9. Larutan antiseptik untuk aseptis daerah luka sebelum disayat.

IV.7 Tahapan Kerja

IV.7.1 Persiapan Binatang Coba

Dilakukan pemilihan sampel sejumlah 14 ekor tikus putih jantan jenis *strain wistar*, kemudian dibagi menjadi dua kelompok untuk kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yaitu masing-masing berjumlah 7 sampel. Kedua kelompok tersebut dipelihara selama 3-4 hari pada tempat penelitian yang bertujuan sebagai proses adaptasi terhadap lingkungan sampel. Kandang berupa bak plastik yang berukuran 40 cm x 30 cm x 15 cm. Tiap kandang berisi 3-4 ekor hewan coba, satu kelompok tiap kandang.

Rumus ukuran kandang : $A' = n (0,7W' + 6W')$

A' = luas kandang (cm^2)

n = jumlah hewan

W' = berat hewan (gram) (Diah, 2004)



Gambar 4.1 Kandang tikus putih jantan *strain wistar*.

Tiap kandang diberi label berupa nama kelompok dan disediakan sekam pada alas, tempat makan serta diberi botol yang ujungnya terdapat pipa untuk sedotan sebagai tempat minum tikus. Pemberian makanan dilakukan tiga kali dalam sehari dan penggantian air minum sehari sekali. Kandang hewan coba dibersihkan dan diganti setiap hari sekali.

IV.7.2 Isolasi Lendir Bekicot (*Achatina fulica*)

Pengambilan lendir dari bekicot *Achatina fulica* sebanyak 10-20 ekor, dengan cara merangsang permukaan tubuh bekicot dengan menggunakan *electric shock* pada tegangan listrik 5-10 Volt selama 30-60 detik. Lendir ditampung atau dikumpulkan dalam suatu tabung reaksi dan disimpan di dalam *freezer* dalam kondisi tertutup rapat. Ketika akan dipakai, lendir dicairkan terlebih dahulu dan diukur berapa volumenya (volume sampel).

Lendir bekicot yang larut dalam air didapat dengan cara mencampur dengan air (aquades) sebanyak dua kali volume sampel. Kemudian ditambahkan potassium asetat 1% dalam etil alkohol sebanyak lima kali volume sampel lalu campuran yang didapatkan didiamkan selama semalam pada suhu 4⁰ C di atas magnet stirrer dalam lemari pendingin. Setelah itu ekstrak larut air tersebut disentrifuse pada 8000 X g selama 30 menit.

Supernatan/endapan yang didapat kemudian diukur volumenya dan dilarutkan dalam aquades sebanyak 2,5 kali volume sampel dan cetylpyridinium chloride 5% sebanyak 5/8 kali volume sampel, lalu disimpan selama 1 jam dalam suhu ruangan. Setelah 1 jam, campuran tersebut disentrifuse pada 8000 X g selama 30 menit, kemudian endapannya dilarutkan dalam 2,5M NaCl sebanyak ¼ volume sampel pada suhu 45⁰ C selama 30 menit. Setelah itu, ditambah etanol sedikit demi sedikit sebanyak 3 kali volume sampel, kemudian didiamkan selama 1 jam dan selanjutnya campuran tersebut disentrifuse pada 2900 X g (4000 rpm) selama 30 menit. Tujuan penambahan ethanol untuk mendapatkan ekstrak yang dimurnikan dalam presipitasi ethanol.

Presipitasi yang didapat diencerkan kembali dengan tris-HCL pH 8,0 dan didapatkan ekstrak lendir bekicot presipitasi etanol hasil resuspensi. Hasil resuspensi yang didapat dikumpulkan dan kemudian disimpan di dalam -80°C untuk kemudian dilakukan *freeze dry* untuk mendapatkan ekstrak lendir bekicot yang pekat dan kering mudah disimpan serta mengandung *crude* acharan sulfate. Sebelum diaplikasikan pada luka sayatan di kulit punggung tikus putih jantan *strain wistar*, ekstrak tersebut diencerkan dahulu dengan aquades dengan perbandingan 10 mg/ml (Jeong 2001; L Chi 2006; Park 2008).

IV.7.3 Penghitungan Kadar Ekstrak Lendir Bekicot Presipitasi Ethanol

Ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*) yang telah diperoleh mengandung *crude acharan sulfate*, sejenis glikosaminoglikan turunan protein yang belum diketahui berapa kadar kandungannya. Oleh karena itu perlu dilakukan penghitungan kadar protein, salah satunya dapat dengan cara metode biuret. Metode biuret ini didasarkan pada pembentukan kompleks yang berwarna ungu. Kompleks ini terbentuk apabila suatu peptida atau protein yang terdiri dari dua ikatan peptida atau lebih bereaksi dengan CuSO_4 dan NaOH . Warna yang timbul disebabkan karena kompleks ion Cu^{2+} dengan empat atom nitrogen yang berasal dari empat cincin peptida. Kadar protein dihitung dengan mengkonversi pada kurva Bovin Serum Albumin (BSA) yang sudah diketahui konsentrasinya (Aulanni'am, 2005).

Peralatan yang digunakan adalah *spectrophotometer* Vis dengan maksimum transmisi pada 550 nm dan kuvet dari kaca atau *polystyrene*. Reagen biuret yang dipersiapkan yaitu 2,25 g Sodium potassium tartrate ($\text{NaKC}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), 0,75 g Copper sulfate x 5 H_2O ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) dan 1,25 gm

Potassium iodide. Semua bahan tersebut dilarutkan dalam 100 ml 0,2 M NaOH (0,8 gm/100 ml), lalu tambahkan akuades sampai 250 ml (Aulanni'am, 2005).

Penyiapan larutan stok BSA didapatkan dari menimbang BSA sebanyak 1,00 g kemudian dilarutkan dengan akuades dalam beaker gelas 50 ml dan ditambah dengan beberapa tetes NaOH 3%. Selanjutnya diencerkan dengan akuades dalam labu ukur 100 ml sampai volume tanda batas. Penentuan panjang gelombang BSA dilakukan pada konsentrasi BSA 5000 ppm, dan dihasilkan panjang gelombang maksimum BSA. Kemudian dilakukan penyiapan pembuatan kurva baku BSA dengan menyiapkan seri larutan BSA (Aulanni'am, 2005).

Kurva baku BSA dibuat dengan membuat larutan BSA dengan konsentrasi 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, dan 9000 ppm sebanyak masing-masing 200 μ l dan 800 μ l reagen biuret kemudian dikocok dan didiamkan 30 menit pada suhu kamar. Selanjutnya diukur pada panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer. Hasil pengukuran absorbansi pada berbagai konsentrasi dibuat persamaan regresi linier sehingga dihasilkan kurva baku BSA (Aulanni'am, 2005).

Kadar protein ditentukan dengan metode biuret dengan cara 200 μ l larutan protein ditambah 800 μ l reagen biuret, kemudian dikocok dan didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum BSA yang telah didapat. Absorbansi yang didapat dikonversikan pada kurva baku BSA, untuk reagen blank dipipet 200 μ l air dan ditambah 800 μ l reagen biuret, kemudian diukur absorbansinya (Aulanni'am, 2005).

IV.7.4 Perlakuan

IV.7.4.1 Metode Pembuatan Luka

Perlukaan biasanya dilakukan pada area tertentu pada hewan coba, biasanya pada dorsal perut, punggung, ujung ekor dan mukosa mulut. Mayoritas penelitian (78,2%) menggunakan punggung tikus sebagai lokasi perlukaan. Begitupun pada penelitian ini, perlukaan dilakukan pada punggung tikus dengan pertimbangan bahwa rongga mulut tikus kecil dan menyulitkan dalam membuat perlukaan, sedangkan punggung tikus tidak banyak bergerak, lebih luas, sehingga lebih mudah dilakukan perlukaan, dan juga tikus akan kesulitan jika ingin menyentuh punggungnya sehingga mengurangi resiko terganggunya penyembuhan karena perilaku hewan coba terhadap lukanya.

Sebelum membuat perlukaan, rambut yang menutupi kulit punggung tikus yang akan dilukai dihilangkan dengan silet cukur, lalu kulit punggung tikus dibersihkan dengan antiseptik. Perlukaannya yaitu dilakukan insisi / luka sayatan pada punggung tikus sepanjang ± 2 cm dengan menggunakan scalpel, pengukuran panjang dilakukan dengan menggunakan penggaris kecil, sedang kedalamannya dengan penandaan alat scalpel setinggi ± 2 mm sehingga keakuratan luka pada masing-masing kelompok dapat terpenuhi.

IV.7.4.2 Cara Perlakuan

Tiap kelompok diberi perlakuan sebagai berikut :

1. Kelompok Kontrol (KK) dan Kelompok Perlakuan (KP) sebelum mendapatkan perlakuan dilakukan anestesi inhalasi terlebih dahulu dengan tujuan agar hewan coba tidak mengalami nyeri pada perlakuan awal, yaitu pembuatan luka sayatan sepanjang ± 2 cm dengan kedalaman \pm

- 2 mm pada kulit punggungnya dengan menggunakan scalpel. Cara perlakuannya dengan memasukkan hewan coba ke dalam tabung kaca yang dasarnya terdapat kain yang telah dibasahi larutan ether kemudian ditutup rapat dan ditunggu sampai hewan coba tampak lemas.
2. Setelah masing-masing kelompok kontrol dan kelompok perlakuan diberi perlakuan awal, luka sayatan pada kelompok kontrol diirigasi dengan larutan air saline sedangkan kelompok perlakuan ditetesi dengan ekstrak lendir bekicot yang telah diencerkan dengan aquades (10 mg/ml) masing-masing sebesar 3 ml setiap hari selama 5 hari perlakuan dengan cara ditetaskan dengan jarum suntik berujung tumpul ke daerah luka, sebagian ditetaskan pada kasa steril yang nantinya digunakan untuk menutup luka. Diharapkan dengan ini, ekstrak dapat lebih lama berkontak dengan luka, serta dapat berpenetrasi atau meresap ke dalam jaringan kulit punggung tikus dan mempercepat proses re-epitelialisasi jaringan luka. Selain itu, luka ditutup kain kasa steril juga bertujuan agar terlindung dari kontaminasi lingkungan luar.
 3. Pada hari ke-6 dilakukan biopsi, dibuat spesimen kulit punggung tikus dengan mengikutsertakan bagian yang normal, kemudian jaringan difiksasi dengan larutan formalin 10% dan selanjutnya dibuat sediaan mikroskopik. Untuk semua spesimen, pemotongan dengan mikrotom dilakukan dengan ketebalan 5 μ dan diwarnai dengan Hematoksilin Eosin (HE).
 4. Luka pada kulit punggung hewan coba yang terbuka akibat pengambilan jaringan biopsi tersebut kemudian dijahit dan diberi antiseptik.

IV.8 Teknik Penghitungan Jumlah Sel Epitel Basalis Luka

Cara untuk melihat re-epitelialisasi bisa dengan cara seluler maupun molekuler. Secara seluler, dengan cara membuat luka lalu dilakukan eksisi standar (Swift *et.al*) lalu spesimen tersebut dicat dengan Hematoksilin Eosin (HE), dan dilihat hasil pengecatan tersebut dengan menggunakan mikroskop cahaya (Reynolds *et.al*). Sedangkan secara molekuler, menggunakan imunohistokimia dengan memberikan antibodi monoklonal dan poliklonal anti-keratin spesifik untuk memeriksa keratinosit pada penyembuhan luka akut (Patel *et.al*). Pada penelitian ini digunakan metode seluler.

Pada penelitian ini, penghitungan jumlah sel epitel basalis luka dilakukan dengan menghitung jumlah sel epitel silindris yang duduk terletak pada stratum basalis dengan batas tepi luka pada daerah cekungan (*retepeg*) dalam satu lapangan pandang dengan bantuan mikroskop cahaya pembesaran 400x lalu dihitung setelah difoto dengan kamera resolusi minimal 3 megapiksel dan *optical zoom* minimal 5x lalu dimasukkan dalam komputer dan dihitung secara manual dengan bantuan program *Image Tool* dari komputer.

IV.9 Analisis Data

Analisa data hasil penghitungan jumlah sel epitel basalis luka untuk mengetahui pemberian ekstrak lendir bekicot terhadap jumlah sel epitel basalis luka kulit punggung tikus putih jantan *strain wistar* dengan menggunakan uji statistik yaitu uji homogenitas varian, uji distribusi data dan uji *independent samples t-test* (Program SPSS for Windows). Data yang diukur bersifat kuantitatif dan analisa statistik ditentukan pada tingkat kemaknaan (α) = 0,05.

Uji homogenitas varian merupakan uji untuk mengetahui variansi data. Parameter yang digunakan adalah nilai probabilitas signifikansi sampel (p).

Hipotesis untuk uji ini yaitu :

$H_0: \mu_1 = \mu_0$ = Rata-rata populasi dari kedua varian adalah sama atau homogen.

$H_1: \mu_1 \neq \mu_0$ = Rata-rata populasi kedua varian adalah tidak sama atau heterogen.

Dasar pengambilan keputusan uji homogenitas ini adalah : jika probabilitas (p) > dari $\alpha=0,05$ maka H_0 diterima dan probabilitas (p) < dari $\alpha=0,05$ maka H_0 ditolak.

Uji distribusi data merupakan uji untuk mengetahui sebaran data tiap kelompok. Parameter yang digunakan adalah nilai probabilitas signifikansi sampel (p). Hipotesis untuk uji ini yaitu :

H_0 = Distribusi kelompok normal.

H_1 = Distribusi kelompok tidak normal.

Dasar pengambilan keputusan uji homogenitas ini adalah : jika probabilitas (p) > dari $\alpha=0,05$ maka H_0 diterima dan probabilitas (p) < dari $\alpha=0,05$ maka H_0 ditolak.

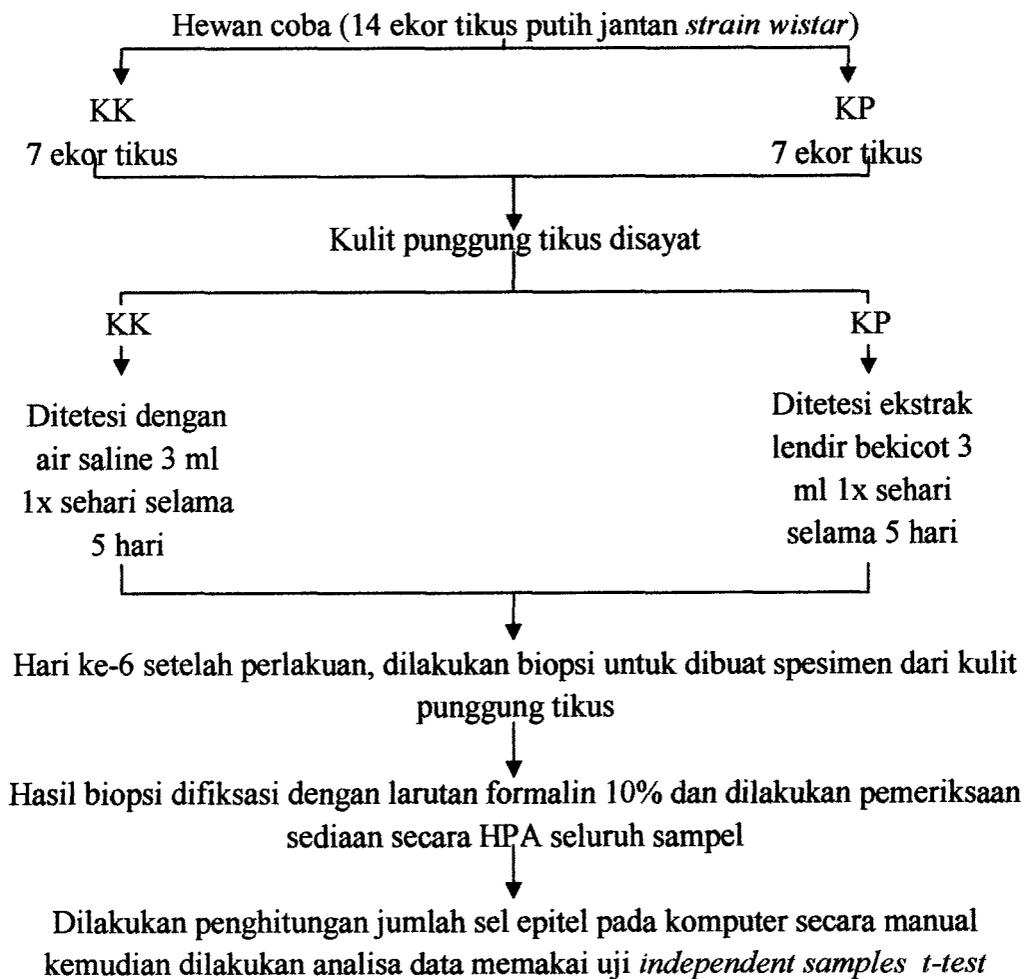
Uji t-test adalah suatu prosedur yang digunakan untuk menguji signifikansi atau kebermaknaan dari perbedaan untuk 1-2 kelompok sampel penelitian. Uji t-test terdiri dari 3 macam yaitu t-test untuk satu sampel (*one sample t-test*), t-test untuk sampel berpasangan (*paired samples t-test*), dan t-test untuk sampel bebas (*independent samples t-test*). Dalam penelitian ini digunakan uji t-test yang *independent samples t-test* karena menggunakan dua kelompok sampel yang tidak saling berhubungan sehingga dinamakan sampel bebas. Parameter yang digunakan adalah nilai probabilitas signifikansi sampel (p). Hipotesis penelitian ini adalah :

H_0 = Tidak ada perbedaan jumlah sel epitel basalis yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

H_1 = Ada perbedaan jumlah sel epitel basalis yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

Dasar pengambilan keputusan uji *independent samples t-test* ini adalah : jika probabilitas (p) > $\alpha=0,05$ maka H_0 diterima dan jika probabilitas (p) < $\alpha=0,05$ maka H_0 ditolak.

IV.10 Alur Penelitian



BAB V
HASIL PENELITIAN
DAN ANALISIS DATA

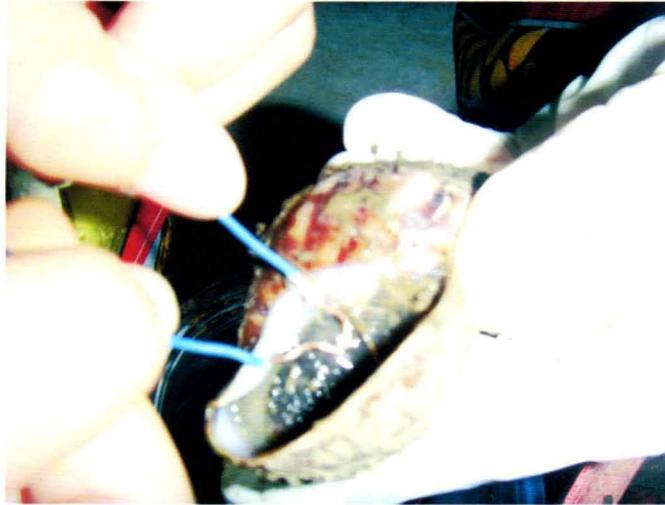
BAB V**HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA****V.1 Hasil Penelitian****V.1.1 Isolasi Lendir Bekicot**

Dalam penelitian ini, penulis menyiapkan sekitar 50 ekor bekicot dengan spesies *Achatina fulica* yang diperoleh dari kota Kediri, Jawa Timur. Bekicot-bekicot tersebut dipelihara dan diadaptasikan dengan lingkungan baru tetapi tetap menyesuaikan dengan kondisi seperti habitat aslinya. Bekicot ditempatkan pada wadah yang beralaskan tanah kering, diberi dedaunan, disemprot atau dipercikkan air minimal 2 kali sehari untuk menjaga kelembaban, diletakkan di tempat teduh, tidak terkena sinar matahari langsung, diberi atap dan tidak berangin. Bekicot diberi makan dengan daun pepaya, daun bayam, daun kangkung, atau daun katuk setiap malam, karena pada saat malam aktivitas bekicot meningkat dan beristirahat di saat siang. Tanah diganti bila sudah terlalu lembab, dan kandang dibersihkan setiap minggu (Anonim A, 2000).



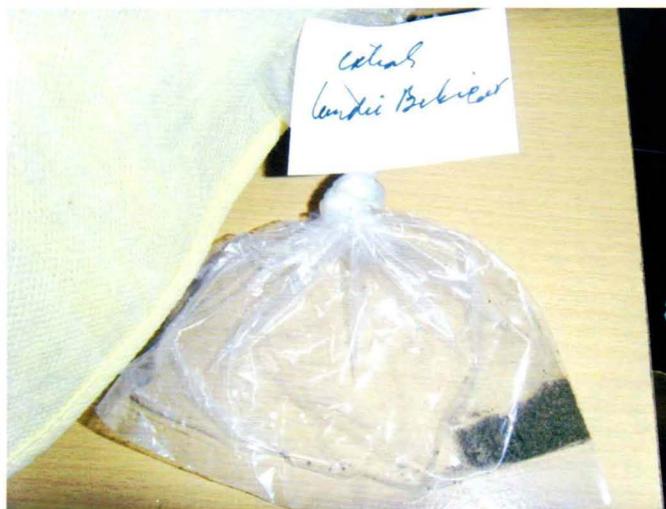
Gambar 5. 1 Bekicot *Achatina fulica*.

Hasil pengukuran volume lendir bekicot yang didapatkan adalah sekitar 550-600 ml. Lendir tersebut disimpan dalam *freezer* dengan botol yang tertutup rapat agar tahan lama, dan dicairkan dahulu jika akan dipakai untuk diekstrak.



Gambar 5. 2 Merangsang permukaan tubuh bekicot dengan *electric shock*.

Lendir bekicot tersebut kemudian diekstrak, *freeze drying*, dan dihitung kadar proteinnya dengan metode biuret, dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Konsultasi Industri, Balai Penelitian dan Konsultasi Industri (BPKI), Surabaya. Hasil yang didapat adalah berupa padatan kecoklatan (*granula*) dengan kadar protein (mengandung *crude acharan sulfate*) sebesar 86,74 % dari berat yang didapat. Setelah dilakukan penimbangan dengan alat timbangan digital dengan keakuratan sampai 0,01 gr di laboratorium IMTKG FKG Universitas Airlangga, didapatkan hasil yaitu berat ekstrak lendir bekicot adalah 1260 mg.



Gambar 5. 3 Padatan kecoklatan (granula) dari ekstrak lendir bekicot *Achatina fulica*.

Dari berat ekstrak yang didapatkan, dilakukan pembagian berat yang merata untuk perlakuan masing-masing tikus selama 5 hari perlakuan dalam kelompok perlakuan yang diaplikasikan ekstrak tersebut (7 ekor hewan coba) dengan menggunakan timbangan digital yang sama, lalu masing-masing diencerkan dengan aquades perbandingan 10 mg/ml (Jeong 2001; L Chi 2006; Park 2008).

Tabel 5.1 Pembagian berat dan pengenceran ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*).

Hari	Tikus 1	Tikus 2	Tikus 3	Tikus 4	Tikus 5	Tikus 6	Tikus 7
I	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml
II	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml
III	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml
IV	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml
V	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml	B = 30 P = 26 A = 3 ml

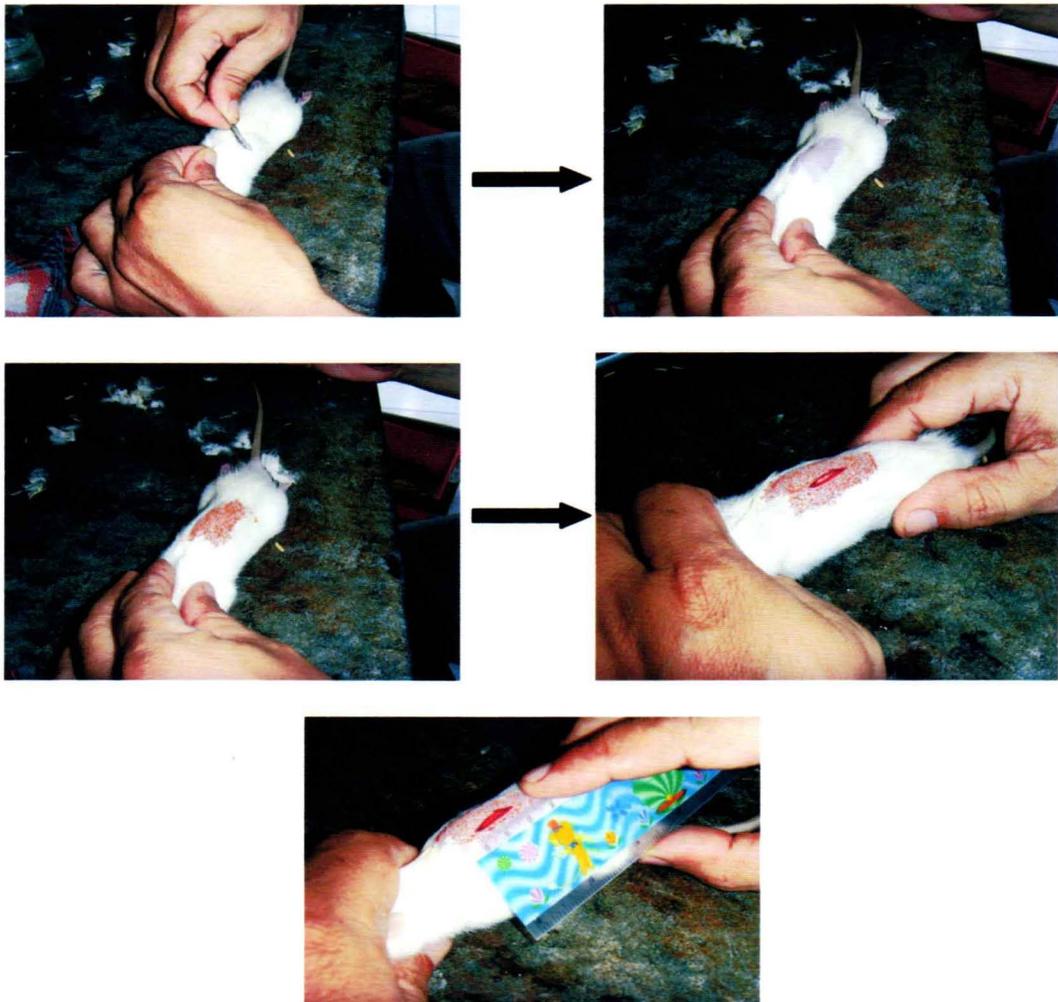
Keterangan : B = berat ekstrak (mg)
P = berat protein (mg)

A = volume aquades (ml)

Ekstrak yang telah diencerkan tersebut, lalu diletakkan dalam botol-botol kecil untuk diaplikasikan pada masing-masing tikus kelompok perlakuan.

V.1.2 Perlakuan pada Tikus Putih Jantan *Strain Wistar*

V.1.2.1 Tahap Perlukaan



Gambar 5.4 Tahap perlukaan tikus putih jantan *strain wistar*.

Seperti yang tampak pada gambar di atas, sebelum membuat perlukaan, rambut yang menutupi kulit punggung tikus yang akan dilukai dihilangkan terlebih dahulu dengan dicukur menggunakan silet cukur steril, kemudian diberi antiseptik lalu dibuat perlukaan sesuai prosedur yang telah dijelaskan pada metode penelitian.

V.1.2.2 Tahap Pemberian Perlakuan

Setelah kulit punggung tikus putih jantan *strain wistar* dilukai, lalu diberikan perlakuan sesuai kelompok yang telah disebutkan sebelumnya. Pemberian ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*) maupun air saline tersebut dilakukan dengan cara diteteskan dengan jarum suntik berujung tumpul ke daerah luka, sebagian diteteskan pada kasa steril yang nantinya digunakan untuk menutup luka.

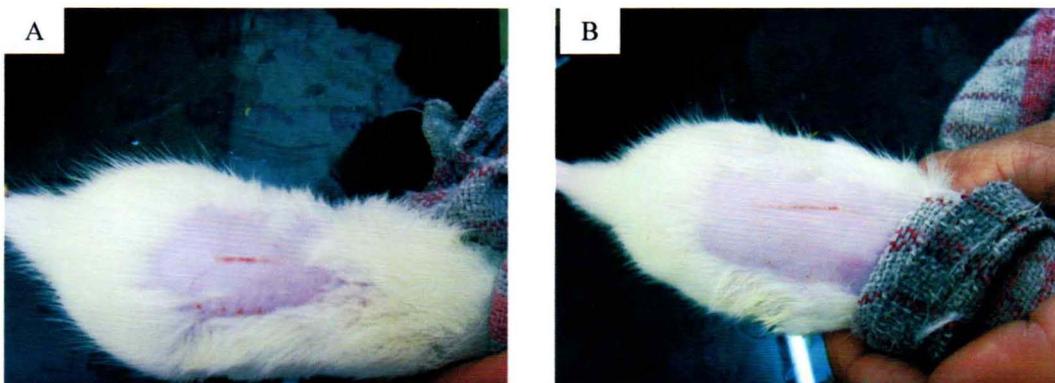


Gambar 5.5 Luka tikus ditutup dengan kasa steril dan plester.

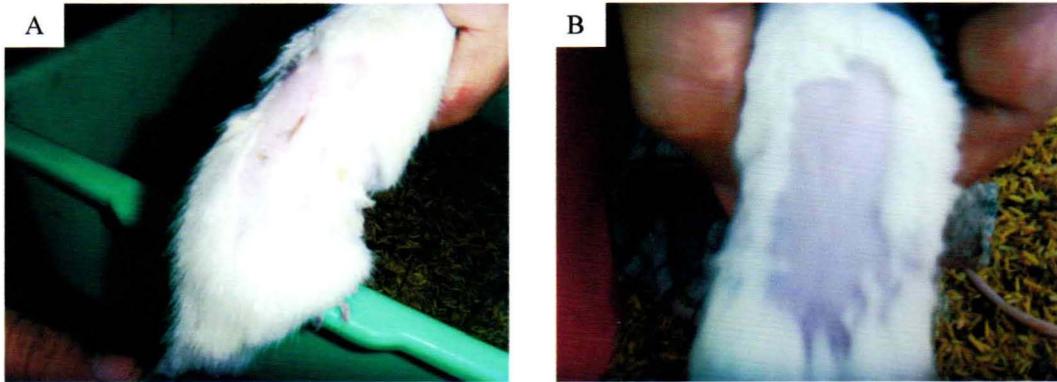
Perlakuan ini diberikan 3 ml sekali dalam sehari selama 5 hari perlakuan, lalu hari ke-6 dilakukan biopsi.

V.1.2.3 Evaluasi Makroskopis

Pada hari ke-3 dan ke-5, luka di kulit punggung tikus putih jantan *strain wistar* dipotret untuk melihat gambaran penyembuhan luka secara klinis atau makroskopis.



Gambar 5.6 Gambaran makroskopis dari luka sayatan pada kulit punggung tikus putih jantan *strain wistar* pada hari ke-3 setelah dilukai, kelompok kontrol (A), kelompok perlakuan (B).

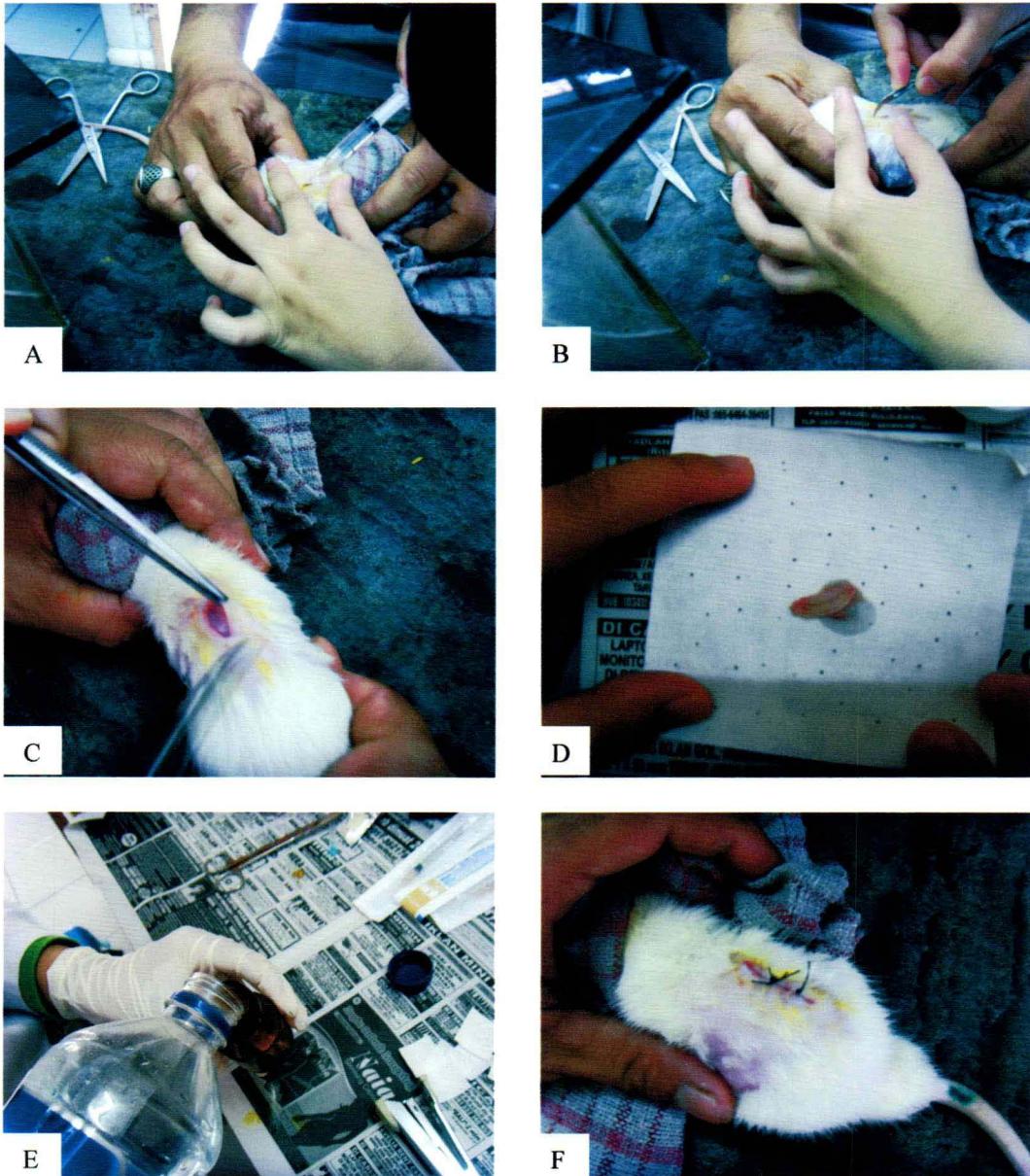


Gambar 5.7 Gambaran makroskopis dari luka sayatan pada kulit punggung tikus putih jantan *strain wistar* pada hari ke-5 setelah dilukai, kelompok kontrol (A), kelompok perlakuan (B).

Dari hasil pemotretan di atas, secara makroskopis tidak terlalu tampak perbedaan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Pada kelompok perlakuan, dapat dilihat bahwa penutupan luka tampak lebih baik, krusta lebih sedikit, dan luka tampak tak berbekas dibanding dengan kelompok kontrol.

V.1.2.4 Tahap Persiapan Jaringan untuk Pembuatan Preparat Histologis

Sebelum dibiopsi, daerah yang akan dibiopsi diberi anestesi lokal dengan pehacain. Biopsi dilakukan dengan melakukan eksisi mengambil jaringan luka disertai jaringan kulit punggung tikus yang sehat. Setelah dibiopsi, luka pada kulit punggung hewan coba yang terbuka akibat pengambilan jaringan biopsi tersebut kemudian dijahit dan diberi antiseptik. Spesimen kulit punggung tikus putih jantan *strain wistar* hasil biopsi dimasukkan dalam larutan formalin 10 % dalam botol kecil untuk masing-masing spesimen, lalu dikirim ke laboratorium patologi anatomi RSUD Dr. Soetomo untuk dibuatkan preparat histologis.

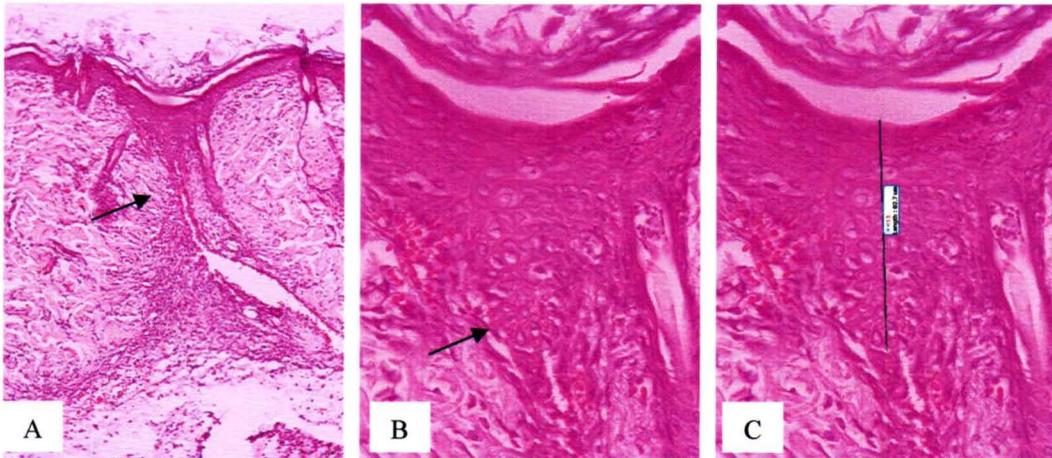


Gambar 5.8 Tahap persiapan jaringan untuk preparat histologis, jaringan yang akan dibiopsi dianestesi (A), diinsisi (B), dieksisi (C), hasil biopsi diletakkan pada kertas saring (D), dilipat, dimasukkan dalam botol berisi formalin 10 % (E), luka biopsi dijahit (F).

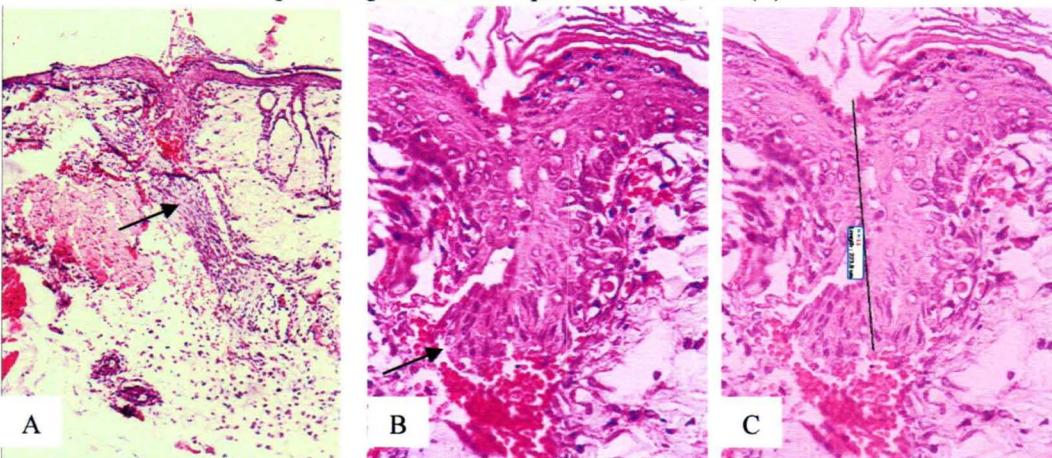
V.1.2.5 Evaluasi Mikroskopis

Setelah preparat ke-14 tikus putih jantan *strain wistar* selesai, kemudian preparat tersebut diamati dengan mikroskop pembesaran 100x, 200x, dan 400x. Pembesaran 100x untuk menentukan lokasi luka sayatan, pembesaran 400x untuk melihat dan menghitung jumlah sel epitel basalis, sedangkan pembesaran 200x diperlukan apabila pembesaran 400x dirasa terlalu besar sehingga tidak

didapatkan lapangan pandang yang diinginkan. Selain menghitung jumlah sel epitel basalis, juga diamati hasil penutupan luka serta diukur ketebalan epidermis luka dari masing-masing preparat, sebagai data penunjang.



Gambar 5.9 Gambaran mikroskopis pada kelompok kontrol, pembesaran 100x dengan panah adalah lokasi luka (A), 400x dengan panah adalah sel epitel basalis pada stratum basalis (B), perhitungan ketebalan epidermis = 82,7 um (C).



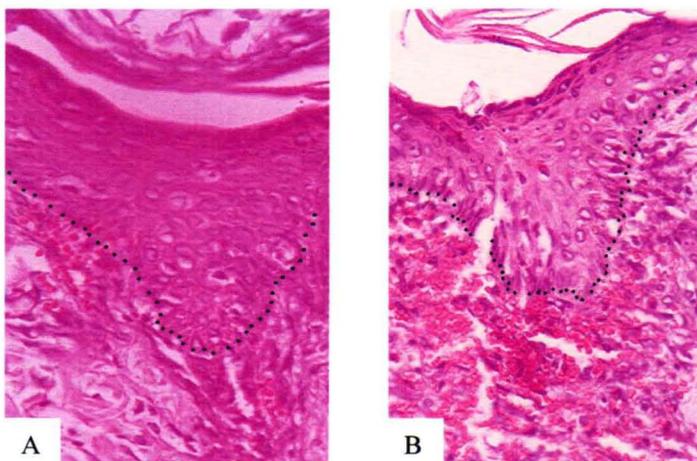
Gambar 5.10 Gambaran mikroskopis kelompok perlakuan, pembesaran 100x dengan panah adalah lokasi luka (A), 400x dengan panah adalah sel epitel basalis pada stratum basalis (B), perhitungan ketebalan epidermis = 223,8 um (C).

Seperti yang tampak pada gambar 5.9 dan 5.10, bagian A adalah gambaran mikroskopis pembesaran 100x untuk melihat lokasi luka. Daerah luka tampak berbeda dengan jaringan sehat sekitarnya, yaitu adanya proliferasi fibroblast, proliferasi pembuluh kapiler, dan sabut-sabut kolagen tampak tidak teratur. Untuk gambar bagian B dengan pembesaran 400x digunakan untuk melihat dan menghitung sel epitel basalis luka yang terletak di stratum basalis pada membrana

basalis yang ditandai dengan panah. Gambar bagian C adalah hasil pengukuran ketebalan epidermis dengan *software* komputer khusus, dan didapatkan hasil untuk kelompok kontrol sebesar 82,7 um dan kelompok perlakuan sebesar 223,8 um. Hasil ini menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan terdapat epidermis yang lebih tebal daripada kelompok kontrol. Selain hasil ini, untuk penutupan luka pada kelompok kontrol didapatkan 3 preparat dengan luka yang belum menutup, sedangkan pada kelompok perlakuan, hanya 1 preparat dengan luka yang belum menutup.

V.1.3 Hasil Penghitungan Jumlah Sel Epitel Basalis Luka

Penghitungan jumlah sel epitel basalis luka dihitung dengan menggunakan program *Image Tool* pada komputer dalam satu lapangan pandang.



Gambar 5.11 Hasil penghitungan jumlah sel epitel basalis luka dengan menggunakan program *Image Tool* dari computer, kelompok kontrol (A), kelompok perlakuan (B).

Dan hasil untuk penghitungan jumlah sel epitel basalis luka tersebut adalah sebagai berikut :

Tabel 5.2 Jumlah sel epitel basalis pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, beserta nilai uji statistiknya.

Sampel	Jumlah sel epitel basalis	
	Kontrol	Perlakuan
1	44	78
2	40	69
3	37	67
4	46	66
5	51	77
6	32	74
7	47	94
Mean	42,4286	75,0000
Standar Deviasi	6,50275	9,62635
Sig. Levene's Test	0,546	
Sig. Kolmogorov-smirnov Test	0,990	0,835
Sig. Independent samples t-test	0,000	

Berdasarkan dari tabel 5.2 di atas dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan rata-rata jumlah sel epitel basalis antara masing-masing kelompok perlakuan. Rata-rata jumlah sel epitel basalis pada kelompok kontrol adalah sejumlah 42,43 sel, sedangkan rata-rata jumlah sel epitel basalis pada kelompok perlakuan adalah sejumlah 75 sel.

V.2 Analisis Data

V.2.1 Uji Homogenitas Varian

Berdasarkan perhitungan dari tabel 5.2, didapatkan nilai Sig. (p) = 0,546, dengan demikian $p = 0,546 > \alpha = 0,05$, sehingga H_0 diterima yang berarti bahwa rata-rata populasi dari kedua varian adalah sama atau data homogen (dalam SPSS tertulis '*equal variances assumed*') sehingga memenuhi syarat untuk dilakukan uji *independent t-test* selanjutnya.

V.2.2 Uji Distribusi Data

Berdasarkan tabel 5.2 di atas, didapatkan nilai signifikansi (p) yang diperoleh dari penelitian untuk kelompok kontrol adalah 0,990, dengan demikian probabilitas (p) = 0,990 > α = 0,05 sehingga H_0 diterima yang berarti bahwa distribusi kelompok normal untuk kelompok kontrol. Sedangkan nilai signifikansi (p) yang diperoleh dari penelitian untuk kelompok perlakuan adalah 0,835, dengan demikian probabilitas (p) = 0,835 > α = 0,05 sehingga H_0 diterima yang berarti bahwa distribusi kelompok normal untuk kelompok perlakuan. Nilai signifikansi (p) pada setiap uji distribusi kelompok menunjukkan hasil bahwa tiap kelompok berdistribusi normal sehingga memenuhi syarat untuk dilakukan uji *independent t-test* selanjutnya.

V.2.3 Uji *independent samples t-test*

Berdasarkan tabel 5.2 di atas, nilai signifikansi (p) dari penelitian ini adalah 0,000 dengan demikian probabilitas (p) = 0,000 < α =0,05 sehingga H_0 ditolak H_1 diterima yang berarti bahwa ada perbedaan jumlah sel epitel basalis yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Dari hasil penelitian ini didapatkan bahwa hasil tersebut sesuai dengan hipotesa awal dalam penelitian ini, yaitu pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak lendir bekicot *Achatina fulica* dapat meningkatkan jumlah sel epitel basalis pada luka sayatan di punggung tikus putih jantan *strain wistar*, sehingga tampak adanya perbedaan bermakna pada jumlah sel epitel basalis dengan kelompok kontrol yang diberi air saline.

BAB VI
PEMBAHASAN

BAB VI

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan membuat luka sayatan pada kulit punggung tikus putih jantan *strain wistar* dan mengaplikasikan ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*) pada kelompok perlakuan luka sayatan tersebut untuk mengetahui bahwa ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*) ini dapat mempercepat proses penyembuhan luka dengan cara meningkatkan jumlah sel epitel, terutama sel epitel basalis yang terdapat di stratum basalis, yang merupakan lapisan epidermis yang berbatasan langsung dengan membrana basalis dan berperan dalam mitosis sel dan pembaruan sel-sel epidermis secara berkesinambungan (Junqueira, 2007).

Dalam penelitian ini terdapat dua kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol yang diberi air saline dan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*). Pada kelompok kontrol, luka sayatan pada kulit punggung tikus putih jantan *strain wistar* tidak dibiarkan begitu saja, tetapi juga diberi perlakuan agar proses penyembuhannya dapat berjalan dengan baik. Oleh karena itu, kelompok kontrol tersebut diberi air saline. Fungsi pemberian air saline ini adalah sebagai larutan irigasi yang secara fisiologis mirip dengan cairan tubuh karena mengandung Na (Natrium) dan Cl (Chlorida), sehingga tidak menyebabkan iritasi dan dapat mendukung pertumbuhan granulasi (Haris, 2009). Hal ini diperlukan karena luka tidak boleh kering, harus tetap lembab agar pertumbuhan sel-sel baru lebih optimal (Kesuma, 2010).

Sedangkan untuk kelompok perlakuan, luka sayatan pada punggung hewan coba tersebut diberi ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*) untuk membantu proses penyembuhan luka. Hal ini didasarkan pada penelitian terdahulu oleh Martins, Maria de Fatima *et.al* (2003), yang menggunakan 3 kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol yang tidak diberi apapun, kelompok perlakuan pertama dengan menggunakan lendir bekicot (*Achatina fulica*) murni, dan kelompok perlakuan kedua dengan menggunakan salep kulit yang mengandung ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*), menunjukkan hasil bahwa pada kelompok perlakuan yang keduanya diberi lendir bekicot walaupun dalam bentuk yang berbeda, proses penyembuhan dan perbaikan jaringan kulit terjadi dalam waktu yang lebih cepat dibanding dengan kelompok kontrol. Secara histologis, lapisan basalis pada kedua kelompok perlakuan terbentuk tampak lebih teratur daripada kelompok kontrol. Sedangkan secara makroskopis, tampak lebih sedikit pembentukan jaringan parut pada kelompok perlakuan daripada kelompok kontrol. Oleh sebab itu, ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*) ini di luar negeri banyak dikembangkan untuk perawatan kosmetik.

Dalam penelitian ini digunakan bekicot (*Achatina fulica*) yang didapat dari kota Kediri, Jawa Timur, Surabaya. Dari bekicot-bekicot yang didapat tersebut, dikumpulkan lendirnya lalu ditampung di dalam botol. Hasil pengukuran volume lendir bekicot yang didapatkan adalah sekitar 550-600 ml, dengan konsistensi kental, dan berwarna agak keruh. Lendir yang didapat kemudian diekstrak untuk diambil sari proteinnya (*acharan sulfate*) dengan metode maserasi dengan air (*aquades*) lalu dilakukan *freeze drying* (Jeong *et.al*, 2001). *Freeze drying* dilakukan dalam penelitian ini karena bahan yang diekstrak atau diambil dari

lendir tersebut adalah *acharan sulfate*, yaitu suatu glikosaminoglikan yang merupakan keluarga dari anionik polisakarida linier yang terisolasi sebagai proteoglikan berkovalen dengan inti protein, dan protein bersifat mudah rusak karena ikatan peptidanya yang berupa rangkaian asam amino sangat mudah terionisasi (Aulanni'am, 2005; Kim *et.al*, 1998). Oleh karena itu untuk menjaga stabilitas protein, agar tidak mudah mengalami denaturasi atau inaktivasi, dan agar dapat disimpan dalam waktu lama harus disimpan dalam lemari es atau dilakukan *freeze drying*, sehingga didapatkan hasil ekstrak yang pekat, kering dan mudah disimpan (Anonim C 2010; Roy 2004). Hasil ekstrak lendir bekicot yang telah di-*freeze dry* tersebut berupa padatan kecoklatan (*granula*) dengan kadar protein (mengandung *crude acharan sulfate*) sebesar 86,74 % dari berat yang didapat. Setelah dilakukan penimbangan dengan alat timbangan digital dengan keakuratan sampai 0,01 gr di laboratorium IMTKG FKG Universitas Airlangga, didapatkan hasil yaitu berat ekstrak lendir bekicot adalah 1260 mg. Ekstrak tersebut kemudian diencerkan kembali dengan aquades (10 mg/ml) sebelum diaplikasikan pada hewan coba kelompok perlakuan.

Perlakuan pada hewan coba dilakukan selama 5 hari, lalu hari ke-6 dilakukan biopsi untuk dibuat preparat histologis. Biopsi dilakukan pada hari ke-6 karena secara teori, pada hari ke-5, proliferasi epitel dan neovaskularisasi terjadi maksimal (Mitchell, 2008), sehingga diharapkan bila dibiopsi hari ke-6, hewan coba telah melewati fase tersebut, dan menurut penelitian yang dilakukan oleh P. Gal *et.al*. 2008, pada hari ke-6 sudah terbentuk jembatan dari lapisan baru sel epitel walaupun belum sempurna. Setelah biopsi, dibuat sediaan histologis untuk

melihat luka secara mikroskopis dan menghitung jumlah sel epitel basalis pada luka.

Dari hasil penelitian yang terdapat dalam tabel 5.2 didapatkan nilai rerata dan standar deviasi pada kelompok kontrol yaitu sebesar 42,43 dan 6,50 sedangkan pada kelompok perlakuan sebesar 75,00 dan 9,63. Berdasarkan nilai rerata kedua kelompok yang disebutkan di atas, dapat dilihat bahwa pada kelompok perlakuan terdapat jumlah sel epitel basalis yang lebih banyak dibanding kelompok kontrol. Setelah dilakukan uji statistik dengan uji *independent samples t-test* didapatkan nilai signifikansi (p) = 0,000 < α = 0,05, yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*) dengan kadar protein (*crude acharan sulfat*) sebesar 86,74 % dapat membantu meningkatkan jumlah sel epitel basalis pada luka sayatan di punggung tikus putih jantan *strain wistar*, sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan luka pada kulit punggung hewan coba.

Secara mikroskopis, daerah luka tampak berbeda dengan jaringan sehat sekitarnya, yaitu adanya proliferasi fibroblast, proliferasi pembuluh kapiler, dan sabut-sabut kolagen tampak tidak teratur. Selain terlihat perbedaan pada jumlah sel epitel basalis antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, tampak pula adanya perbedaan pada proses penutupan luka, yaitu pada kelompok kontrol didapatkan tiga preparat yang lukanya belum menutup atau belum terbentuk jembatan interseluler dari sel epitel yang baru, sedangkan pada kelompok perlakuan hanya ada satu preparat. Hal ini dapat disebabkan beberapa faktor, dapat berupa faktor intrinsik atau ekstrinsik. Faktor intrinsik antara lain usia,

status kesehatan, nutrisi, oksigenasi dan perfusi jaringan. Faktor ekstrinsik antara lain teknik pembedahan dan penjahitan yang tidak baik, obat-obatan, manajemen luka (misal, teknik pembalutan luka, daerah luka relatif sering bergerak), keadaan psikososial/stress psikis, dan resiko infeksi karena luka yang tidak bersih (Anonim B 2009; Ferry 2007). Dari berbagai macam faktor tersebut, yang menjadi kemungkinan penyebab tidak menutupnya luka pada hewan coba adalah manajemen luka yang tidak baik, karena pada saat evaluasi hari kedua ternyata ada kasa pembalut yang terlepas pada salah satu tikus kelompok perlakuan sehingga luka tidak terlindungi, membuat daerah luka bisa bergerak dan bisa diganggu oleh tikus lain, menyebabkan proses penyembuhannya terganggu. Selain itu, pada kelompok perlakuan yang proses penutupan luka lebih cepat dan terjadi peningkatan jumlah sel epitel basalis, menunjukkan lapisan epidermis yang lebih tebal setelah diukur secara *computerized* dengan *software* komputer khusus. Hal ini dikarenakan pada kelompok perlakuan diberi ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*) yang mengandung *crude acharan sulfate* yaitu suatu glikosaminoglikan yang merupakan salah satu komponen matriks ekstraseluler yang berperan dalam proses penyembuhan luka (Daly 1995). Matriks ekstraseluler seperti glikosaminoglikan dan kolagen disintesis oleh fibroblast, yang proliferasinya dipengaruhi oleh keberadaan *growth factors* yang dihasilkan dari sel radang makrofag (yaitu FGF, EGF, PDGF, VEGF, TGF β) (Im A-Rang, 2009). Glikosaminoglikan adalah turunan dari proteoglikan, yang keduanya adalah pengatur aktif dari fungsi sel, berpartisipasi dalam interaksi sel dan matriksnya yang berhubungan pada peristiwa normal maupun patologis dari pengenalan sel, adhesi, migrasi dan pertumbuhan sel (Vieira *et.al*, 2004. Acharan sulfat (AS)/

heparan sulfat (HS) berperan dalam pertemuan dan keutuhan membran basalis dengan berinteraksi dengan komponen membran basalis seperti fibronektin, laminin, dan kolagen tipe IV. Tingkat ekspresi dan kualitas AS/HS akan berefek pada re-epitelialisasi, pertumbuhan epidermal, dan reaksi pertumbuhan keratinosit (sel-sel epitel) basalis selama re-epitelialisasi (Prathiba, 2000). Sehingga bila pada luka diberi suatu bahan yang mengandung acharan sulfat, maka akan meningkatkan reaksi pertumbuhan sel-sel epitel basalis pada luka tersebut, dan pembentukan jembatan antar sel epitel basalis lebih cepat yang berarti proses penyembuhan luka juga akan lebih cepat. Sel-sel epitel basalis tersebut terletak pada stratum basalis di atas membran basalis yang berperan pada mitosis sel dan pembaruan sel-sel epidermis (Junqueira, 2007). Dengan kata lain, pusat pertumbuhan epidermis terletak pada lapisan ini. Sel-sel epitel/keratinosit pada lapisan-lapisan di atasnya, yaitu stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lucidum dan stratum corneum adalah berasal dari sel-sel kubis/silindris pada stratum basalis yang bergerak semakin ke permukaan semakin pipih dan membentuk lapisan-lapisan tersebut. Oleh sebab itu, bila jumlah sel epitel basalis meningkat, maka pertumbuhan sel epitel lapisan-lapisan di atasnya akan ikut meningkat. Hal inilah yang mengakibatkan ketebalan epidermis pada kelompok perlakuan lebih tebal daripada kelompok kontrol.

Secara makroskopis tidak terlalu tampak perbedaan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Pada kelompok perlakuan, dapat dilihat bahwa penutupan luka tampak lebih baik, krusta lebih sedikit, dan luka tampak tak berbekas dibanding dengan kelompok kontrol. Hal ini dikarenakan glikosaminoglikan bila berinteraksi dengan kolagen akan berperan dalam

kontraksi luka, memberikan kekuatan yang cukup selama fase remodelling, menghambat kolagenesis berlebihan dengan memblok lokasi pembelahan dari kolagen sehingga akan mempengaruhi deposisi serabut kolagen secara *in vivo* (Im A-Rang, 2009). Oleh sebab itu, pembentukan jaringan parut pada kelompok perlakuan lebih sedikit daripada kelompok kontrol. Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*) berperan dalam penyembuhan luka yang lebih baik dibanding penyembuhan secara alami tanpa bantuan dari luar.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

VII.1 Kesimpulan

1. Terdapat perbedaan yang bermakna antara jumlah sel epitel basalis luka pada kelompok kontrol yang diberi air saline dengan jumlah sel epitel basalis luka pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*) dengan kadar protein (*crude acharan sulfate*) sebesar 86,74 % .
2. Pemberian ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*) dengan kadar protein (*crude acharan sulfate*) sebesar 86,74 % dapat meningkatkan jumlah sel epitel basalis pada luka sayatan kulit punggung tikus putih jantan *strain wistar*.

VII.2 Saran

1. Penelitian lebih lanjut terhadap ekstrak lendir bekicot (*Achatina fulica*) untuk penyembuhan luka dalam bentuk yang dapat langsung diaplikasikan pada manusia perlu dilakukan.
2. Penelitian sejenis tetapi menggunakan luka eksisi dapat dilakukan untuk melihat adakah perbedaan hasil dengan penelitian ini yang menggunakan luka insisi.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Alamendah. 2010. *Fauna Identitas Kota dan Kabupaten di Jawa Timur*. Available at <http://alamendah.wordpress.com/2010/11/13/fauna-identitas-kota-dan-kabupaten-di-jawa-timur/>. Accessed on January 1, 2011, 04.02pm.
- Anonim A. 2000. *Budidaya dan Prospek Bisnis Bekicot*. Jakarta: Penebar Swadaya, hlm. 4-7, 9-12, 62-63.
- Anonim B. 2009. *Proses Penyembuhan Luka*. Available at <http://perawatpskiatri.blogspot.com/2009/03/proses-penyembuhan-luka.html>. Accessed on January 2, 2011, 10.35am.
- Anonim C. 2010. *Maintenance of Protein Stability*. Available at <http://www.btc-bti.com/spbioapplications/proteinstability.htm>. Accessed on December 24, 2010, 04.41pm.
- Aulanni'am. 2005. *Protein dan Analisisnya*. Malang: Citra Mentari Group, hlm. 35-40.
- Berbudi, Afiat. 2009. *Lendir Bekicot sebagai Obat Luka*. Available at <http://afiat-sehatwalafiat.blogspot.com/2009/02/lendir-bekicot-sebagai-obat-luka.html>. Accessed on January 19, 2010, 03.00pm.
- Berniyanti, Titiek. 2008. *Isolasi & Karakterisasi Protein Lendir Bekicot (Achasin) Isolat Lokal sebagai Faktor Antibakteri*. Koleksi Khusus Laporan Penelitian Kampus A Unair.
- Berniyanti, Titiek. 2008. *Analisis Hambatan Achasin Bekicot Galur Jawa sebagai Faktor Antibakteri terhadap Viabilitas Bakteri Escherichia coli dan Stertococcus mutans*. Koleksi Khusus Disertasi Kampus A Unair.
- Bevelander, Gerrit. 1998. *Dasar-dasar Histologi*. 8thed. Jakarta: Erlangga, hlm. 50.
- Budi Harto. 2008. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: EGC.
- Daly, T. 1995. *Wound Healing: Alternatives in Management _ The Repair Phase of Wound Healing*. Philadelphia: FA Davis Co, pp. 14-20.
- Dealay, C. 1999. *The Care of Wounds: A Guide for Nurses*. Oxford: Maldenmass Blackwell Science, p. 321.
- Diah Kusumawati. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Yogyakarta : Gajah Mada University Press, hlm. 25.
- Dorsett-Martin, Wanda A. 2004. *Rat Models of Skin Wound Healing: A Review. Wound Repair and Regeneration*, Wiley Inter Science vol 12(6), pp. 591-599.
- Falanga, V. 2006. *Wound Healing*. Available at <http://www.aad.org/profesional/medstudcorcurr/dcwh.htm>.
- Fawcett, Don W. 2002. *Buku Ajar Histologi*. 12thed. Jakarta: EGC, hlm. 130-133.
- Farmakope, Tim Penyusun Revisi. 2001. *Farmakope Obat Hewan Indonesia: Jilid II Farmasetik dan Premiks*. Jakarta: Dirjen Bina Produksi Peternakan Dep. Pertanian RI, hlm. 14.
- Ferry Efendi. 2007. *Faktor-faktor dalam Penyembuhan Luka*. Available at <http://ferryefendi.blogspot.com/2007/11/penyembuhan-luka.html>. Accessed on January 2, 2011, 10.37am.
- Groose & Werner. 2003. *Regulation of Wound Healing by Growth Factors and Cytokines*. *Physiol Rev.* 83: 835-870.

- Guyton & Hall. 1997. *Fisiologi Kedokteran*. 9thed. Jakarta: EGC, hlm. 579-583.
- Haris, Rif Atiningtyas. 2009. *Efektivitas Penggunaan Iodin 10%, Iodin 70 %, Iodin 80%, dan NaCl dalam Percepatan Proses Penyembuhan Luka pada Punggung Tikus Jantan Sprague Dawley*. Skripsi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Im, A-Rang and Kim, YS. 2009. *Role of Glycosaminoglycans in Wound Healing*. Arch. Pharm. Sci & Res vol 1(2), pp. 106-114.
- Jeong, Jia *et.al.* 2001. *Localization and Characterization of Acharan Sulfate in the Body of the Giant African Snail Achatina fulica*. Comparative Biochem and Physio Part B 130 (2001), pp. 513-519.
- Joo EJ *et.al.* 2005. *Nucleolin: Acharan sulfate - binding Protein on the Surface of Cancer Cells*. Available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1237021/>. Accessed on January 29, 2010, 11.41am.
- Junquiera, L Carlos. 2007. *Histologi Dasar*. 10thed. Jakarta: EGC, hlm. 66, 74-75, 106, 355-356.
- Kesuma, Taufik. 2010. *Pengalaman Menggunakan Madu Lebah untuk Obati Luka Diabetes*. Available at <http://indodiabetes.com/pengalaman-menggunakan-madu-lebah-untuk-obati-luka-diabetes.html>. Accessed on October 23, 2010. 06.39pm.
- Kim *et.al.* 1996. *A New Glycosaminoglycan from the Giant African Snail Achatina fulica*. J. Biol. Chem. 271, pp. 11750-11755.
- Kim , Dong-Hyun *et.al.* 1998. *Degradation of Acharan sulfate and Heparin by Bacteroides stercoris HJ-15, a Human Intestinal Bacterium*. Arch. Pharm. Res. Vol. 21(5), pp. 576-580.
- Kloth *et.al.* 1995. *Wound Healing: Alternatives in Management _ The Inflammatory Response to Wounding*. Philadelphia: FA Davis Co.p. 3.
- L Chi *et.al.* 2006. *Preparation and structural determination of large oligosaccharides derived from acharan sulfate*. Carbohydr. Res. 341 (2006), pp. 864-869.
- Lee *et.al.* 2003. *Suppression of Tumor Growth by a New Glycosaminoglycan Isolated from the African Giant Snail Achatina fulica*. <http://www-heparin.rpi.edu/papers/PDF%202003-05/303.pdf>. Accessed on February 28, 2010, 09.36pm.
- Lemeshow S, Hosmer D and Klar J. 1990. *Adequency of Sample Size in Health Studies*. New York: John Wiley and Sons Ltd.
- Martins, Maria de Fatima *et.al.* 2003. *Evaluation of the Achatina fulica Snail Mucoglycoproteic Secretion in Surgical Injury Done in Rabbits*. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. [online], vol. 40, suppl. 3, pp. 213-218.
- Mercandetti, M Cohen. 2005. *Wound Healing: Health & Repair*. Available at <http://Emedicine.com>.
- Mitchell, Richard N *et.al.* 2008. *BS: Dasar Patologis Penyakit*. 7th ed. Jakarta: EGC, pp. 73-75.
- Mutiawati, C. 2005. *Lendir Bekicot Penghilang Rasa Nyeri*. Available at <http://bekicotfansclub.blogspot.com/2009/06/lendir-bekicot-penghilang-rasa-nyeri.html>.
- Novi Ratna Kusumawati. 2006. *Pemberian Infusa Pegagan (Centella asiatica L urban) terhadap Proliferasi Sel Fibroblast pada Proses Penyembuhan Luka*

- (Eksperimental Laboratoris pada Tikus Putih Strain Wistar). Skripsi FKG Unair Surabaya.
- P. Gal *et.al.* 2008. *Simple Method of Open Skin Wound Healing Model in Corticosteroid-treated and Diabetic Rats: Standardization of Semi-Quantitative and Quantitative Histological Assessments*. *Vet. Med.* 2008, 53(12): 652-659.
- Park, Y *et.al.* 2008. *Variation of acharan sulfate and monosaccharide composition and analysis of neutral N-glycans in African giant snail (Achatina fulica)*. *Glycoconj J.* 2008 December; 25(9): 863–877.
- Patel *et.al.* 2005. *Numerous Keratinocyte Subtypes Involved in Wound Re-epithelization*. Available at <http://www.nature.com/jid/journal/v126/n2/abs/5700101a.html>. Accessed on April 15, 2010, 07.37pm.
- Prathiba, V and Gupta, PD. 2000. *Cutaneous Wound Healing: Significance of Proteoglycans in Scar Formation*. *Current Science* vol. 78 (6).
- Puji. 2009. *Parcel Dressing*. Available at <http://gibyantowoundostomicontinent.blogspot.com/feeds/posts/default>. Accessed on April 8, 2010, 09.25pm.
- Reynolds *et.al.* 2005. *Accelerated re-epithelization in β_3 -integrin-deficient-mice is Associated with enhanced TGF- β_1 signaling*. Available at <http://www.nature.com/nm/journal/v11/n2/full/nm1165.html>. Accessed on April, 15 2010, 07.28pm.
- Rinastiti, M. 2003. *Pengaruh Membran Amnion terhadap Jumlah Sel Fibroblast pada Proses Penyembuhan Luka*. *Majalah Kedokteran Gigi*. Edisi khusus ke-3. Universitas Indonesia, Jakarta, hlm. 639-643.
- Robins & Kumar. 1995. *Buku Ajar Patologi I*. 4thed. Jakarta: EGC, hlm. 53-65.
- Roland, C Leeson. 1996. *Buku Ajar Histologi*. Jakarta: EGC, hlm. 116-117.
- Rook, Wilkinson, Ebling. 1998. *Textbook of Dermatology*. 6thed. London: Blackwell Scientefic Publication, pp. 337-344.
- Rosaceabalm. 2009. *Proteoglycans & Glycosaminoglycans*. Available at <http://www.rosaceabalm.com/content3/>. Accessed on January 29, 2010, 05.01pm.
- Rosenberg, Luurence Z. 2006. *Wound Healing, Growth Factor*. Available at <http://www.woundhealing.com>.
- Roy, I and Gupta, MN. 2004. *Freze-drying of Proteins: Some Emerging Concerns*. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 2004 Apr;39(Pt 2): 165-77.
- Sastroamidjoyo, Seno. 2001. *Obat Asli Indonesia*. Jakarta: Dian Rakyat, hlm. 1-13.
- Sherwood, L. 2001. *Fisiologi Manusia*. 2nded. Jakarta: EGC, hlm. 369-373.
- Shim *et.al.* 2002. *Pharmacological Activities of a New Glycosaminoglycan, Acharan sulfate Isolated from the Giant African Snail Achatina fulica*. *Arch Pharm Res* Vol 25(6): 889-894.
- Sjamsuhidajat, Wim de Jong. 2004. *Buku Ajar Ilmu Bedah*. Jakarta: EGC hlm. 67-69
- Sukarsono, M, Rika. 2006. *Pengaruh Aplikasi Perasan Kubis Putih (Brassica oleracea var. Capitata) terhadap Kecepatan Proses Penyembuhan Luka Mukosa Mulut pada Tikus (Strain Wistar)*. Skripsi FKG Unair Surabaya.

- Supranto. 2007. *Teknik Sampling untuk Survey dan Eksperimen*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Sussman & Bates-Jensen. 2007. *Wound Care*. 2nded. USA: Lippincott Williams & Wilkins, pp. 29-31.
- Swift *et.al.* 2001. *Age-related Alterations in the Inflammatory Response to Dermal Injury*. Available at <http://www.nature.com/jid/journal/v117/n5/abs/5601246a.html>. Accessed on April 15, 2010, 07.47pm.
- Takeda, H *et.al.* . 2004. *Effect of Angiotensin II Receptor Signaling during Skin Wound Healing*. American J of Pathology. Vol 165: 1653-1662.
- Torre, de la Jorge. 2006. *Wound Healing, Chronic Wounds*. Available at <http://Emedicine.com/topic477/html>.
- Vieira *et.al.* 2004. *Acharan sulfate, the New Glycosaminoglycan from Achatina fulica Bowdich 1822*. Eur. J. Biochem. 271, pp. 845-854.
- Waynforth, HB. 1980. *Experimental and Surgical Technique in the Rat*. London: Academic Press Limited, p.106.

LAMPIRAN

DATASET ACTIVATE DataSet0.

NPAR TESTS

/K-S(NORMAL)=kontrol perlakuan
/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

[DataSet0] D:\Documents\SKRIPSI!!!\lendir bekicot\analisis data skripsi.sav

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		kontrol	perlakuan
N		7	7
Normal Parameters a	Mean	42.4286	75.0000
	Std. Deviation	6.50275	9.62635
Most Extreme Differences	Absolute	.167	.235
	Positive	.098	.235
	Negative	-.167	-.175
Kolmogorov-Smirnov Z		.442	.621
Asymp. Sig. (2-tailed)		.990	.835

a. Test distribution is Normal.

T-TEST GROUPS=kelompok(0 1)

/MISSING=ANALYSIS

/VARIABLES=jumlah

/CRITERIA=CI(.9500).

T-Test

[DataSet0] D:\Documents\SKRIPSI!!!\lendir bekicot\analisis data skripsi.sa

Group Statistics

	kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
jumlah sel epitel	kontrol	7	42.4286	6.50275	2.45781
	perlakuan	7	75.0000	9.62635	3.63842

Independent Samples Test

Assumptions=Equal variances assumed

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means				
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
jumlah sel epitel	.387	.546	-7.418	12	.000	-32.57143	4.39078

Independent Samples Test

Assumptions=Equal variances assumed

	t-test for Equality of Means	
	95% Confidence Interval of the Difference	
	Lower	Upper
jumlah sel epitel	-42.13811	-23.00475

SAVE OUTFILE='D:\Documents\SKRIPSI!!!\lendir bekicot\analisis spss.sav'
/COMPRESSED.

DATASET ACTIVATE DataSet1.

DATASET CLOSE DataSet0.



**KOMISI KELAIKAN ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KKEPK)
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS AIRLANGGA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")**

Nomor : 45/KKEPK.FKG/VI/2010

Komisi Kelaikan Etik Penelitian Kesehatan (KKEPK) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, telah mengkaji secara seksama rancangan penelitian yang diusulkan, maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian berjudul :

**" PEMBERIAN EKSTRAK LENDIR BEKICOT (*Achatina fulica*) ISOLAT LOKAL
TERHADAP PROLIFERASI SEL EPITEL LUKA "**

Peneliti Utama : **Dina Karimah Putri**
Unit / Lembaga/ Tempat Penelitian : - Lab. Fakultas Kedokteran Hewan Unair
- Lab. Biokimia Fakultas Kedokteran Unair
- Lab. Patologi Anatomi RSUD Dr. Soetomo

DINYATAKAN LAIK ETIK

Surabaya, 25 Juni 2010

Ketua,



Prof. Dr. ISTIATI, drg, SU



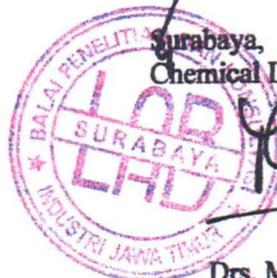
**BALAI PENELITIAN DAN KONSULTASI INDUSTRI
LABORATORIUM
PENELITIAN DAN KONSULTASI INDUSTRI
SURABAYA – JAWA TIMUR**

**REPORT
Laboratory Test Result**

No. : 02984/KI/X-2010
Code : Penelitian
Sample Sender : Mhs.FKG UNAIR Surabaya
Sample Name : Ekstrak Lendir Bekicot
Test : Protein
Sample Brand :
Sample Identity : Padatan keceklatan
Sample Accepted : 15 Okt. 2010

Chemical laboratory test result is :

Protein , % : 86,74



Surabaya, 19 Okt. 2010
Chemical Laboratory Researcher

Drs. M. Fatoni, MS

Laboratory office Jl. Ketintang Baru XVII No. 14
Telp. 031 – 8281941 Bank BCA – Bank Jatim

