

- AYUDOKSIS
- PLANTAS MADLN - Perpustakaan Unair
- TOOTH EXTRACTOR

**UJI SITOTOKSISITAS *Aloe vera* GEL 100%
METODE *FREEZE DRYING* TERHADAP SEL FIBROBLAS
DITINJAU DARI WAKTU INKUBASI**

(Penelitian Eksperimental Laboratoris)

SKRIPSI

15 30 07

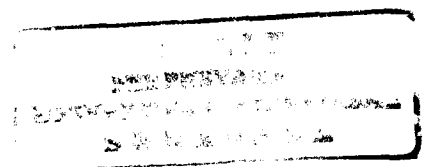
100



Oleh :

RIA MARTHANTI
NIM. 020210015 E

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2007**



**UJI SITOTOKSISITAS *Aloe vera* GEL 100%
METODE *FREEZE DRYING* TERHADAP SEL FIBROBLAS
DITINJAU DARI WAKTU INKUBASI
(Penelitian Eksperimental Laboratoris)**

SKRIPSI

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk
Menyelesaikan Pendidikan Dokter Gigi
Di Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Airlangga
Surabaya**

Oleh :

**RIA MARTHANTI
NIM. 020210015 E**

Mengetahui / Menyetujui :

Pembimbing I



**Pratiwi Soesilawati., drg., MKes
NIP. 132 148 534**

Pembimbing II



**Christian Khoswanto, drg., MKes
NIP. 132 229 717**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2007**

KATA PENGANTAR

Penulis memanjatkan syukur kepada Allah SWT, atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya, skripsi yang berjudul “ UJI SITOTOKSISITAS *Aloe vera* GEL 100% METODE *FREEZE DRYING* TERHADAP SEL FIBROBLAS DITINJAU DARI WAKTU INKUBASI” dapat diselesaikan sebagai salah satu syarat yang harus dipenuhi untuk mencapai gelar kesarjanaan dalam pendidikan dokter gigi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.

Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada :

1. Prof. Dr. Moh. Rubianto, drg, MS., Sp.Perio., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberi ijin dan fasilitas yang menunjang terselesaikannya skripsi ini.
2. Markus Budi Rahardjo, drg, Mkes. selaku Kepala Laboratorium Biologi Mulut yang telah membentangkan ijin dan fasilitas untuk dapat menyelesaikan skripsi ini.
3. Pratiwi Soesilawati, drg, Mkes. Selaku dosen pembimbing I yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk mengarahkan dan memberikan wawasan kepada penulis dalam penulisan skripsi.
4. Christian Khoswanto, drg, Mkes. Selaku dosen pembimbing II yang juga telah meluahkan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing, mengarahkan dan memberikan wawasan kepada penulis dalam penulisan skripsi.

5. Ester Arijanti R, drg, Mkes, selaku dosen penguji skripsi yang telah banyak memberikan kritik, saran, dan masukan dalam penyusunan skripsi ini.
6. Dr. Istiati, drg, Mkes, selaku dosen penguji skripsi yang telah banyak memberikan kritik, saran, dan masukan dalam penyusunan skripsi ini.
7. Lutfi, drg, Mkes, selaku dosen penguji skripsi yang telah banyak memberikan kritik, saran, dan masukan dalam penyusunan skripsi ini.
8. Noer Ulfah, drg, Sp.Perio, selaku dosen wali yang telah memberikan perhatian, bimbingan, dan motivasi kepada penulis selama penyusunan skripsi ini.
9. Kepala Laboratorium Farmasi Bagian Fitokimia Fakultas Airlangga Surabaya
10. Dosen, staf, dan karyawan Laboratorium Farmasi Bagian Fitokimia Fakultas Airlangga Surabaya.
11. Kepala laboratorium Penyakit kuku dan kulit (PUSVETMA) Surabaya, khususnya bu Indah dan bu Erna yang telah membantu dalam penelitian skripsi ini
12. Kedua Orang tuaku, Bapak dan Ibu serta mbak Nina dan mas Adit yang tidak pernah berhenti memberi dorongan semangat dan doa, sehingga penyusunan skripsi dapat selesai tepat waktunya. Dek fifi yang menjadi penghibur tatkala stress melanda.

13. Aa gendut Rudy Juanto, yang tidak pernah berhenti menyemangatiku dan selalu ada dimana saja dan kapan saja saat aku butuhkan, Tengkyu for loving me.
14. Teman-teman seperjuangan Daya (tengkyu so much), Ayik, Hajar, Dina, Ajeng, Anita, Boni, Ghea, Aseh, Qisthi (atas saran dan masukannya). Teman-teman Pepsi '02 specially Tiwuk, kancis, Tukel, Kucen.
15. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang membantu penyusunan skripsi ini, Semoga Allah SWT memberi balasan yang berlipat ganda, Amien.

Penulis menyadari dalam penulisan skripsi ini, masih jauh dari sempurna. Dengan senang hati penulis akan menerima saran dan kritik yang bersifat membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang kedokteran gigi.

Surabaya, Januari 2007

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	i
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang masalah.....	1
1.2 Rumusan masalah.....	4
1.3 Tujuan penelitian.....	4
1.4 Manfaat penelitian.....	4
1.4.1. Manfaat teoritis.....	4
1.4.2. Manfaat praktis.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Aloe vera.....	5
2.1.1. Sejarah Aloe vera.....	5
2.1.2. Klasifikasi Aloe vera.....	6
2.1.3. Nama daerah Aloe vera.....	7
2.1.4. Nama asing Aloe vera.....	7
2.1.5. Morfologi Aloe vera.....	7
2.1.6. Struktur anatomi Aloe vera.....	8
2.1.7. Kandungan Aloe vera.....	10
2.1.8. Khasiat Aloe vera.....	13

2.1.9. Efek farmakologis daun Aloe vera.....	14
2.2 Fibroblas.....	15
2.3 Proses penyembuhan luka.....	16
2.4 Uji sitotoksitas.....	17
2.5 Kultur sel.....	20
2.6 Freeze drying.....	21
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	23
3.1 Kerangka konseptual.....	23
3.2 Hipotesis penelitian.....	24
BAB IV METODE PENELITIAN.....	25
4.1 Jenis penelitian.....	25
4.2 Tempat penelitian.....	25
4.3 Sampel.....	25
4.3.1. Obyek sampel.....	25
4.3.2. Jumlah sampel.....	25
4.4 Variabel penelitian.....	26
4.5 Definisi operasional.....	26
4.6 Alat dan bahan.....	27
4.6.1. Alat.....	27
4.6.2. Bahan.....	28
4.7 Prosedur penelitian.....	28
4.7.1. Persiapan Aloe vera gel 100% dengan metode freeze drying.....	28
4.7.2. Persiapan kultur sel.....	29

4.7.3. Pembagian kultur sel.....	30
4.7.4. Perlakuan kultur sel.....	31
4.8 Pengolahan dan analisis data.....	33
4.9 Alur penelitian.....	34
BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA.....	36
BAB VI PEMBAHASAN.....	40
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN.....	46
DAFTAR PUSTAKA.....	47
LAMPIRAN.....	52



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Distribusi rata-rata jumlah sel fibroblas yang hidup pada kelompok perlakuan dengan inkubasi 24, 48 dan 72 jam.....	27
Tabel 2. Hasil uji normalitas data dengan kolmogorov-smirnov test.....	28
Tabel 3. Ringkasan hasil uji Anova.....	28
Tabel 4. Hasil uji Tukey-HSD beda kemaknaan masing-masing kelompok perlakuan Aloe vera.....	29



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Alat penelitian.....	40
Gambar 2. Mesin freeze drying Betta 1-8k.....	41
Gambar 3. Bahan-bahan penelitian.....	41
Gambar 4. Aloe vera Barbandesis miller.....	41
Gambar 5. Perlakuan 24 jam.....	42
Gambar 6. Kontrol 24 jam.....	42
Gambar 7. Perlakuan 48 jam.....	42
Gambar 8. Kontrol 48 jam.....	42
Gambar 9. Perlakuan 72 jam.....	43
Gambar 10. Kontrol 72 jam.....	43

BAB I

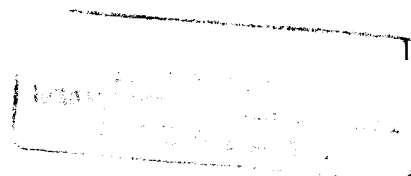
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Keradangan di mukosa mulut merupakan masalah yang masih sering terjadi di masyarakat Indonesia. Luka di mukosa mulut sering disebabkan akibat iritasi karena trauma atau infeksi kuman. Keradangan pada luka tersebut ditandai dengan timbulnya rasa panas, kemerahan pada daerah luka dan rasa sakit yang menyebabkan rasa tidak nyaman pada penderita (Robbins dan Kummar, 1995). Oleh karena itu diperlukan obat yang dapat menyembuhkan serta menghilangkan rasa tidak nyaman karena proses radang pada luka tersebut secepat mungkin.

Saat ini pemanfaatan tanaman obat sebagai antikeradangan topikal untuk rongga mulut masih sangat terbatas. Salah satu tanaman obat yang berpotensi untuk dikembangkan adalah lidah buaya karena hampir semua bagian tanaman ini dapat dimanfaatkan, baik untuk perawatan tubuh, kecantikan maupun mengobati berbagai penyakit (Furnawanthi, 2002).

Berdasarkan hasil penelitian, daun *Aloe vera* dapat berfungsi sebagai anti-inflamasi, antibakteri, antivirus, antijamur, anti alergi, meningkatkan imunitas, mempercepat proses penyembuhan luka dengan meningkatkan regenerasi sel dan dapat menurunkan kadar gula dalam darah (Wolfe, 2001 dan Furnawanti, 2002). Lidah buaya juga dapat digunakan dalam mengobati keradangan didalam mukosa rongga mulut (Davis R, 2000).



Aloe vera mempunyai banyak manfaat dan telah banyak dimanfaatkan dalam bidang kedokteran gigi. Diantaranya, *Aloe vera* digunakan sebagai bahan pasta gigi untuk membantu penyembuhan pasiennya yang mengalami radang gusi dan mengurangi noda (*stain*) akibat merokok (Boel, 2002). Selain itu produk yang mengandung *Aloe vera* juga digunakan untuk mengatasi nyeri akibat pemakaian gigi tiruan dan gangguan mulut lainnya. Selain itu daun *Aloe vera* ini dapat digunakan secara langsung untuk mengatasi peradangan gusi dengan mengoleskan getah segarnya pada sariawan rongga mulut, yang dapat mengurangi rasa pedih dan membantu proses penyembuhan luka akibat sariawan tersebut (Hembing, 1992).

Hasil pengamatan pada luka mencit yang diolesi getah *Aloe vera*, lebih cepat menutup dua kali lebih cepat daripada luka mencit yang tidak diobati. Pengamatan jaringan tubuh di bagian luka di bawah mikroskop memperlihatkan penutupan luka dan penyatuan jaringan kulit berlangsung lebih cepat pada mencit yang diolesi getah *Aloe vera*. Regenerasi sel epitel berlangsung lebih cepat, demikian pula dengan pembentukan pembuluh darah baru serta jumlah sel fagosit lebih tinggi (Davis R, 2000).

Kandungan *Aloe vera* yang berupa *glucomannan* dan *giberrelins* berperan dalam menstimulasi fibroblas untuk berproliferasi lebih cepat pada daerah luka dan mempercepat penyembuhan radang dengan mempercepat proliferasi epitel dan mencegah terjadinya infeksi yang dapat menghambat penyembuhan radang (Davis R, 2000).

Penggunaan *Aloe vera* tidak sepenuhnya aman karena lendir *Aloe vera* berwarna kuning yang mengandung *Antraquinon*, khususnya *Aloin* bersifat sebagai pencahar yang kuat yang dapat mempengaruhi sistem penyerapan air dan nutrisi dalam sistem pencernaan. Penggunaan *Aloe vera* merupakan kontraindikasi bagi wanita hamil dan menyusui karena *Anthraquinon* bisa tersekresi melalui air susu ibu. *Aloe* juga dilaporkan mempengaruhi siklus menstruasi (Newwal, 1996).

Pada uji karsinogenitas *hydroxyanthraquinone* dan glikosida pada *Aloe vera* menunjukkan hasil mutagenik yang menyebabkan kanker pada manusia. Kontra indikasi penggunaan *Aloe vera* lainnya adalah adanya riwayat perdarahan, penyakit pada ginjal (*nephritis*), penggunaan bersama obat pencahar dan radang pada saluran pencernaan. Penggunaan *Aloe vera* secara oral dalam dosis tinggi dan jangka waktu yang lama dapat menyebabkan toksik pada tubuh misalnya diare (Padua, L.S.de, 1999). Sehingga persyaratan biokompatibilitas mutlak diperlukan.

Bahan atau obat yang akan digunakan bagi tubuh harus memenuhi syarat biokompatibilitas yang dapat diterima tubuh dan tidak membahayakan penderita. Jadi bahan atau obat tersebut idealnya tidak toksik, tidak iritan, biokompatibel, tidak karsinogenik dan tidak menimbulkan alergi (Anusacive, 1996).

Berdasarkan latar belakang diatas, maka perlu dilakukan uji sitotoksisitas lama inkubasi *Aloe vera* gel 100% terhadap sel fibroblas. Konsentrasi yang digunakan merupakan hasil penelitian Bidayatul (2006) tentang uji sitotoksisitas berbagai konsentrasi terhadap sel fibroblas.

1.2 Rumusan masalah

Dari latar belakang diatas dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:
Apakah inkubasi 24, 48 dan 72 jam *Aloe vera* gel 100% dengan metode *freeze drying* berpengaruh terhadap sitotoksisitas sel fibroblas?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui inkubasi 24, 48 dan 72 jam *Aloe vera* gel 100% dengan metode *freeze drying* terhadap sitotoksisitas sel fibroblas.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat teoritis

Dapat mengetahui pengaruh sitotoksisitas dari inkubasi 24,48 dan 72 jam *Aloe vera* gel 100% dengan metode *freeze drying* terhadap sel fibroblas.

1.4.2. Manfaat Praktis

1. Memberikan tambahan informasi bagi masyarakat tentang lama pemakaian *Aloe vera* yang aman untuk pengobatan.
2. Memberikan pengetahuan pada masyarakat bahwa bagian-bagian *Aloe vera* tidak sepenuhnya aman digunakan karena ada bagian-bagian tertentu dari *Aloe vera* yang berbahaya bagi kesehatan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Aloe vera*

2.1.1. Sejarah *Aloe vera*

Aloe vera berasal dari perkataan Arab (*Alloeh*) yang artinya pahit. Pada tahun 1500 SM, orang-orang Mesir telah mulai menggunakan *Aloe vera* untuk mengobati luka akibat terbakar, infeksi kuman dan jamur. *Aloe vera* mudah didapatkan di seluruh dunia dan pada semua iklim. Terdapat lebih dari 500 jenis *Aloe vera* dan dikatakan asal tumbuhan ini dari Afrika utara. (Newall, 1996, Redaksi Trubus, 1992).

Pengobatan modern menggunakan *Aloe vera* dimulai sejak tahun 1930, Ketika C.E. Collins dan puteranya Creston mengikuti suku Indian Seminole dan mulai mengobati luka-luka bakar yang disebabkan tehnik-tehnik sinar X yang pada masa itu kurang canggih dengan *Aloe vera*. Didapatkan hasil yang memuaskan, luka-luka itu lebih cepat sembuh dan lebih sedikit meninggalkan bekas luka dibandingkan dengan penggunaan obat-obat lain yang pernah diaplikasikan. Pada tahun 1937 dan 1939 J.E. Crew menggunakan daun-daun *Aloe vera* segar dan membuat salep farmasi *Aloe vera* untuk mengobati bisul pada kulit, luka-luka karena panas dan sengatan matahari. Didapatkan hasil bahwa *Aloe vera* manjur mengurangi rasa sakit, gatal-gatal dan melawan infeksi. Sejak saat itu banyak peneliti yang melakukan riset pada *Aloe vera* (Gage D and Tara E, 2002).

Dalam dunia perdagangan dikenal tiga macam *Aloe vera* yang dihasilkan dari spesies yang berbeda-beda, yaitu:

1. *Aloe curaco* atau *Aloe vera*, *Aloe barbandensis* Miller , *Aloe barbados* , *Aloe vulgaris* , *Aloe chinensis*. Spesies ini mengandung *Aloin* 7,5 – 10 %.
2. *Aloe cape* atau *Aloe ferox* Miller , *Aloe africana* Miller , *Aloe spicata* Baker. Spesies ini mengandung *Aloin* 5 – 9 %.
3. *Aloe socotrine* dan *Aloe perryi* Baker. Spesies ini mengandung *Aloin* 7,0 %
(Furnawanthi, 2002, Newall, 1996, Padua, 1999, Hernani, 2001).

Diantara tiga spesies diatas, yang paling banyak berkhasiat dan aman dikonsumsi untuk pengobatan adalah *Aloe vera* (*Aloe barbandensis* Miller) karena lidah buaya jenis ini mengandung 72 zat yang dibutuhkan tubuh diantaranya 18 macam asam amino, karbohidrat, lemak, air, vitamin, mineral, enzim, hormon dan zat golongan obat antara lain antibiotik, antiseptik, antibakteri, antikanker, antivirus, antijamur, antiinfeksi, antiperadangan, antipembengkakan, antiparkinson dan antiarterosklerosis (Wilmana, 2004)

2.1.2. Klasifikasi *Aloe vera*

Klasifikasi *Aloe vera* adalah sebagai berikut :

- Divisio : *Embyophyta sygnogama*
 Subdivisio: *Angiospermeae*
 Class : *Monocotyledoneae*
 Ordo : *Liliiflorae*
 Subordo : *Liliineae*

Famili : *Liliaceae*

Genus : *Aloe*

Spesies : *Aloe vera*

(Aliadi, 1996: Hernani, 2001: Furnawanthi, 2002: Trease and Evans, 1987).

2.1.3. Nama Daerah

Letah buaya, ilat baya dan jadam.

2.1.4. Nama Asing

Aloe vera punya banyak nama di seluruh dunia. Di Indonesia dikenal dengan nama lidah buaya, *Jadam* (Malaysia), *Crocodiles tongue* (Inggris), *Lu Hui* (Cina), *Sa'villa* (Spanyol), *Musabbar* (India), *Natau* (Philipina), *Aloe* (Jerman), *Jelly leek* (Tibet), *Waan faimai* (Thailand). (Furnawanthi, 2002, Gage and Tara, 2002)

2.1.5. Morfologi *Aloe vera*

Aloe vera termasuk serat rendah, tergolong tanaman bersifat *sukulen* (mengandung banyak air) dan menyukai hidup di tempat yang kering.

1. Bunga

Bunga majemuk, berbentuk terompet atau tabung kecil sepanjang 2-3 cm seperti teratai dari timur, berwarna kuning kemerahan, tersusun sedikit berjantai melingkari ujung tangkai yang menjulang keatas sepanjang 50-100 cm. Bunga *Aloe vera* hanya muncul sekejap sepanjang tahun .

2. Daun

Daun bersap-sap melingkar, pada pangkal melebar dan meruncing pada ujungnya, berbentuk taji dan tebal berdaging. Tepi bergerigi atau berduri kecil, permukaannya berbintik-bintik. Panjang daun 40-90 cm, lebar 6-13 cm, ketebalan kurang lebih 2,5 cm di pangkal daun, punya lapisan lilin di permukaannya. Tebal berdaging, berisi lendir, bergetah kuning kehijauan.

3. Batang

Batang pendek, berbentuk silindris, berserat kayu, umunya tidak terlihat karena tertutup oleh daun yang rapat dan sebagian terbenam tanah.

4. Akar

Aloe vera mempunyai sistem perakaran yang pendek dengan akar serabut yang panjangnya mencapai 30-40 cm. (Furnawanthi, 2002, Gage and Tara, 2002, Giesler and Jones, 2002, Hembing, 1997,)

2.1.6. Struktur Anatomi *Aloe vera*

1. Anatomi batang

Susunan anatomi batang *Aloe vera* dari luar kedalam adalah terdiri dari :

- a. *Epidermis*, yang terdiri dari sel-sel berbentuk tubular dan berfungsi sebagai jaringan pelindung.
- b. *Eksodermis*, yang juga berfungsi sebagai jaringan pelindung.
- c. *Korteks*, yang terdiri atas sel-sel poligonal dan berfungsi untuk menyimpan air.

d. Jaringan pengangkut, yang terdiri atas *floem* dan *xylem* tanpa ada kambium diantaranya.

e. *Empulur*

2. Anatomi akar

Akar *Aloe vera* merupakan akar serabut. Susunan anatomi akar *Aloe vera* dari luar ke dalam adalah:

a. *Epidermis*, yang terdiri dari sel-sel berbentuk *tubular* dan berfungsi sebagai jaringan pelindung.

b. *Eksodermis*, yang juga berfungsi sebagai jaringan pelindung.

c. *Korteks*, yang terdiri atas sel-sel *poligonal* dan berfungsi untuk menyimpan air.

d. Jaringan sponsa *mesofil* pengangkut, yang terdiri atas *floem* dan *xylem* tanpa ada kambium diantaranya.

e. *Empulur*

3. Anatomi daun

Susunan anatomi daun *Aloe vera* dari luar kedalam adalah:

a. *Epidermis*, yang terdiri atas sel-sel berbentuk *tubular* dan berfungsi sebagai jaringan pelindung dan membentuk tonjolan-tonjolan duri (*spina*).

b. Jaringan *palisade mesofil*, yang terdiri atas sel-sel panjang dan tersusun rapat.

c. Jaringan *hypodermis*, tersusun atas sel-sel *hypodermis*.

d. Jaringan, tersusun atas sel-sel *parenkim*.

- e. Jaringan pengangkut *floem* dan *xylem* (Eames and Mc. Daniels, 1947, Trease and Evans, 1980).

2.1.7. Kandungan *Aloe vera*

Ada dua jenis cairan pada *Aloe vera* yaitu cairan bening seperti jeli, yang mengandung zat anti bakteri dan anti jamur yang dapat merangsang fibroblas atau sel-sel kulit yang berfungsi untuk menyembuhkan luka, dan cairan berwarna kekuning-kuningan yang mengandung *Aloin* yang berasal dari lateks kulit *Aloe vera* (Santoso HB, 2000).

Kandungan zat dalam *Aloe vera* secara lengkap adalah sebagai berikut:

1. Vitamin

Terdiri atas vitamin A, B, B1, B2, B3, B6, C, D, E, *niacinamida*, *cholin*, Asam folat yang penting untuk pertumbuhan dan perbaikan jaringan sel yang rusak.

2. Mineral

- a. Kalsium, kloride, fosfor, besi yang berfungsi untuk menjaga ketahanan tubuh, menjaga kesehatan dan menjaga vitalitas.
- b. Magnesium, sodium, potasium, chromium, mangan, kalium, natrium, tembaga yang dapat berinteraksi dengan vitamin untuk mendukung fungsi tubuh.

3. Enzim

- a. enzim *amylase, katalase, cellulose, oksidase, lipase, protease*, yang mengatur proses kimia dalam tubuh dan mempercepat proses penyembuhan luka.
- b. *Bradykinase* yang dapat mengurangi peradangan dan rasa nyeri.

4. Polisakarida

Acemannan adalah bahan aktif yang merupakan karbohidrat kompleks yang berfungsi untuk penyembuhan dan meningkatkan kekebalan tubuh.

5. Monosakarida, *selulosa, glukosa, mannos, aldopentosa, rhamnosa*

Penting untuk memproduksi *mucopolisakarida*.

6. *Anthraquinones*

Ada empat macam yaitu *barbaloin, iso barbaloin, antranol* dan *tanin* yang mempunyai efek anti inflamasi, analgetik, antimikroba, memiliki dampak anestetik dalam menyembuhkan penyakit dan efek laksatif (melancarkan buang air besar).

7. *Aloe emodin*

Berguna untuk membantu penyembuhan dan perbaikan jaringan serta bersifat meredakan rasa sakit.

8. *Lignin*

Membantu peresapan senyawa pada kulit sehingga paling baik bila digunakan sebagai pelembab, dan mencegah sifat kulit agar tidak cepat keriput atau mengkerut (Hembing, 1997).

9. *Saponin*

Terdiri atas glikosida yang merupakan substansi yang terdapat dalam gel *Aloe vera* dan hanya terkandung 3% dari total kandungan *Aloe vera*. Mempunyai efek antiseptik dan antimikroba terhadap bakteri, fungi dan virus.

10. *Glucomannan dan Gibberellins*

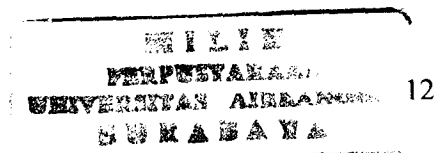
Glucomannan adalah kompleks polisakarida yang terdiri dari *sugar manose* yang dapat menstimulusi fibroblas untuk berproliferasi lebih cepat pada daerah luka. Sedangkan *Gibberellins* merupakan suatu *growth hormone* dari *Aloe vera* yang dapat menstimulasi proliferasi fibroblas dan mempercepat sintesis protein.

12. *Indometasin*

Merupakan derivat *indol-asam asetat*. *Indometasin* memiliki efek anti inflamasi dan analgesik-antipiretik. *Indometasin* memiliki efek analgesik *perifer* maupun *sentral*. *In vitro*, *indometasin* menghambat enzim *siklooksigenase* dan *motilitas leukosit polimorfonuklear*.

11. *Asam Salisilat*

Mempunyai efek antibakteri dan antiinflamasi dengan menghambat enzim *siklooksigenase* dan mengurangi sintesis mediator-mediator kimia dari sistem *kalikrein* sehingga dapat menghambat melekatnya *granulosit* pada vaskular yang rusak dan menghambat migrasi leukosit kedalam daerah inflamasi.



12. Asam Amino

Terdiri atas *arginine, asparagin, acid, serine, valine, asam aspartat, asam glutamat, alanin, isoleusin, fenilalanin, threonin, glisin, methionin, tyrosin* dan *tryptophan* yang penting untuk pertumbuhan dan perbaikan jaringan serta merupakan sumber energi (Ganiswarna, 2002, Davis, 2000, Furnawanthi, 2002, Hernani, 2001, Aliadi, 1996, Hembing, 2005).

2.1.8. Khasiat *Aloe vera*

Kandungan asam amino dan *aloe emodin* dalam *Aloe vera* dapat mempercepat perkembangan sel-sel baru dalam proses regenerasi epitel pada lesi *stomatitis*, sehingga mempercepat waktu penyembuhan. (Wolfe, 2001)

Aloe vera juga berkhasiat sebagai anti radang, *antipiretik* (peredam demam), penghilang nyeri (*analgesik*). Daun *Aloe vera* dapat digunakan menghambat infeksi HIV, sebagai nutrisi tambahan bagi pengidap HIV, menurunkan kadar gula dalam darah pada penderita diabetes, mengobati pembengkakan sendi, mengobati ambeien karena *antraquinon* yang bersifat *laksatif*, mengatasi batuk rejan, mencegah dan mengatasi kencing berdarah. Bunga *Aloe vera* mengatasi susah buang air besar dan cacingan (Hembing, 2005). Selain khasiat diatas *Aloe vera* juga berkhasiat sebagai penyubur rambut, peluruh haid, penghenti pendarahan, stress, pengobatan kanker, kecanduan, hepatitis, leukemia, *lupus, skloderma* dan sebagai bahan dasar kosmetika. (dinas urusan pangan Pontianak, 2002)

2.1.9. Efek farmakologis daun *Aloe vera*

Menurut Giesler and Jones (2002), daun *Aloe vera* mempunyai khasiat pengobatan sebagai berikut :

1. Anti bakteri

- a. Bersifat bakterisidal terhadap *pseudomonas aeruginosa*, *klebsiella pneumoniae*, *serratia marcescens*, *citrobacter*, *enterobacter*, *streptococcus pyogenes*, *streptococcus mutans*, *agalactiae*, *staphylococcus aureus*, *streptococcus sanguis*, *Escherichia coli*.
- b. Bersifat bakteriostatik terhadap *mycobacterium tuberculosis*, *trichopyton mentagraphytes* dan *bacillus subtilis*.

2. Anti fungi

Bersifat fungisid terhadap *candida albicans*

3. Anti virus

Acemannan yang terkandung dalam daun *Aloe vera* dapat:

- a. Menghasilkan aktivitas antivirus langsung melawan HIV dengan menghambat reaksi *glycosilasi* dari *glikoprotein* virus.
- b. Memiliki efek sinergis dengan *acyclovir* dengan menghambat replikasi HIV.
- c. Efektif terhadap *feline leukemia*, *influenza* dan *measles*.

4. Anti alergi dan Anti inflamasi

Glikoprotein dan *anthraquinon* dapat menghambat pembentukan *tromboksan* dan *bradykinin* secara terus menerus.

5. Penyembuh luka

Vitamin C dan E, *lignin* dan *bradykinase* dapat merangsang pembentukan sel-sel fibroblast dan jaringan ikat kolagen dan elastin serta menembus lapisan kedua dari kulit sehingga terjadi proses penyembuhan dan merangsang pertumbuhan *epidermis* pada jaringan yang luka (Shreeve, 2001, Giesler and Jones, 2002).

2.2 Fibroblas

Salah satu tipe sel yang dapat dipakai untuk uji sitotoksitas adalah sel jaringan ikat atau fibroblas (Freshney, 1987).

Fibroblas adalah salah satu dari dua jenis sel yang paling banyak terdapat pada jaringan ikat longgar, yang salah satunya adalah makrofag. Fibroblas merupakan sel besar, gepeng, bercabang-cabang, yang dari samping terlihat berbentuk gelendong atau *fusiform*. Cabang-cabangnya langsing, inti lonjong atau memanjang dan diliputi membran inti halus, dengan satu atau dua anak inti jelas, dan sedikit granula kromatin halus (Leeson C.R, 1996).

Fibroblas adalah sel mesenkim dasar jaringan dewasa yang fungsi utamanya adalah mensintesa komponen-komponen jaringan pengikat, yaitu kolagen dan mukopolisakarida. Secara umum fibroblas berperan dalam proses penyembuhan luka, sebagai contoh ketika kulit terluka, fibroblas berproliferasi dan migrasi ke tempat luka dan mensekresi sejumlah besar *matriks ekstraseluler* dan akhirnya terbentuk parut yang menutupi luka (Spector and Spector, 1993).

Jenis sel jaringan ikat atau fibroblas yang sering dipakai dalam teknik kultur *cell line* adalah sel L-29 yang berasal dari fibroblas paru tikus dan sel BHK 21 yang berasal dari fibroblas ginjal hamster (Freshney, 1987).

2.3. Proses penyembuhan luka

Aloe vera mengandung beberapa asam amino seperti *arginin*, *asparagin*, *asam aspartiat*, *serin*, *glutamin*, *treonin isin*, *urosin*, *phenialanin*, *prelin*, *histidine*, *leusin* dan *isoleusin* yang berfungsi sebagai pembangun sel-sel dan jaringan tubuh. Karena itu *Aloe vera* dapat mempercepat penyembuhan luka (Furnawanthi, 2002).

Penyembuhan luka merupakan perbaikan terhadap fungsi dan struktur jaringan yang terkena jejas. Secara umum proses penyembuhan luka terdiri dari 4 tahap yaitu fase *hemostasis*, fase *inflamasi*, fase *proliferasi* dan fase *remodelling*. (Aloe IMCA, 2000).

Fase *hemostasis* melibatkan konstiksi pembuluh darah, kontraksi otot polos, *agregasi trombosit*, *koagulasi* darah dan diikuti *vasodilatasi*. Fase *hemostasis* berlangsung beberapa jam sampai 1 hari (Kane DP, Krasner D, 1997). Fase inflamasi terjadi mulai hari pertama sampai 1 minggu. 24-48 jam pertama terjadi peningkatan populasi neutrofil untuk melaksanakan fungsi fagositnya. Fase proliferasi merupakan fase perbaikan luka yang meliputi *fibroplasia*, *sintesa kolagen*, *angiogenesis*, pembentukan jaringan granulasi dan *epitelisasi*. *Fibroplasia* adalah replikasi dari fibroblas yang dimulai pada hari ke 3-4 pasca

trauma. Fibroblas merupakan salah satu faktor penting pada proses proliferasi. (Enoch S and Price P, 2004).

Migrasi diperlukan fibroblas untuk memasuki daerah luka. Periode ini terjadi 48 jam pasca trauma. Pada fase ini, sel berubah dari sel tidak aktif menjadi sel aktif. Jaringan granulasi sangat penuh oleh sel fibroblas dan sel endotel. Jaringan granulasi merupakan struktur padat yang dibentuk dari proliferasi fibroblas, kapiler-kapiler, makrofag, matrix kolagen dan fibronectin (Enoch S and Price P, 2004).

Dilanjutkan dengan epitelisasi merupakan proses tumbuhnya sel epitelial dan tumbuh membentuk epitel. Proses yang terakhir adalah fase *remodelling* dimana suatu keadaan yang seimbang antara sintesis, penimbunan dan degradasi. Fase *remodelling* terjadi enam sampai tujuh hari pasca trauma dan biasanya memerlukan waktu bulanan hingga tahunan. Akhir dari proses *remodelling* ditandai berhentinya pembentukan kapiler, aliran darah menurun dan aktifitas metabolik menurun (Schatteman G, 2001).

2.4 Uji sitotoksisitas

Uji sitotoksisitas merupakan bagian dari uji biokompatibilitas yang melihat kesesuaian suatu bahan atau obat terhadap jaringan atau cairan tubuh. Tujuan tes biokompatibilitas adalah untuk mengamati zat potensial dari bahan uji yang berpotensi menyebabkan kerusakan jaringan. Suatu bahan atau obat dikatakan mempunyai biokompatibilitas yang baik bila terdapat kesesuaian yang

baik antara bahan atau obat dengan jaringan maupun cairan tubuh (Levine and Edgerton, 1993).

Uji biokompatibilitas diklasifikasikan oleh Anusavice (1996) dalam tiga kategori, yaitu:

- Uji primer, yaitu evaluasi sitotoksik terhadap bahan uji. Bahan uji dikontakkan langsung dengan kultur sel.
- Uji sekunder, yaitu evaluasi kemampuan bahan untuk menimbulkan toksisitas sistemik. Uji ini dilakukan pada hewan coba.
- Uji aplikasi klinis.

Pengujian biokompatibilitas suatu bahan atau obat dapat dilakukan dengan hewan coba *in vivo* atau menggunakan kultur sel *in vitro* (Freshney, 1987). Pemeriksaan *in vivo* dapat memberikan gambaran lengkap tentang respon hewan coba terhadap bahan uji. Meskipun demikian, sangat sulit untuk menganalisa respon biologis terhadap bahan uji dengan pemeriksaan *in vivo*, dikarenakan respon biologis melibatkan banyak reaksi *simultan* (Craigh, 1997).

Ada beberapa alasan mengapa banyak penelitian menggunakan metode *in vitro* dengan kultur sel :

1. Sampel lebih homogen
2. Lingkungan pada kultur sel seperti pH, suhu, tekanan osmotik, O₂ dan CO₂ lebih terkontrol.
3. Kultur sel terpapar langsung oleh bahan yang diuji. Kultur sel sangat sensitif terhadap bahan yang bersifat toksik.
4. Dapat diukur secara kuantitatif.

5. Respon terhadap sel hidup dapat langsung diamati.
6. Menghindari tekanan dari masyarakat terhadap pemakaian hewan coba.
7. Lebih ekonomis.

Walaupun demikian terdapat pula kekurangan teknik *in vitro*, yaitu perlakuan pada kultur sel harus dilakukan dalam kondisi aseptik, karena sel yang dikultur dapat mati jika terkontaminasi dengan bakteri atau jamur (Freshney, 1987).

Metode yang paling murah dan sederhana untuk menguji biokompatibilitas suatu bahan atau obat adalah *die exclusion test*, yaitu suatu uji dengan kultur sel yang pengamatannya didasarkan pada kerusakan integritas membran sel yang terjadi setelah diberi perlakuan, yang ditentukan dengan penyerapan zat warna (*tryphan blue*, *eosin* maupun *negrosin*) ke dalam sel. Sel hidup ditandai dengan warna yang terang (tidak menyerap warna), sedangkan sel mati akan menyerap warna sesuai dengan zat warna yang digunakan (Freshney, 1987).

Penentuan biokompatibilitas, didasarkan pada besar kecilnya presentase sel hidup dan sel mati. Makin besar persentase, berarti makin banyak sel hidup yang berarti pula bahan uji makin biokompatibel.

Cara menghitung persentase sel yang hidup dan yang mati menggunakan hemositometer. Rumus yang digunakan adalah (Bird and Forrester, 1981):

$$\frac{\text{Jumlah sel hidup}}{\text{Jumlah sel hidup + sel mati}} \times 100\%$$

2.5. Kultur sel

Uji biokompatibilitas dapat dilakukan dengan kultur sel, kultur jaringan, maupun kultur organ. Dalam media yang tepat sel tanaman dan hewan dapat hidup dan berkembang biak secara *in vitro*. Sel tersebut dapat diamati di bawah mikroskop untuk melihat efek dari penambahan suatu zat ke dalamnya. Hal ini sering dipakai sebagai landasan penelitian pengganti binatang percobaan (Soejono, 1988).

Kultur sel memerlukan media untuk berkembang biak atau tumbuh secara *in vitro*. Media kultur yang diperlukan harus disesuaikan dengan bahan kultur yang digunakan. Bahan kultur yang digunakan juga harus sesuai dengan bagian tubuh yang nantinya dijadikan objek paparan. Contoh bahan kultur: *Femur* embrio mencit untuk kultur organ, fibroblas ginjal hamster untuk kultur sel (Ma'at, 1999).

Freshney (1987), mengklasifikasikan metode kultur sel berdasarkan sifat pertumbuhannya menjadi tiga kelompok, yaitu:

1. Kultur primer (*primary culture*), yaitu kultur dari bahan yang diambil secara langsung dari hewan atau manusia, dapat berupa sel, jaringan maupun organ. Umumnya kultur primer berumur pendek, artinya hanya dapat dilakukan subkultur beberapa kali saja dan kemudian mati.
2. Kultur sel diploid (*diploid sel culture*), yaitu kultur dari sel-sel diploid yang berasal dari hasil kultur sel primer. Umumnya hanya dapat dilakukan subkultur sebanyak 50-70 kali.

3. *Cell lines*, berasal dari kultur primer. Saat subkultur pertama, sel yang tumbuh dilepas dari permukaannya selanjutnya dikultur ulang sampai 40-50 kali. Menurut Ma'at (1999) pertumbuhan sel pada subkultur ke 40 atau 50 berjalan lambat, kemudian sel akan mati. Jika ada beberapa sel yang masih hidup, maka sel yang telah melewati masa kritis tersebut akan tumbuh cepat bila disubkultur lagi. Jenis sel ini disebut *continuous cell lines*. Menurut Freshney (1987) dapat juga diperoleh dari sel-sel yang telah mengalami *transformasi*, misalnya *neoplasma*. Keuntungan tipe ini adalah kecepatan pertumbuhan sel tinggi, integritas sel tetap terjaga, sel mampu membagi diri dan bermultiplikasi dalam suspensi, sehingga meningkatkan efisiensi. Metode ini banyak digunakan untuk menguji biokompatibilitas suatu bahan atau obat dalam bidang kedokteran.

2.6. *Freeze drying*

Freeze drying adalah proses pembekuan dan pengeringan. *Aloe vera* diproses dengan menggunakan metode *freeze drying* untuk menjaga keawetan unsur-unsur penting *Aloe vera* agar tidak hilang karena teroksidasi. *Aloe vera* yang telah diproses *freeze drying* menjadi serbuk *Aloe vera* yang kering dan lebih tahan lama daripada bentuk gel yang mudah rusak. *Aloe vera* hasil *freeze drying* disimpan dalam wadah bernama *eksikator* yang berbentuk seperti toples kedap

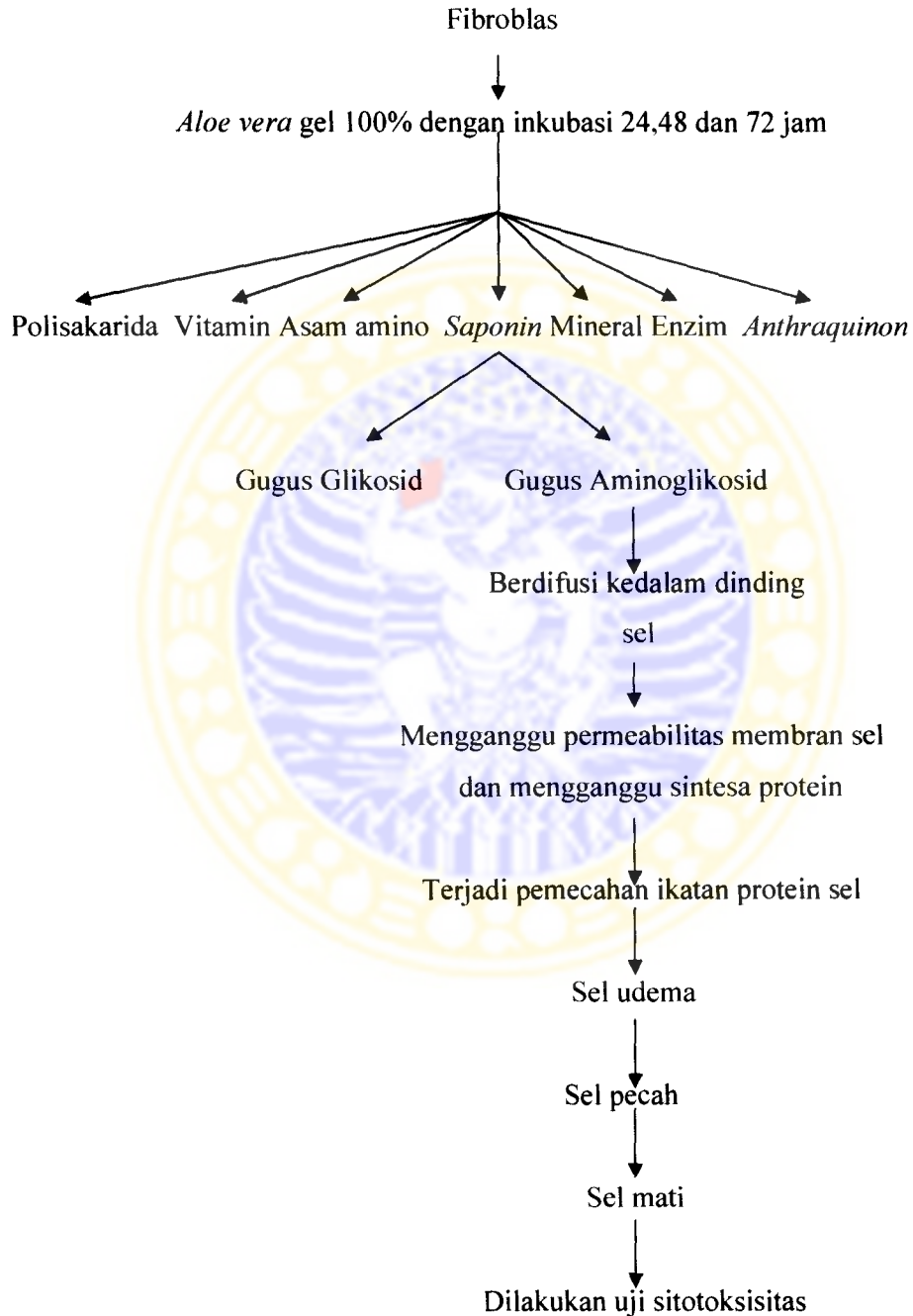
udara, terbuat dari kaca dengan penutup yang dialasi karet dan pada bagian bawah toples diberi silikon gel untuk membantu menyerap udara. Metode *freeze drying* dapat melindungi senyawa atau zat aktif yang mudah rusak, namun pembuatannya memerlukan waktu yang cukup lama yaitu 8-10 jam, biaya cukup besar dan terjaganya mutu produksi (Pusvetma, 1990).



BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



3.2 Hipotesis Penelitian

Inkubasi *Aloe vera* gel 100% dengan metode *freeze drying* selama 24, 48 dan 72 jam berpengaruh terhadap sitotoksisitas sel fibroblas BHK 21.



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Eksperimental laboratoris

4.2 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Pusat Veterinari Farma (PUSVETMA) di Jalan Ahmad Yani Surabaya bagian Penyakit Kuku dan Mulut dan di laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya.

4.3 Sampel

4.3.1. Obyek sampel

Obyek pada penelitian ini adalah kultur sel yang berasal dari sel Fibroblas BHK 21 (*Baby Hamster Kidney-21*) dengan media Eagle's MEM.

4.3.2. Jumlah Sampel

Sampel untuk setiap perlakuan dipilih secara random dengan besar sampel yang telah ditentukan menurut rumus (Daniel, 1991) :

$$n = \frac{(\sigma \cdot Z\alpha)^2}{d^2}$$

Keterangan :

n : jumlah sampel

σ : varians populasi

$Z\alpha$: harga standar normal pada $\alpha=0,05$

d : penyimpangan yang ditolerir $\frac{3}{4}$ SD = 0,375

$$n = \frac{\{(0,5)^2 \cdot (1,96)\}^2}{(0,375)^2}$$

$$= 6,85 \sim 7$$

4.4 Variabel Penelitian

Variabel bebas : Lama inkubasi *Aloe vera* 100% terhadap sel fibroblas 24 jam, 48 jam dan 72 jam.

Variabel tergantung : Jumlah sel fibroblas yang hidup dan mati pada kultur sel.

Variabel terkendali : suhu, pH, CO₂ dan waktu inkubasi.

4.5 Definisi operasional

- Ekstrak *Aloe vera* 100% : Yang dimaksud adalah *Aloe vera* hasil *freeze drying* ditambahkan media eagle's dengan perbandingan tertentu hingga mencapai konsentrasi 100%
- Sel yang hidup : Sel dikatakan hidup apabila sel tidak menyerap zat warna *tryphan blue* sehingga sel terlihat terang saat perhitungan melalui mikroskop cahaya.
- Sel yang mati : Sel dikatakan mati apabila pada saat penghitungan di mikroskop cahaya, sel tampak berwarna biru atau biru gelap dikarenakan sel yang mati menyerap zat warna *tryphan blue*.

- Uji Sitotoksisitas adalah uji yang bertujuan mengetahui efek toksik suatu bahan secara langsung terhadap kultur sel. Suatu bahan dikatakan toksik atau tidak berdasarkan persentase sel yang hidup pada kultur sel, dihitung dengan rumus Bird and Forrester (1981).

4.6 Alat dan Bahan

4.6.1. Alat

1. Laminar flow (Oliphant, Australia)
2. Botol kultur roux (Roux, Schott Duran, Germany)
3. Pipet (Pyrex, Japan)
4. Mikro pipet 25 μ l, 100 μ l, 200 μ l
5. Inkubator CO₂ 5%, 37°C (Mettler, Germany)
6. Tabung Erlenmeyer
7. Tissue culture plate (TC plate) 24 well
8. Hemositometer (Neubauer, Swiss)
9. Timbangan digital
10. Mikroskop cahaya (Olympus CK, Japan)
11. Millex
12. Mesin Freeze drying (Betta 1-8 k)
13. Sterilisator Ultra violet
14. Gelas ukur
15. Pengaduk

4.6.2. Bahan

1. Daun *Aloe vera* barbandesis miller
2. Aquadest steril
3. Kultur sel BHK-21 (Baby hamster kidney-21)
4. Eagle's MEM (Minimum Essential Medium)
5. *Phosphat buffer saline* (PBS)
6. *Trypsyn versene* 0,25%
7. *Tryphan blue*
8. Larutan hepes (No. H-3375, Sigma Chemical Company)
9. Fetal bovine serum 10% (Cat no.916754, MB Biomedical, Inc)

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1. Persiapan *Aloe vera* 100% dengan proses *freeze drying*

1. 1 kg daun *Aloe vera* segar dan dicuci sampai bersih dengan aquadest. Kupas kulitnya lalu bilas dengan aquadest sampai lendirnya hilang.
2. Timbang berat daging *Aloe vera* setelah dikupas dan dihilangkan lendirnya dan didapatkan hasil 605 gram.
3. Gel *Aloe vera* tersebut diblender dan dimasukkan dalam tabung pengukur didapatkan hasil 500 ml.
4. Gel *Aloe vera* yang telah diblender dimasukkan kedalam tabung khusus untuk proses *freeze drying*.
5. Tabung tersebut dimasukkan mesin *freeze drying* sampai beku pada suhu -40°C.

6. Tabung dipindah ke dalam *vaccum*, terjadi proses sublimasi selama kurang lebih 8 jam.
7. Dihasilkan *Aloe vera* kering hasil *freeze drying* sebesar 2,7gram.
8. *Aloe vera* hasil *freeze drying* dicampur dengan media eagle's dengan perbandingan 2,7gram : 500ml = 0,54 : 100ml (konsentrasi 100%)
9. Setelah didapatkan *Aloe vera* gel konsentrasi 100% (0,54 gram *Aloe vera* kering hasil *freeze drying* dalam 100ml media Eagle's MEM) lalu disaring kain kasa.
10. Disentrifuse 4000 rpm selama 30 menit.
11. Terjadi endapan halus dan kasar.
12. Disaring dengan kain kasa.
13. Disterilkan dengan cara filtrasi melalui filter milipore (millex) Ø 0.45µm.
14. Memeriksa pH dengan kertas indikator pH.
15. Proses diatas dilakukan didalam laminar flow untuk menjaga kondisi dalam steril

4.7.2. Persiapan Kultur Sel

1. Kultur sel induk (*seed cells*) yang sebelumnya telah dibekukan dicairkan dalam inkubator suhu 37°C selama 10 menit hingga media penyimpanannya mencair.
2. Setelah mencair, sel fibroblas BHK 21 diseimbangkan beratnya dalam timbangan dengan menambahkan air kedalam gelas timbangan.

3. Setelah seimbang sel Fibroblas BHK 21 dimasukkan kedalam sentrifugal dan sentrifuge selama 15 menit dengan kecepatan 2000 rpm dengan tujuan memisahkan sel fibroblas dari mediana.
4. Di dalam laminar flow, cairan teratas setelah disentrifuse adalah media penyimpanan (*supernatan*) dibuang sehingga tersisa endapan sel dasar.
5. Endapan sel dasar tersebut diambil dan disuspensikan dengan media eagle's MEM yang mengandung *fetal bovine serum* 10% kemudian ditanam dalam botol roux.
6. Memeriksa pH media dengan menggunakan larutan hepes untuk memperoleh pH sel dapat tumbuh yaitu 7,2.
7. Kultur diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dengan kelembaban CO₂ 5%.

4.7.3. Pembagian kultur sel (splitting)

1. Kultur sel fibroblas BHK 21 dalam roux yang telah penuh, kemudian dicuci dengan PBS (*phosphate buffer saline*) sejumlah 20 ml sebanyak 5 kali yang bertujuan membuang sisa serum dan media yang tersisa dalam botol mendapatkan hasil yang jernih. Kemudian diberi *trypsin versene* 0,25 1 ml didiamkan 5 menit dengan tujuan memisahkan ikatan antar sel agar tidak bergerombol dan merontokkan sel yang menempel pada dinding botol.
2. Ditambahkan 20ml media Eagle's MEM baru pada kultur sel dalam botol roux. Lalu kultur tersebut dibagi (*split*) kedalam 3 TC plate 24 *well*.

3. Media disesuaikan sehingga terdapat 2 ml media disetiap *well* dan kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C dengan kelembaban CO₂ 5%.
4. Setelah 24 jam, sel yang terdapat disetiap *well* telah penuh dan siap untuk dilakukan perlakuan.

4.7.4. Perlakuan kultur sel

1. 3 TC plate dikeluarkan dari inkubator dan diletakkan ke dalam laminar flow untuk diberi perlakuan.
2. Media dalam *well* dibuang dengan pipet dan dicuci dengan PBS (*phosphat buffer saline*) menggunakan mikro pipet sebanyak 5 kali untuk membersihkan sisa hasil metabolisme sel, sehingga hanya tersisa sel yang menempel pada TC *plate*.
3. Setelah itu *Aloe vera* dengan konsentrasi 100% siap dimasukkan dalam 3 TC *plate* yang ada.
4. *Plate* pertama dimasukkan *Aloe vera* 100% sebanyak 2ml pada masing-masing *well* sebanyak 6 *well* dan 6 *well* sisanya diisi media eagle's MEM sebanyak 2 ml pada masing-masing *well* sebagai kontrol lalu diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C.
5. *Plate* kedua dimasukkan *Aloe vera* 100% sebanyak 2 ml pada masing-masing *well* sebanyak 6 *well* dan 6 *well* sisanya diisi media eagle's MEM sebanyak 2 ml pada masing-masing *well* sebagai kontrol lalu diinkubasi dalam inkubator selama 48 jam dengan suhu 37°C.

6. *Plate* ketiga dimasukkan *Aloe vera* 100% sebanyak 2 ml pada masing-masing *well* sebanyak 6 *well* dan 6 *well* sisanya diisi media eagle's MEM sebanyak 2 ml pada masing-masing *well* sebagai kontrol lalu diinkubasi dalam inkubator selama 72 jam dengan suhu 37°C.
7. Setelah 24 jam, 48 jam dan 72 jam kultur sel dikeluarkan dari inkubator.
8. Media dibuang dan dicuci dengan PBS 2 ml sebanyak 5 kali
9. Ditripsinasi dengan 0,1ml 0,25% *Trypsyn versene* untuk merontokkan sel yang melekat pada dinding botol dan memisahkan sel yang menggerombol dengan cara didiamkan selama 5-10 menit.
10. Kemudian diberi lagi 0,4 ml media eagle sehingga diperoleh 0,5ml suspensi sel.
11. Diambil 0,1 ml suspensi sel ditambah 25 µl *tryphan blue*, disemprot dengan pipet sampai homogen.
12. Diambil lagi 0,1 ml dan dimasukkan dalam hemositometer dan segera dilakukan perhitungan.
13. Alat hemositometer berupa kaca kecil terdiri dari 25 kotak sehingga hasil yang diperoleh dengan cara menghitung rata-rata jumlah sel yng hidup dan mati dari masing-masing kotak.
14. Perhitungan dilakukan dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 100 kali. Sel yang hidup ditandai dengan warna terang, sedangkan sel yang mati berwarna biru karena menyerap warna biru *tryphan blue*. Perhitungan dilakukan pada setiap *well* perlakuan dan kontrol dengan inkubasi 24, 48 dan 72 jam.

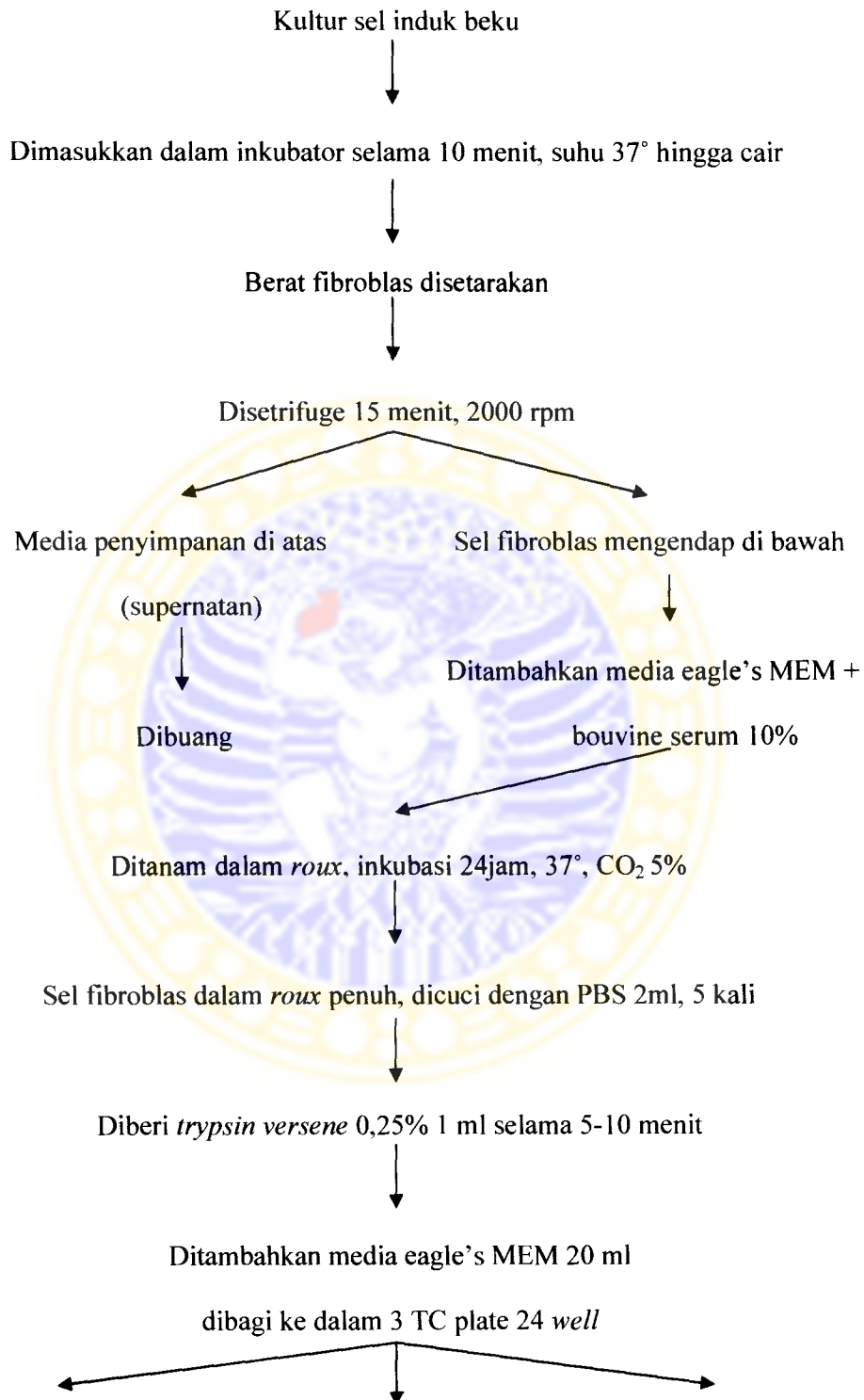
15. Persentase sel yang hidup dan mati dihitung berdasarkan rumus Bird and Forester 1981:

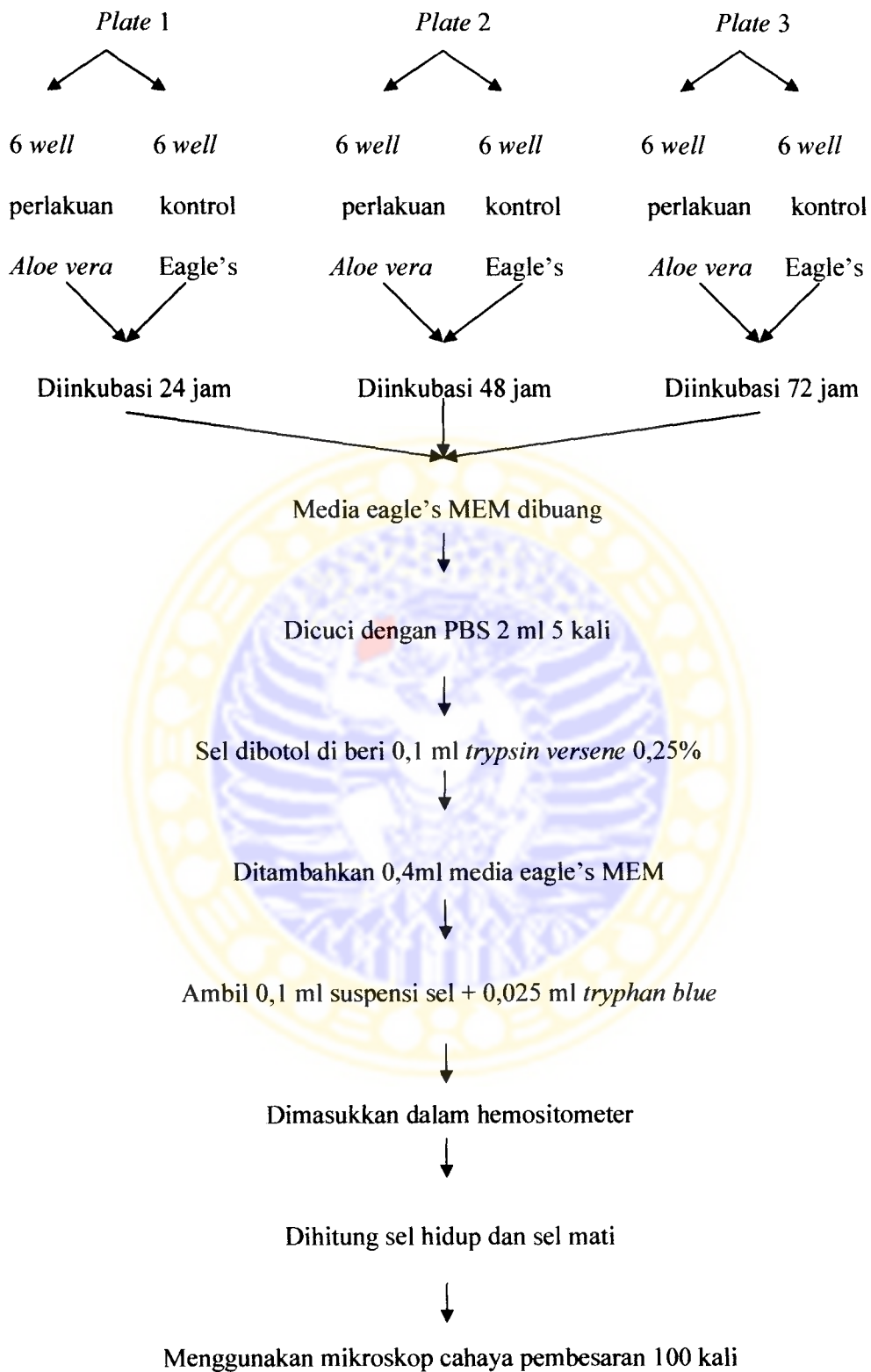
$$\frac{\text{Sel hidup}}{\text{Sel mati + sel hidup}} \times 100\%$$

4.8 Pengolahan dan analisis data

Data yang sudah dikumpulkan dilakukan perhitungan persentase. Kemudian dilakukan uji normalitas data dengan uji *Kolmogorov-smirnov tes* yang merupakan syarat dilakukan uji *one-way Anova*. Uji *one-way anova* untuk melihat perbedaan yang ada pada kelompok data tersebut. Harga F hitung yang diperoleh dibandingkan dengan F tabel pada taraf signifikan 0,05 untuk mengetahui apakah hasil data tersebut berbeda secara bermakna. Bila berbeda secara bermakna, perhitungan akan dilanjutkan dengan uji *Tukey's honestly significant difference (HSD)*. Harga HSD digunakan sebagai pembanding selisih antara rata-rata hasil perlakuan. Bila selisih harga rata-rata tersebut lebih kecil daripada harga HSD yang didapat, berarti tidak ada perbedaan diantara perlakuan. Bila selisih harga rata-rata tersebut sama atau lebih besar daripada harga HSD yang didapat berarti ada perbedaan diantara perlakuan. (Hadi S, 1996)

4.9 Alur penelitian





BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada bulan Agustus di Pusat Veterinaria Farma (PUSVETMA) Surabaya dengan menggunakan media Eagle's MEM pada kultur sel fibroblas dan dilakukan perhitungan jumlah sel fibroblas yang hidup dan mati terhadap kelompok kontrol, yaitu kelompok yang tidak menggunakan aloe vera dan kelompok perlakuan yang menggunakan Aloe vera dengan lama inkubasi 24, 48 dan 72 jam, kemudian didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel .1 Distribusi rata-rata jumlah sel fibroblas yang hidup kelompok perlakuan dengan inkubasi 24, 48 dan 72 jam.

Aloe vera	Sediaan	Rata-rata sel hidup
Satu	6	.75600
Dua	6	.71050
Tiga	6	.36033

Keterangan Tabel .1 : Satu = 24 jam, Dua = 48 jam, tiga = 72 jam

Pada tabel .1 dapat dilihat rata-rata persentase kematian sel fibroblas pada kelompok perlakuan inkubasi aloe vera 24 jam sebesar $0,75600 \pm 0,049059$, pada kelompok perlakuan inkubasi Aloe vera 48 jam sebesar $0,71050 \pm 0,178142$ dan pada kelompok perlakuan dengan inkubasi Aloe vera 72 jam rata-rata sebesar $0,36033 \pm 0, 113336$. Sebelum melakukan uji parametrik untuk mengetahui kemaknaan dari perbedaan yang ada, maka perlu dilakukan uji normalitas data dengan uji *Kolmogorov-smirnov tes*

Tabel .2 Hasil uji normalitas data dengan *Kolmogorov-smirnov test*

Aloe vera	<i>Kolmogorov-smirnov</i>
24 jam	0,884
48 jam	0,360
72 jam	0,833

Keterangan: Data berdistribusi normal bila $p > 0,05$

Pada tabel .2 menunjukkan bahwa semua harga $p > 0,05$. Hal ini dapat diartikan bahwa semua data mempunyai distribusi normal, sehingga memenuhi syarat untuk dilakukan uji Anova.

Untuk mengetahui kelompok data yang menunjukkan perbedaan bermakna dengan yang lain. Untuk itu digunakan *T-test for independent samples* dan

didapatkan perbedaan bermakna terhadap kelompok perlakuan dan kontrol inkubasi 72 jam signifikan 0,338 ($p > 0,05$) dan tidak ada perbedaan bermakna antara perlakuan dan kontrol pada inkubasi 24 signifikan 0,010 ($p < 0,05$) dan inkubasi 48 jam signifikan 0,014 ($p < 0,05$).

Kemudian data diuji dengan *one way analysis of varians* untuk menentukan adanya perbedaan data yang diperoleh antar masing-masing kelompok.

Tabel .3 Ringkasan hasil uji Anova

	Jumlah kuadrat	Differensial	Rata-rata kuadrat	F	Signifikan
Antar Kelompok	0,562	2	0,281	17,957	0,000
Dalam Kelompok	0,235	15	0,016		
Total	0,797	17			

Pada tabel .3 dapat dilihat setelah dilakukan uji Anova, didapatkan nilai $p = 0,000$, karena nilai p tersebut lebih kecil daripada 0,05 ($p < 0,05$) maka disimpulkan terdapat perbedaan bermakna antara kelompok. Oleh karena ada perbedaan bermakna, perhitungan dilanjutkan dengan uji *Tukey's honestly significant difference* (HSD).

Tabel .4 Hasil uji Tukey-HSD beda kemaknaan masing-masing kelompok perlakuan Aloe vera

	K1	K2	K3
K1		NS	*
K2	NS		*
K3	*	*	

Keterangan Tabel . 4 : K1 = 24 jam

K2 = 48 jam

K3 = 72 jam

NS = Non Signifikan

* = Signifikan

Pada tabel 4 merupakan hasil uji Tukey-HSD yang menunjukkan beda kemaknaan masing-masing kelompok perlakuan. Dapat dilihat terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$) antara K1 dan K3, K2 dan K3.

BAB VI

PEMBAHASAN

Indonesia memiliki kekayaan hayati yang luar biasa, namun belum sepenuhnya potensi ini dapat dimanfaatkan oleh masyarakat. Dari 7000 jenis tumbuhan berkhasiat, baru sekitar 300 jenis yang telah dimanfaatkan dalam industri obat tradisional. Dari sekian banyak tumbuhan berkhasiat, *Aloe vera* atau yang lebih dikenal dengan lidah buaya paling banyak dimanfaatkan secara tradisional dan modern untuk mengatasi berbagai masalah kesehatan. Penggalan potensi sumber daya tumbuhan obat asli Indonesia perlu terus dilakukan, karena dosis, kandungan zat yang berkhasiat, efek samping penggunaan dan formulasinya belum terstandarisasi secara ilmiah (Furnawanthi, 2002).

Manfaat *Aloe vera* yang telah diketahui antara lain menyuburkan rambut, mengobati diabetes melitus, bisul, kulit memar, luka pada kulit, wasir dan radang tenggorokan (Furnawanthi, 2002). Dalam laporan Panggabean (2004) mengatakan bahwa kemampuan lidah buaya tidak lain karena tanaman ini memiliki kandungan nutrisi yang cukup bagi tubuh manusia. Kandungan karbohidrat pada lidah buaya merupakan komponen terbanyak setelah air yang menyumbangkan sejumlah kalori sebagai sumber tenaga.

Selain mempunyai bermacam-macam kandungan manfaat dalam fungsi pengobatan dan kesehatan, kandungan *Aloe vera* juga ada yang bersifat merugikan atau membahayakan kesehatan. Getah berwarna kuning yang mengandung anthraquinon bersifat *laxative iritant* yang memproduksi pencahar

yang bisa meracuni system enzim pada dinding pencernaan yang memungkinkan absorpsi air dan nutrisi. Penggunaan kronik *laksative* dapat menimbulkan efek toksik pada tubuh manusia dan hal ini tidak dianjurkan. *Aloin* dalam jumlah tinggi akan membunuh sel kulit. Dalam penelitian Danhof (2001), kultur sel fibroblas yang diberi getah kuning murni *Aloe vera* mengakibatkan kondisi toksik yang menyebabkan kematian total dari sel fibroblas dalam kultur. Karena hal ini, getah kuning tidak digunakan dalam penelitian ini. Sebelum pengolahan dengan metode freeze drying, *Aloe vera* yang sudah dikupas kulitnya dicuci hingga bersih dari getah kuning.

Menurut Wilmana (2004) dari sekitar 200 jenis *Aloe vera*, *Aloe vera barbadensis Miller* adalah yang baik digunakan untuk pengobatan karena mengandung 72 zat yang dibutuhkan tubuh. Diantara 72 zat tersebut terdapat 18 macam asam amino, karbohidrat, lemak, air, vitamin, mineral, enzim, hormon dan zat golongan obat. Antara lain antibiotik, antiseptik, antibakteri, antikanker, antivirus, antijamur, antiinfeksi, antiperadangan, antipembengkakan, antiparkinson, antiaterosklerosis, serta antivirus yang resisten terhadap antibiotik. Beberapa unsur mineral yang terkandung didalamnya juga berfungsi sebagai pembentuk antioksidan alami, misalnya vitamin C, vitamin E dan zinc. Antioksidan berfungsi mencegah penuaan dini, serangan jantung dan beberapa penyakit degeneratif.

Aloe vera memiliki sifat yang sangat mudah teroksidasi berwarna cokelat. Hal ini menjadi tanda *Aloe vera* yang telah teroksidasi sehingga beberapa zat yang dikandungnya rusak, seperti vitamin, mineral dan asam amino serta enzim

menjadi terurai (Gsianturi, 2000). Karena itu penelitian ini menggunakan *Aloe vera* yang telah diproses dengan menggunakan metode *freeze drying* untuk melindungi senyawa atau zat aktif *Aloe vera* agar tidak mudah rusak karena teroksidasi (Pusvetma, 1990). Namun pembuatan *Aloe vera* dengan metode *freeze drying* memerlukan waktu yang cukup lama 8-10jam, biaya cukup besar dan tidak dapat dilakukan secara sederhana dirumah karena membutuhkan mesin *freeze drying* jenis betta 1-8 k. *Aloe vera* yang telah diproses *freeze drying* disimpan dalam wadah bernama eksikator yang berbentuk seperti toples kedap udara, terbuat dari kaca dengan penutup yang dialasi karet dan pada bagian bawah toples diberi silikon gel untuk membantu menyerap udara. *Aloe vera* hasil *freeze drying* juga akan berubah warna menjadi coklat bila teroksidasi.

Pada penelitian ini digunakan kultur sel fibroblas *Baby Hamster Kidney* (BHK-21) dengan alasan bahan kultur terbaik berasal dari sel-sel jaringan muda atau embrionik dan memiliki pertumbuhan yang cepat serta mudah didapat (Freshney, 1987).

Dari hasil penelitian didapatkan perbedaan bermakna pada kelompok perlakuan dengan inkubasi *Aloe vera* 48 dan 72 jam, dan perbedaan bermakna pada kelompok kontrol dan perlakuan pada inkubasi 72 jam. Hal ini bisa disebabkan kematian sel yang terjadi akibat sel tersebut kekurangan nutrisi yang berasal dari serum dalam media. Untuk penggunaan maksimal 48 sampai 72 jam, kemudian dilakukan penggantian media dan penambahan serum agar sel yang tumbuh dapat tercukupi kebutuhan nutrisinya (Paul, 1975). Perbedaan bermakna

pada inkubasi 72 jam antara kelompok kontrol dan perlakuan dikarenakan kurangnya nutrisi.

Persyaratan kultur sel yang perlu diperhatikan antara lain desinfektan untuk alat, lantai, gas dalam inkubator, antibiotik dan bahan pembersih lantai karena toksik terhadap sel terutama akan merusak metabolisme sel dan sitogenitas sel. Material dan alat-alat harus diberi tanda khusus untuk kultur sel dan tidak diperbolehkan digunakan yang lainnya. Penyimpanan bahan-bahan plastik harus diberi sirkulasi udara yang baik sehingga tidak terjadi kerusakan bahan tersebut karena banyak mengandung *formaldehyde* yang sangat toksik terhadap sel. Kualitas air juga merupakan syarat utama pengerjaan kultur sel terutama untuk fusi sel seperti proses pertukaran ion sangat penting, misalnya osmose diperlukan kualitas air tingkat II atau aqua bidest (Rantam, 2003). Bila syarat kultur tersebut tidak terpenuhi, bisa mengakibatkan kematian sel.

Kematian fibroblast bisa dikarenakan paparan dari bahan yang diujikan yaitu *Aloe vera*. Kandungan *Aloe vera* yang berupa zat *saponin* dengan kandungan gugus glikosida yang berdaya antiseptik dan merupakan gugus aminoglikosid yang bersifat antibiotik. Aminoglikosida merupakan senyawa yang terdiri dari dua atau lebih asam amino yang terikat ikatan glikosidik pada inti *heksosa* yaitu *streptidin*. Senyawa Aminoglikosida ini akan berdifusi pada dinding sel bakteri sehingga mengganggu permeabilitas membran sel. Setelah masuk ke dalam sel, aminoglikosida akan diteruskan ke ribosom yang menghasilkan protein, sehingga mengganggu permeabilitas sel dan mengganggu proses sintesa

protein. Selanjutnya terjadi pemecahan ikatan protein sel bakteri yang mengakibatkan sel udeema dan pecah (Jawetz, 1981 *cit* Boel, 2002).

Sintesa protein diperlukan untuk transport lipid keluar sel, dengan membentuk ikatan lipid-protein. Terganggunya sintesa protein menyebabkan transport lipid terganggu, sehingga terjadi penumpukan lipid di dalam sel yang berakibat pembengkakan sel dan perubahan permeabilitas membran (Spector, 1993)

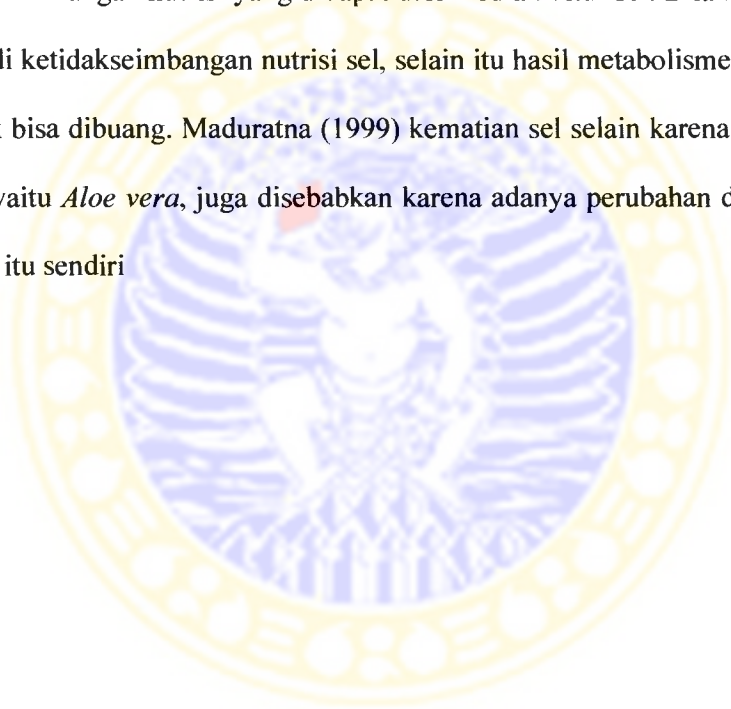
Menurut Robbins dan Kummar (1995), permeabilitas membran diperlukan untuk menjaga keutuhan sel dengan volume yang normal. Apabila permeabilitas berubah, maka akan menyebabkan peningkatan perpindahan molekul (*translokasi*) dari intrasel ke ekstrasel sehingga sel kehilangan unsur metabolit yang diperlukan untuk menjaga kelangsungan hidupnya. Selain itu, senyawa yang mudah larut dalam air mudah melewati pori membran sel sehingga sel yang mati akan menyerap warna biru dari *tryphan blue* sehingga berwarna lebih gelap.

Hasil kultur fibroblas perlakuan dengan inkubasi 24 jam terlihat gambaran sel yang terang yang menandakan sel tersebut hidup dan sel yang mati karena kerusakan dinding sel yang ditandai menyerap zat warna *tryphan blue* sebelum akhirnya pecah. Sel yang hidup dan mati dihitung dengan alat hemositometer (Freshney, 1987). Gambaran kultur sel fibroblas inkubasi 48 dan 72 jam tidak jauh berbeda, hanya berbeda jumlah sel yang hidup dan mati.

Menurut Timbrel (1994), intensitas kematian sel tergantung pada kadar bahan atau obat yang berkontak dengan sel, jaringan maupun organ sasaran. Sedangkan suatu rangsangan dapat merusak sel organ sasaran melalui berbagai

cara sehingga terjadi jejas yang dapat bersifat *reversibel* maupun *irreversibel*. Apabila sel yang terkena paparan sudah mencapai *point of no return*, maka terjadilah kematian sel.

Dari hasil penelitian ini ternyata pemberian *Aloe vera* selama 24 dan 48 jam tidak menunjukkan perbedaan bermakna bila dibandingkan dengan pemberian 72 jam. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh karena pada masa 24 jam masih terjadi perubahan yang *reversible* dan selama masa 48 jam didalam kultur masih terjadi keseimbangan nutrisi yang didapat dari media kultur sel. Bila lebih dari 48 jam terjadi ketidakseimbangan nutrisi sel, selain itu hasil metabolisme sel didalam *well* tidak bisa dibuang. Maduratna (1999) kematian sel selain karena bahan yang diujikan yaitu *Aloe vera*, juga disebabkan karena adanya perubahan dalam media kultur sel itu sendiri



BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini, inkubasi *Aloe vera* gel 100% dengan metode *freeze drying* selama 24, 48 dan 72 jam berpengaruh terhadap sitotoksisitas sel fibroblas BHK-21.

7.2 Saran

1. Pemakaian obat tradisional tidak sepenuhnya aman, dikarenakan belum semua tanaman tradisional ada bukti ilmiah yang menyatakan dosis, kandungan, cara pemakaian dan efek samping. Disarankan masyarakat tetap waspada dan hati-hati dalam penggunaannya.
2. Sebelum pemakaian *Aloe vera* disarankan mencuci getah *Aloe vera* yang berwarna kuning. Selain rasanya pahit, getah kuning ini cukup berbahaya bagi kesehatan.
3. Setelah memotong *Aloe vera* dari batangnya disarankan segera mencuci dan segera dimanfaatkan. Karena *Aloe vera* sangat mudah teroksidasi yang ditandai dengan perubahan warna menjadi kecoklatan yang berarti rusaknya zat-zat aktif tertentu dari *Aloe vera*.
4. Penelitian ini perlu dilanjutkan dengan uji klinis pada hewan coba untuk mengetahui efek yang terjadi secara *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- Aliadi, A., dkk, 1996, *Tanaman Obat pilihan*, Jakarta, Yayasan Sidowayah, h167
- Anusacive, KJ., 1996, *Phillip's Science of Dental Material*, 10th ED, WB Saunders Co, Philadelpia, p 75-80
- Aloe, Integrative Medicine Access, 2000, <http://www.ICMAccess20.com>
- Boel, Trelia, 2002, *Daya Anti Bakteri Pada Beberapa Konsentrasi Dan Kadar Hambat Tumbuh Minimal Dari Aloe vera*, Dentika Dental Journal, Vol 7, No 1, 2002: 58-66
- Bird, PR & Forrester, FT, 1981, *Basic Laboratory Techniques in Cell Culture*, Public Health Service centre of Disease Control, p 33-36
- Craigh, R, 1997, *Restorative Dental Material*, 11th ed, CV Mosby Co, St Lois, 20-23
- Danhof, I.V, 2001, *Natural Living Product*, the company contact or order, [Http://www.Natur Living Product-Aloin in Aloe vera.htm](Http://www.NaturLivingProduct-AloininAloevera.htm)
- Daniel, WW, 1991, *Biostatics Formulation for Analysis in the Health Scinces*, 5th ed, John Willey and Sons, New York, p 155
- Davis, R.H, 1998, *The Conductor – Orchestra Concept of Aloe vera*. <Http://www.Aloe.Com>
- Dinas urusan Pangan Pontianak, 2002, *Manfaat, Khasiat dan kandungan Lidah buaya*. [Http://www.Dinas Urusan pangan Pontianak](Http://www.DinasUrusanPanganPontianak)

- Eames A.J and Mc Daniels L.H, 1947, *An Introduction To Plant Anatomy*, Mac. Graw Hill Bppk Co, New York and London, 301-2
- Enoch S and Price P, 2004, *Cellular, Mollecular and Biochemical Difference in The Pathophysiology of Healing Between Acute Wounds, Chronic Wounds and Wounds in The Aged*. <http://www.worldwidewounds.com>
- Freshney, R.I, 1987, *Culture of Animals Cells (A manual of technique)*, 2nd, ed, Alan R., Liss inc. New York, p7-12
- Furnawanthi, I., 2002, *Khasiat & Manfaat Lidah Buaya*, Jaskarta, Agro Media Pustaka, h1-46
- Gage, D & Tara, E, *Buku Pintar Terapi Aloe vera*, penerjemah Suwandi, Jakarta, Taramedia & Restu Agung, h9-130
- Gage, D, 2002, *Aloe vera The Healing Plantation*, www.aloe.com/aloe, p1-2
- Ganiswarna Suliatia G dkk, 2001, *Farmakologi dan Terapi*, Edisi 4, Jakarta, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, h207-22
- Geisler M and Jones K, 2002, *The Nature of Aloe vera*, Wright Co, New York, 2002, p 1363-78
- Gsianturi, 2002, *Lidah buaya Sembuhkan Berbagai Penyakit Berat*, Jakarta. <http://www.kompas.com/kesehata/news.htm>
- Hadi, S,1996, *Statistik*, Jilid III, cetakan XII, Andi Offset, Yogyakarta,
- Hembing, H.M, 2005, *Cantik dan Sehat Dengan Lidah Buaya*, Jakarta, Pondok Renungan, h1-4
- Hembing, H.M, 1997, *Hidup sehat Cara Hembing : Lidah Buaya*, Jakarta, Elex Media Computindo, h21-4

- Hembing, H.M, 1992, *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*, Jakarta, Pustaka Kartini, h38-39, 100-2
- Hernani, C.S, 2001, *Budidaya Tanaman Obat Komersial*, Jakarta, Penebar Swadaya
- Kane DP and Krasner D, 1997, *Chronic Wound Care*, 2nd ed, Health Management Publications Inc, p1-4
- Leeson, C.R, dkk, 1996, *Buku Ajar Histologi*, Edisi V, cetakan VI, Jakarta, EGC, h116-117
- Levine J.M and Edgerton M, 1993, *Biocompatibility its Future in Prosthodontics Research*, J Pros Dent, 69: 406-410
- Maat's, 1999, *Kultur Jaringan*, Program Pasca Sarjana UA, h 1-3, 14&15, 60-63
- Maduratna, Ernie, 1999, Biokompatibilitas gel Tetrasiklin Hidroklorida terhadap kultur jaringan, *Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal)*, Vol. 32, No. 4 :140-3
- Newwal ,Carol.A, 1996, *Herbal Medicines a Guide for Health Care Professionals*, The Pharmacouticel press, London :p25
- Padua, L.S.de, 1999, *Plant Resources of South East Asia 12*, Bogor, Prosea, p100-107
- Paul ,John, 1975, *Cell and Tissue Cultures*, Edinburg, Bailliere, Tindall, P 345-355
- Panggabean ,Fujio, 2004, *Lidah buaya*, Jakarta. <http://www.asiamaya.com>
- Pusvetma, 1990, *Metode Freeze Drying*, Surabaya.

- Rantam ,Fedik A, 2003, *Metode Immunologi*, Airlangga University Press, Surabaya, h23-31
- Redaksi Trubus, 2992, *Seri pengalaman Obat Tradisional Sembuhkan Mereka*, Jakarta, Trubus, h7-12
- Robbins S.L and Kummar V.K, 1995, *Buku Ajar Patologi I*, Alih bahasa Staf Pengajar Laboratorium Patologi Anatomi FK Unair, Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC, p1-25
- Santoso, H.B, 2000, *Lidah Buaya, Juga untuk Kanker*, Rubrik Media Medis, Senior, h28
- Schatteman G, 2001, *Angiogenesis and Wound Healing*, <http://www.MedicalCellBiologyFall2001.com>
- Shreeve, 2001, *Aloe vera: Nature's Best Kept Secret* , Med journal, Lonbdon,, p72,65-8
- Soejono, SK, 1988, *Laporan Penelitian Pengembangan Tehnik Kultur Jaringan yang Berperan dalam Sistem Hormonal, Sistem Enzim dan Faktor Tropik*, Pau Bioteknologi, UGM, Yogyakarta.
- Spector, Spector, T.D, 1993, *Pengantar Patologi Umum*, Alih bahasa Sutjipto et al, Edisi ke-3, Gajah Mada University Press, h137,198-202
- Timbrell, JA, 1994, *Principles of Biochemical Toxicology*, 2nd ed, Taylor and Francis ltd, London, p 216-277
- Trease, G.E and Evans W.C, 1987, *Pharmacognosy*, 12th ed, ELBS, Eastbourne, p:403-8
- Trease, G.E and Evans W.C, 1980, *Pharmacology*, 11th edition, London, p394-9

Wolfe B, 2001, *The Handbook of Aloe vera*, Albuquerque, New Mexico, p:116-7

Wilmana Freddy, 2004, *Lidah buaya Atasi Serangan Jantung dan Diabetes*,

Jakarta. <http://www.kompascybermedia.com>



LAMPIRAN 1

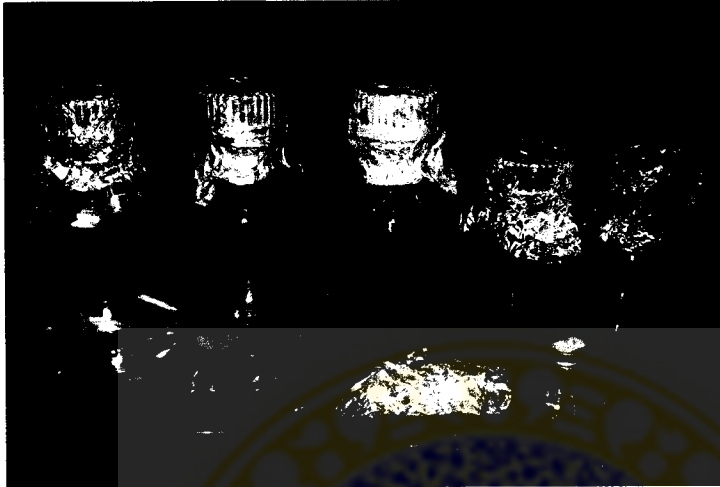
Gambar 1. Alat-alat penelitian



Gambar 2. Mesin Freeze drying Betta 1-8k



Gambar 3. Bahan-bahan penelitian



Gambar 4. *Aloe vera Barbandesis Miller*



Gambar 5. Kelompok perlakuan 24 jam



Keterangan :
A = Sel hidup
Terlihat terang
B = Sel Mati
Terlihat berwarna biru

Gambar 6. Kelompok kontrol 24 jam



Keterangan:
A = Sel hidup
Terlihat terang
B = Sel Mati
Terlihat berwarna biru

Gambar 7. Kelompok perlakuan 48 jam



Keterangan :
A = Sel hidup
Terlihat terang
B = Sel Mati
Terlihat berwarna biru

Gambar 8. Kelompok kontrol 48 jam



Keterangan:
A = Sel hidup
Terlihat terang
B = Sel Mati
Terlihat berwarna biru

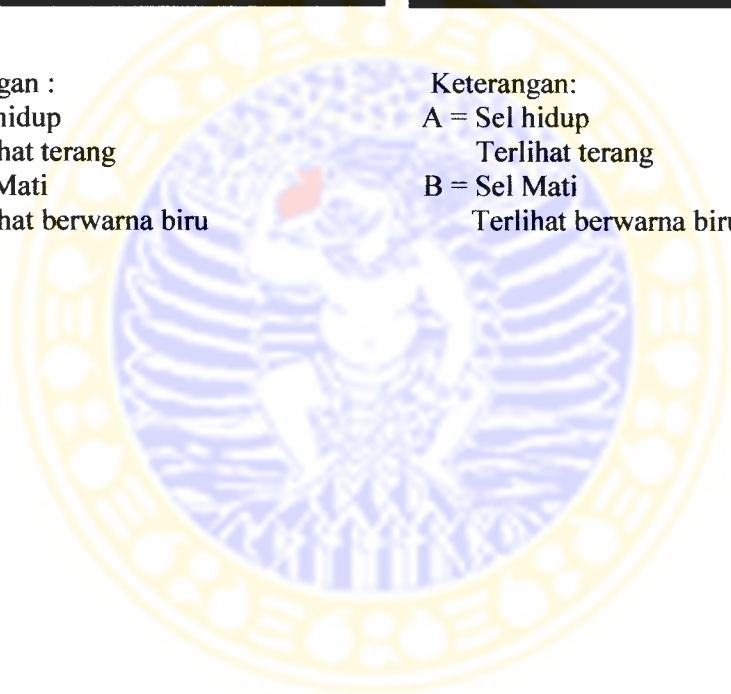
Gambar 9. Kelompok Perlakuan 72 jam

Gambar 10. Kelompok kontrol 72 jam



Keterangan :
A = Sel hidup
Terlihat terang
B = Sel Mati
Terlihat berwarna biru

Keterangan:
A = Sel hidup
Terlihat terang
B = Sel Mati
Terlihat berwarna biru



LAMPIRAN 2

Tabel Hasil Penelitian

Tabel Data hasil penelitian persentase sel fibroblas yang hidup menggunakan rumus Bird&Forrester, 1981.

Lama Inkubasi	Perlakuan		Kontrol	
	Sel Hidup	Sel Mati	Sel Hidup	Sel Mati
24 jam	3	1	4	0
	6	2	9	1
	8	2	5	2
	4	1	5	3
	4	2	5	3
	10	3	3	2
Σ	35	11	31	11
Persentase sel hidup	76,08 %		73,8%	
48 Jam	12	2	13	2
	10	3	17	2
	5	2	8	1
	12	1	9	2
	6	1	9	2
	5	5	5	1
Σ	50	14	61	10
Persentase sel hidup	78,12%		85,91%	
72 jam	4	16	3	17
	6	31	3	34
	16	20	14	34

	12	20	5	21
	29	32	9	22
	15	34	12	28
Σ	82	153	46	156
Persentase sel hidup	34,85%		22,77%	

Keterangan:

Rumus Bird&Forrester (1981)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{\text{Jumlah sel hidup}}{\text{Jumlah sel hidup} + \text{sel mati}} \times 100\%$$

Pada Tabel Hasil penelitian didapatkan persentase sel fibroblas hidup pada kelompok perlakuan dengan inkubasi 24 jam sebesar 76,08% dan kelompok kontrol 73,8%. Pada inkubasi 48 jam, persentase sel fibroblas yang hidup pada kelompok perlakuan sebesar 78,12% dan kelompok kontrol 85,91%. Sedangkan pada kelompok perlakuan, inkubasi 72 jam persentase sel fibroblas sebesar 34,85% dan kelompok kontrol 22,77%. Setelah dilakukan perhitungan persentase sel fibroblas yang hidup pada masing-masing kelompok dengan rumus Bird & Forrester (1981) dilakukan analisis data.

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	N	SEL
Normal Parameters		18
	Mean	.60894
	Std. Deviation	.216579
Most Extreme Differences	Absolute	.187
	Positive	.137
	Negative	-.187
Kolmogorov-Smirnov Z		.793
Asymp. Sig. (2-tailed)		.555

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

Oneway

Descriptives

SEL	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
satu	6	.75600	.049059	.020028	.70452	.80748	.667	.800
dua	6	.71050	.178142	.072726	.52355	.89745	.500	.923
tiga	6	.36033	.113336	.046269	.24139	.47927	.162	.475
Total	18	.60894	.216579	.051048	.50124	.71665	.162	.923

ANOVA

SEL	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.562	2	.281	17.957	.000
Within Groups	.235	15	.016		
Total	.797	17			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: SEL

Tukey HSD

(I) TRITMEN	(J) TRITMEN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
satu	dua	.04550	.072255	.806	-.14218	.23318
	tiga	.39567	.072255	.000	.20799	.58335
dua	satu	-.04550	.072255	.806	-.23318	.14218
	tiga	.35017	.072255	.001	.16249	.53785
tiga	satu	-.39567	.072255	.000	-.58335	-.20799
	dua	-.35017	.072255	.001	-.53785	-.16249

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

Homogeneous Subsets

SEL

Tukey HSD

TRITMEN	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
tiga	6	.36033	
dua	6		.71050
satu	6		.75600
Sig.		1.000	.806

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	N	SEL
Normal Parameters	Mean	.74994
	Std. Deviation	.117721
Most Extreme Differences	Absolute	.169
	Positive	.169
	Negative	-.101
Kolmogorov-Smirnov Z		.584
Asymp. Sig. (2-tailed)		.884

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

T-Test

Group Statistics

TRITMEN	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
SEL perlakuan 24 jam kontrol	6	.75583	.049422	.020177
	6	.74405	.167220	.068267

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means		t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.						Lower	Upper
SEL	Equal variances assumed	10.021	.010	.166	10	.872	.01178	.071186	-.146830	.170396
	Equal variances not assumed			.166	5.867	.874	.01178	.071186	-.163366	.186932

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SEL
N		12
Normal Parameters	Mean	.78167
	Std. Deviation	.143138
Most Extreme Differences	Absolute	.267
	Positive	.162
	Negative	-.267
Kolmogorov-Smirnov Z		.924
Asymp. Sig. (2-tailed)		.360

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

T-Test

Group Statistics

TRITMEN	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
SEL perlakuan 48 jam	6	.71050	.178142	.072726
kontrol 48 jam	6	.85283	.034423	.014053

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means		95% Confidence Interval of the Difference					
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
SEL	Equal variances assumed	8.913	.014	-1.922	10	.084	-.14233	.074072	-.307375	.022709
	Equal variances not assumed			-1.922	5.373	.109	-.14233	.074072	-.328834	.044167

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	N	SEL
Normal Parameters	Mean	12 .34975
	Std. Deviation	.179102
Most Extreme Differences	Absolute	.180
	Positive	.180
	Negative	-.132
Kolmogorov-Smirnov Z		.623
Asymp. Sig. (2-tailed)		.833

- a Test distribution is Normal.
b Calculated from data.

T-Test

Group Statistics

	TRITMEN	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
SEL	perlakuan 72 jam	6	.36033	.113336	.046269
	kontrol 72 jam	6	.33917	.239702	.097858

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means		Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference			
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Lower	Upper		
SEL	Equal variances assumed	1.010	.338	.196	10	.849	.02117	.108245	-.220018	.262352
	Equal variances not assumed			.196	7.129	.850	.02117	.108245	-.233855	.276188