

**PENGARUH EKSTRAK TERIPANG EMAS (*Stichopus hermanii*)
TERHADAP PENURUNAN KADAR SITOKIN PROINFLAMATORY IL-6
PADA PENYEMBUHAN LUKA GINGIVA TIKUS WISTAR**

**LARAS PANCA SAKTI
J011211095**



**DEPARTEMEN ILMU ORAL BIOLOGI
PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**



Optimized using
trial version
www.balesio.com

**PENGARUH EKSTRAK TERIPANG EMAS (*Stichopus hermannii*)
TERHADAP PENURUNAN KADAR SITOKIN PROINFLAMATORY IL-6
PADA PENYEMBUHAN LUKA GINGIVA TIKUS WISTAR**

LARAS PANCA SAKTI
J011211095

Skripsi

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Pendidikan Dokter Gigi

pada

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI
DEPARTEMEN ILMU ORAL BIOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**



SKRIPSI

PENGARUH EKSTRAK TERIPANG EMAS (*Stichopus hermanii*)
TERHADAP PENURUNAN KADAR SITOKIN PROINFLAMATORY IL-6 PADA
PENYEMBUHAN LUKA GINGIVA TIKUS WISTAR

LARAS PANCA SAKTI
J011211095

Skripsi,

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Kedokteran Gigi pada 20
Juni 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada

Program Studi Pendidikan Dokter Gigi
Departemen Oral Biologi
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:
Pembimbing tugas akhir,

Mengetahui:
Ketua Program Studi,

vati, drg.,

Drg Muhammad Ikbal, Ph.D,
Sp.Pros, Subsp. PKIKG(K)

998022002

NIP 198010212009121002



PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Pengaruh Ekstrak Teripang Emas (*Stichopus Hermanii*) Terhadap Penurunan Kadar Sitokin Proinflammatory Il-6 Pada Penyembuhan Luka Gingiva Tikus Wistar" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing Prof. Dr. Asmawati, drg., M.Kes., PBO. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 25 September 2024

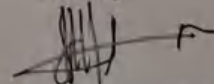


UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yesus Kristus atas berkat dan karunia-Nya yang senantiasa memberkati, memberikan kelancaran serta kemampuan kepada penulis sehingga skripsi yang berjudul "Pengaruh Ekstrak Teripang Emas (*Stichopus hermannii*) Terhadap Penurunan Kadar Sitokin Proinflamatory Il-6 Pada Penyembuhan Luka Gingiva Tikus Wistar" dapat selesai tepat pada waktunya. Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak akan terwujud tanpa dukungan, bantuan, dan doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed., Ph.D. selaku dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin beserta seluruh sivitas akademik atas bantuannya selama penulis menempuh Pendidikan
2. Prof. Dr. Asmawati, drg., M.Kes., PBO selaku dosen pembimbing skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk membimbing serta memberikan arahan dan saran kepada penulis selama proses penelitian dan penyusunan skripsi hingga selesai.
3. drg. Anggun Mauliana Putri Sp. PM selaku penasehat akademik yang telah memberikan nasihat serta dukungan selama penulis menjalani proses perkuliahan.
4. Prof. Dr. drg. Irene Edith Rieuwpassa, M.Si. PBO dan Prof. Dr. drg. Nurlindah Hamrun, M.Kes selaku dosen penguji skripsi yang telah memberikan arahan dan saran kepada penulis selama proses penyusunan skripsi ini.
5. Ibu Cia dan Bapak Safri selaku pengelola laboratorium atas bantuannya, arahan serta ilmu yang diberikan selama proses penelitian berlangsung.
6. Kedua orang tua tercinta penulis, Bapak Sukito Setiawan dan Ibu Ruth Sumule, serta saudara terkasih Arif Wicaksono atas doa, pengorbanan, motivasi, dan dukungan yang luar biasa tak ternilai untuk penulis selama menempuh pendidikan hingga dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini.
7. Segenap keluarga besar seperjuangan Inkremental 2021, khususnya Grace Tandioga, Gloria Jeswilda, dan Bella Putri atas kebersamaan dan rasa saling mendukung serta memotivasi satu sama lain selama masa studi dan penyusunan skripsi ini.
8. Kepada seluruh rekan-rekan saya Putriani Achyar, Winda Angraini, Freti Sartika, dan Sipra Vinensa saya mengucapkan terima kasih atas kebersamaan yang selalu dirasakan dan rasa saling mendukung dan memotivasi satu sama lain.

Penulis,



Laras Panca Sakti



ABSTRAK

LARAS PANCA SAKTI. **Pengaruh Ekstrak Teripang Emas (*Stichopus Hermanii*) Terhadap Penurunan Kadar Sitokin Proinflamatory IL-6 Pada Penyembuhan Luka Gingiva Tikus Wistar** (dibimbing oleh Prof. Dr. Asmawati, drg., M.Kes., PBO)

Latar belakang. Teripang emas mengandung bahan aktif dan sifat terapeutik potensial seperti vitamin, 86,8% protein, asam dokosaheksaenoat, kondroitin, glukosaminoglikan (GAG), glikosida keratin, lektin, mineral, mukopolisakarida, omega 3, 6, dan kolagen 80,0%. Bahan aktif tersebut berpotensi untuk digunakan sebagai sumber nutrisi atau obat yang dapat mengurangi reaksi inflamasi serta dapat mempercepat proses penyembuhan luka. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) terhadap penurunan ekspresi IL-6 pada hewan uji tikus wistar pasca insisi. **Metode.** Penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratorium dengan desain penelitian *post-test with control group design*. Pengujian ini dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kontrol negatif CMC, kontrol positif Kenalog in orabase, dosis ekstrak teripang emas 80%, 40% dan 20%. Luka pada gingiva hewan uji dilakukan dengan pisau bedah. Satu jam setelah inflamasi, dilakukan pengambilan darah untuk melihat peningkatan kadar IL-6 lalu hewan uji diberikan perlakuan menggunakan bahan uji sesuai kelompok masing-masing. Setelah pemberian bahan uji, darah kembali diambil untuk melihat penurunan kadar IL-6. Analisis kadar IL-6 pada ELISA Kit Reader dengan menggunakan metode ELISA *sandwich*. Data dianalisis dengan menggunakan One-Way ANOVA dan dilanjutkan dengan uji Post-Hoc LSD. **Hasil** pengujian terhadap tikus menunjukkan ekstrak Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) memiliki pengaruh terhadap penurunan kadar IL-6 pada hewan uji yang mengalami inflamasi. **Kesimpulan.** Penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*) konsentrasi 80%, 40%, dan 20% dapat memberikan pengaruh terhadap kadar IL-6 pada hewan uji. Ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*) yang paling efektif dalam menurunkan kadar IL-6 pada hewan uji yakni konsentrasi 80%.

Kata kunci: Teripang emas, *Stichopus hermanii*, Interleukin 6, Antiinflamasi.



ABSTRACT

LARAS PANCA SAKTI. **Effect of Golden Sea Cucumber Extract (*Stichopus Hermanii*) on Reducing Proinflammatory Cytokine IL-6 Levels in Gingival Wound Healing of Wistar Rats** (supervised by Prof. Dr. Asmawati, drg., M.Kes., PBO)

Background. Golden sea cucumber contains active ingredients and potential therapeutic properties such as vitamins, 86.8% protein, doco hexanoic acid, chondroitin, glucosaminoglycan (GAGs), keratin glycosides, lectins, minerals, mucopolysaccharides, omega 3, 6, and collagen 80.0%. The active ingredient has the potential to be used for nutritional consumption or as medicine that can reduce inflammatory reactions and can accelerate the wound healing process. **Objective.** This study aims to determine the effect of the application of Golden Sea Cucumber extract (*Stichopus hermanii*) on reducing IL-6 expression in post-incision Wistar rat. **Methods.** The research conducted was a laboratory experiment with a post-test with control group design. This test is divided into 5 groups, which are negative control CMC, positive control Kenalog in orabase, doses of gold sea cucumber extract 80%, 40% and 20%. Wounds on the gingiva of test animals were made with a scalpel. One hour after inflammation, blood was taken to see the increase in IL-6 levels and then the test animals were given treatment using golden sea cucumber extract according to their respective groups. After the application of golden sea cucumber extract, blood was taken again to see the decrease in IL-6 levels. Analysis of IL-6 levels in the ELISA Kit Reader using the sandwich ELISA method. Data were analyzed using One-Way ANOVA and continued with Post-Hoc LSD test. The results of testing on rats showed that Golden Sea Cucumber (*Stichopus hermanii*) extract had an effect on reducing IL-6 levels in rat that experienced inflammation. **Conclusion.** This study proves that golden sea cucumber extract (*Stichopus hermanii*) concentrations of 80%, 40%, and 20% can have an effect on IL-6 levels in rat. The most effective gold sea cucumber extract (*Stichopus hermanii*) in reducing IL-6 levels in rat is 80% concentration.

Keywords: Gold sea cucumber, *Stichopus hermanii*, Interleukin 6, Anti-inflammatory.



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	Error! Bookmark not defined.
UCAPAN TERIMA KASIH	Error! Bookmark not defined.
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Rumusan masalah.....	2
1.3 Tujuan penelitian.....	2
1.4 Manfaat penelitian	3
1.4.1 Manfaat teoritis	3
1.4.2 Manfaat praktis	3
BAB II METODE PENELITIAN.....	4
2.1 Jenis dan Desain Penelitian.....	4
2.2 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	4
2.2.1 Lokasi Penelitian	4
2.2.2 Waktu Penelitian.....	4
2.3 Variabel dan Definisi Operasional Penelitian	4
2.3.1 Variabel Penelitian.....	4
2.3.2 Definisi Operasional Penelitian	4
Dasar Sampel Penelitian	5
Sampling.....	5
Penelitian	5
an	5



2.5.1 Alat.....	5
2.5.2 Bahan	6
2.6 Prosedur penelitian	6
2.6.1 Pengolahan Bahan Ekstrak	6
2.6.2 Pengambilan Darah Awal.....	7
2.6.3 Perlakuan Luka Insisi pada Hewan Uji	7
2.6.4 Aplikasi Ekstrak Teripang Emas Terhadap Hewan Uji.....	7
2.6.5 Pengambilan Sampel Darah.....	7
2.6.6 Analisis Kadar IL-6 Menggunakan Metode ELISA (<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>).....	7
2.7 Pengolahan dan analisa data	8
2.8 Alur penelitian.....	9
BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN	10
3.1 Hasil.....	10
3.1.1 Kadar Rerata IL-6 Sebelum Perlakuan Pada Tiap Kelompok.....	11
3.1.2 Kadar Rerata IL-6 Setelah Dilakukan Insisi Pada Tiap Kelompok	13
3.1.3 Kadar Rerata IL-6 Setelah Perlakuan (Aplikasi Bahan Uji) Pada Tiap Kelompok.....	15
3.1.4 Kadar Rerata Peningkatan IL-6 (Selisih Darah Awal dan Darah Setelah Insisi)	18
3.1.5 Kadar Rerata Penurunan IL-6 Setelah Aplikasi Bahan Uji.....	20
3.2 Pembahasan	24
BAB IV KESIMPULAN	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	30



DAFTAR TABEL

Tabel 1 Uji deskriptif rerata IL-6 sebelum perlakuan.....	11
Tabel 2 Uji normalitas rerata IL-6 sebelum perlakuan	11
Tabel 3 Uji homogenitas rerata IL-6 sebelum perlakuan	12
Tabel 4 Uji anova rerata IL-6 sebelum perlakuan.....	13
Tabel 5 Uji deskriptif rerata IL-6 setelah dilakukan insisi.....	13
Tabel 6 Uji normalitas rerata IL-6 setelah dilakukan insisi	14
Tabel 7 Uji homogenitas rerata IL-6 setelah dilakukan insisi	14
Tabel 8 Uji anova rerata IL-6 setelah dilakukan insisi.....	15
Tabel 9 Uji deskriptif rerata IL-6 setelah aplikasi bahan uji	15
Tabel 10 Uji normalitas rerata IL-6 setelah aplikasi bahan uji	16
Tabel 11 Uji homogenitas rerata IL-6 setelah aplikasi bahan uji	16
Tabel 12 Uji anova rerata IL-6 setelah aplikasi bahan uji.....	17
Tabel 13 Hasil analisis post-hoc LSD kadar IL-6.....	18
Tabel 14 Uji deskriptif rerata peningkatan IL-6.....	19
Tabel 15 Uji normalitas rerata peningkatan IL-6	19
Tabel 16 Uji homogenitas rerata peningkatan IL-6.....	20
Tabel 17 Uji anova rerata peningkatan IL-6.....	20
Tabel 18 Uji deskriptif rerata penurunan IL-6	21
Tabel 19 Uji normalitas rerata penurunan IL-6.....	21
Tabel 20 Uji homogenitas rerata penurunan IL-6	22
Tabel 21 Uji anova rerata penurunan IL-6	22
Tabel 22 Hasil analisis post-hoc LSD kadar IL-6.....	23



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Tugas Pembimbing Skripsi	31
Lampiran 2 Form Amandemen Etik	32
Lampiran 3 Surat Amandemen Etik	34
Lampiran 4 Surat Izin Penelitian.....	35
Lampiran 5 Daftar Hadir Seminar Hasil.....	37
Lampiran 6 Berita Acara Seminar Hasil	38
Lampiran 7 Kartu Kontrol Skripsi.....	39
Lampiran 8 Dokumentasi Penelitian	40
Lampiran 9 Hasil Analisis Data	44
Lampiran 10 Daftar Riwayat Hidup	54



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Luka sering kali terbentuk ketika anatomi dan fisiologi kulit, mukosa mulut, dan organ lainnya dalam keadaan normal terganggu. Pemulihannya merupakan proses biologis yang bertahap, rumit, dan dinamis. (Meenakshi, Raghunath and Ramu, 2022) Luka mempunyai bermacam penyebab, seperti operasi, cedera, faktor ekstrinsik (misalnya, tekanan, luka bakar, serta luka sayat), ataupun keadaan patologis seperti diabetes ataupun penyakit vaskular. (V. Stankov, 2019)

Berdasarkan patogenesisnya luka diklasifikasikan menjadi luka akut ataupun kronis, luka akut umumnya melalui proses penyembuhan yang terorganisir serta tepat, sehingga menciptakan pemulihan anatomis yang utuh serta fungsional yang berkelanjutan. Sebaliknya, luka kronis tidak bisa mencapai pemulihan anatomis yang utuh dan fungsional yang maksimal dan ditandai dengan proses patologis, seperti peradangan terus menerus, infeksi yang terus-menerus, dan nekrosis. (Raziyeva *et al.*, 2021; Krzyszczyk *et al.*, 2018)

Baik kulit maupun mukosa mulut menunjukkan pola yang sama dalam hal penyembuhan sebagai respons terhadap cedera. (Pereira and Sequeira, 2021) Sebagai hasil dari hemostasis, pada cedera mukosa dan kulit, jaringan granulasi yang kaya akan fibrin terbentuk dan mengalami pematangan saat fase inflamasi berlangsung. Pada fase akhir inflamasi, luka bertransisi ke fase proliferasi yang terkait dengan migrasi keratinosit dan fibroblas ke dalam luka. Fibroblast mengeluarkan matriks ekstraseluler dan membentuk kembali jaringan granulasi, sedangkan keratinosit mengembalikan fungsi pertahanan pada daerah yang mengalami kerusakan. (Nikoloudaki, Creber and Hamilton, 2020)

Meskipun jaringan kulit dan jaringan rongga mulut memiliki proses penyembuhan makroskopik yang serupa, namun telah dibuktikan bahwa keduanya memiliki banyak variasi pada tingkat seluler dan molekuler dalam kaitannya dengan proses seluler yang mendasari pemulihan struktur dan fungsi jaringan. (Nikoloudaki, Creber and Hamilton, 2020; Waasdorp *et al.*, 2021)

Penyembuhan luka yang tepat waktu sangat penting untuk mengembalikan kulit sebagai lapisan pelindung. Pada tahap inflamasi akut, terjadi proses pelepasan sitokin proinflamasi, diantaranya adalah IL-6. IL-6



peran utama dalam inflamasi akut dan diperlukan untuk proses penyembuhan luka yang tepat waktu. Dilepaskan lebih awal sebagai respons terhadap cedera, IL-6 menginduksi pelepasan sitokin proinflamasi dari makrofag, keratinosit, sel endotel, dan sel stroma. IL-6 juga telah ditemukan menginduksi kemotaksis leukosit ke dalam luka. Sinyal IL-6 bertanggung jawab untuk mengembalikan luka ke kondisi reparatif ketika terjadi peradangan. Regulasi waktu penyembuhan luka sangat penting karena sinyal proinflamasi yang tidak tepat

dapat mengakibatkan luka membutuhkan waktu yang lebih lama untuk sembuh dan berisiko infeksi. (Johnson *et al.*, 2020)

Obat golongan analgetik antiinflamasi non steroid (AINS) merupakan obat yang sering diresepkan untuk terapi inflamasi, demam, dan nyeri. Akan tetapi, obat golongan ini umumnya memiliki efek samping seperti mual, gastritis, eritema kulit, dan sakit kepala (Konda and Jayanti, 2021), sehingga diperlukan pengobatan alternatif untuk mengatasi rasa nyeri serta peradangan dengan efek samping yang lebih kecil. Sebagai upaya untuk mengembangkan obat untuk mengatasi inflamasi maka diperlukan pemanfaatan sumber daya alam yang dapat digunakan sebagai bahan obat secara optimal dan mengurangi efek samping.

Teripang emas adalah organisme laut yang juga dikenal sebagai echinodermata, atau secara lokal sering disebut 'gamat'. (Damaiyanti *et al.*, 2019) Teripang emas termasuk dalam genus *Stichopus*, yang dapat ditemukan di perairan Sumatera, Nusa Tenggara dan Sulawesi. (Fawzya *et al.*, 2020) Beberapa penelitian melaporkan bahwa teripang memiliki aktivitas biologi dan farmakologi. (Adam *et al.*, 2023)

Pemberian ekstrak teripang emas dapat menghambat proses terjadinya inflamasi. (Hossain, Dave and Shahidi, 2023) Setelah terjadi kerusakan jaringan dan adanya invasi dari bakteri, arteriol pada daerah yang rusak akan melebar untuk meningkatkan aliran darah ke lokasi kerusakan. Vasodilatasi ini disebabkan oleh histamin yang dilepaskan oleh sel mast. Pada fase inflamasi ini terjadi aktivasi berbagai sel inflamasi yang salah satunya adalah makrofag yang memproduksi sitokin pro inflamasi seperti IL-6. (Kolimi *et al.*, 2022) Terhambatnya proses inflamasi akibat pemberian ekstrak teripang emas akan mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah akan berkurang. Apabila respon inflamasi selesai, maka ekspresi IL-6 dan jumlah sel radang akan menurun. (Purwoko, Putro and Hananto, 2022)

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, sehingga peneliti tertarik untuk melihat kadar IL-6 pada serum tikus wistar setelah diaplikasikan dengan ekstrak Teripang Emas (*Stichopus hermanii*).

1.2 Rumusan masalah

Apakah pemberian ekstrak Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) berpengaruh terhadap penurunan kadar IL-6 pada tikus wistar pasca insisi?



litian

jetahui pengaruh pemberian ekstrak Teripang Emas (*Stichopus* radap penurunan ekspresi IL-6 pada hewan uji tikus wistar pasca

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai efektivitas pemberian ekstrak Teripang Emas (*Stichopus hermannii*) melalui analisis kadar IL-6 pada tikus wistar pasca insisi.

1.4.2 Manfaat praktis

1. Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai pertimbangan dalam memanfaatkan teripang emas sebagai alternatif pengobatan pada rongga mulut.
2. Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan tentang alternatif terapi yang telah diketahui efektifitasnya secara laboratorium untuk meningkatkan pelayanan kesehatan rongga mulut bagi masyarakat.



BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratorium. Desain penelitian yang dilakukan adalah *post-test with control group design*, yaitu kelompok yang diberi perlakuan dan kelompok kontrol kemudian dilakukan observasi.

2.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

2.2.1 Lokasi Penelitian

1. Pembuatan ekstrak teripang emas serta pembuatan gel teripang emas dilakukan di Laboratorium Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin.
2. Pemeliharaan hewan uji dan perlakuan pada hewan uji dilakukan di Laboratorium Biofarmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin.
3. Pemeriksaan kadar IL-6 menggunakan metode ELISA dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin.

2.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari-April 2024.

2.3 Variabel dan Definisi Operasional Penelitian

2.3.1 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

Variabel independen : Ekstrak Teipang Emas (*Stichopus hermanii*)

Variabel dependen : Ekspresi IL-6

Variabel kontrol : Usia dan jenis kelamin tikus

2.3.2 Definisi Operasional Penelitian

1. Ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*) adalah bahan yang diperoleh dari hasil ekstraksi dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut methanol, yang digunakan sebagai aplikasi pada hewan uji.
2. Hewan uji adalah tikus wistar jantan yang berumur sekitar 6-8 minggu dengan berat badan 150-250 gram yang sebelumnya telah diadaptasi selama 7 hari.
3. Uji ELISA adalah tes yang digunakan untuk mendeteksi dan mengukur antibodi atau antigen terhadap virus, bakteri, dan bahannya. interleukin 6 (IL-6) adalah sitokin proinflamasi yang akan diukur setelah diaplikasikan ekstrak teripang emas.



2.4 Teknik dan Besar Sampel Penelitian

2.4.1 Teknik Sampling

Penelitian ini menggunakan teknik purposive sampling untuk pengambilan sampel. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi 5 kelompok. Sampel diambil dari posisi tersebut dan besarnya dihitung menggunakan rumus Federer sebagai berikut:

$$\text{Rumus Federer: } (n-1)(t-1) \geq 15$$

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

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

$$(n-1)(4) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 15+4$$

$$4n \geq 19$$

$$n = 4,75$$

$$n \approx 5$$

Keterangan:

n = besar sampel tiap kelompok.

t = banyaknya kelompok, jumlah intervensi atau pengamatan.

Berdasarkan perhitungan diatas didapatkan minimal jumlah 5 tikus wistar untuk 5 macam kelompok perlakuan, sehingga didapatkan jumlah keseluruhan hewan uji dalam penelitian ini adalah 25 ekor.

2.4.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan yaitu hewan uji tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar sebanyak 25 ekor yang dikelompokkan sebanyak 5 kelompok dengan bahan uji ekstrak teripang emas (*Stichopus hermannii*) dengan tujuan untuk mengetahui penurunan kadar interleukin 6 melalui uji ELISA, dengan kriteria:

1. Kriteria Inklusi
 - a) Jenis kelamin jantan
 - b) Berat badan 150-250 gram
 - c) Umur sekitar 6-8 minggu
2. Kriteria Eksklusi
 - a) Tikus tidak dalam keadaan sehat
 - b) Aktivitas dan tingkah laku tikus tidak normal
 - c) Tikus mati saat penelitian



an

nset

mbangan analitik

3. Gelas Erlenmeyer
4. Batang pengaduk
5. Kertas saring
6. *Rotary evaporator*
7. Toples
8. *Scalpel*
9. *Blade*
10. Pipa kapiler
11. *Disposable syringe*
12. Tabung vakum
13. Tabung evendor
14. Centrifuge
15. *ELISA reader*

2.5.2 Bahan

1. *Handsocon*
2. Masker
3. Teripang emas (*Sthicopus hermanii*)
4. *Methanol*
5. Tikus wistar jantan
6. Eter
7. Ketamine HCl Injeksi 100 mg/ml
8. Kapas besar
9. *Rat IL-6 ELISA Kit*

2.6 Prosedur penelitian

2.6.1 Pengolahan Bahan Ekstrak

1. Teripang segar dibersihkan dan dipotong kecil kemudian dipisahkan dari bagian yang tidak dibutuhkan lalu ditimbang untuk didapatkan berat bersih.
2. Teripang dikeringkan menggunakan oven selama 24 jam.
3. Sampel direndam dengan methanol sebanyak 500 ml dalam bejana maserasi. Sampel di maserasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Proses maserasi dilakukan 2 kali sampai didapatkan maserat berwarna bening.
4. Hasil maserasi yang berupa larutan disaring dengan kertas saring sehingga didapat filtrat dan residu.
5. Ekstrak methanol yang diperoleh dipekatkan menggunakan bantuan *rotary evaporator* yang bertujuan untuk memperoleh senyawa hasil ekstraksi yang diinginkan.



filtrat yang diperoleh disentrifuge dengan kecepatan 6.000 rpm selama 10 menit dengan suhu yang digunakan adalah 40°C, agar senyawa bioaktif tidak rusak oleh pemanasan dengan suhu yang tinggi.

Ekstrak kemudian dilarutkan dengan CMC agar menjadi bentuk gel dan dapat diberikan pada hewan uji melalui topikal.

2.6.2 Pengambilan Darah Awal

Setiap tikus wistar diambil darahnya yakni dengan memasukkan tikus ke dalam toples yang telah diberi eter pada kapas. Setelah tikus pingsan, pengambilan darah dilakukan dengan menggunakan pipa kapiler lalu darah dimasukkan ke dalam tabung vakum

2.6.3 Perlakuan Luka Insisi pada Hewan Uji

Hewan uji yang akan diberikan perlakuan dianestesi terlebih dahulu menggunakan ketamine. Luka sayat dibuat sepanjang 1-2 mm pada bagian gingiva tikus dengan menggunakan scalpel steril, blade yang digunakan merupakan *disposable blade*, darah yang keluar dibersihkan dengan akuades.

2.6.4 Aplikasi Ekstrak Teripang Emas Terhadap Hewan Uji

Luka pada tikus diberi perlakuan sesuai dengan kelompok yang telah ditentukan sebanyak 3 kali sehari tiap rentang waktu 8 jam dengan cara mengoleskan gel ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*) di area luka insisi. Pemberian *Kenalog in Orabase* sebagai kontrol positif pada kelompok tikus 1 (K1), pemberian basis gel CMC sebagai kontrol negatif pada kelompok tikus 2 (K2). Pemberian gel ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*) pada area yang dilakukan luka insisi dengan konsentrasi bertingkat, 20% pada kelompok tikus perlakuan 1 (P1), 40% pada kelompok tikus perlakuan 2 (P2), dan 80% pada kelompok tikus perlakuan 3 (P3).

2.6.5 Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan darah yang dilakukan 1 jam setelah insisi dan 24 jam setelah diberikan gel ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*) untuk menilai kadar mediator inflamasi IL-6. Pengambilan darah dilakukan di mata tikus. Setelah dilakukan pengambilan darah, kemudian dimasukkan dalam tabung yang berisi antikoagulan EDTA, natrium sitrat dan heparin. Antikoagulan yang terpilih dalam penelitian ini adalah antikoagulan EDTA dalam tabung EDTA 0,5 mL. EDTA terpilih karena hampir semua biomarker inflamasi stabil dalam darah EDTA yang disimpan di dalam lemari es. Kemudian sampel di sentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 2000-3000 rpm pada suhu 2-8 °C selama 30 menit. Apabila pengujian sampel darah ditunda, maka plasma yang telah dipisah harus disimpan pada suhu -70°C hingga sampel akan dianalisis.

2.6.6 Analisis Kadar IL-6 Menggunakan Metode ELISA (*Enzyme-Linked sorbent Assay*)



apakan semua reagen, larutan standar dan sampel. kemudian jen dibiarkan pada suhu kamar sebelum digunakan. Pengujian kukan pada suhu kamar.

o dimasukkan dalam bingkai sesuai jumlah yang dibutuhkan dalam gujian dan strip yang tidak digunakan disimpan pada suhu 2-8 °C. mbahkan 50 µL larutan standar pada well standar.

4. Ditambahkan 40 μL sampel pada well sampel dan ditambahkan 10 μL antibodi anti-IL-6 pada well sampel, kemudian ditambahkan 50 μL streptavidin-HRP pada well sampel dan well standar.
5. Dilakukan pengadukan pada well dan plate ditutup dengan menggunakan segel.
6. Plate diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C .
7. Selanjutnya segel dibuka dan plate dicuci menggunakan wash buffer sebanyak 5 kali. Dilanjutkan dengan pencucian well dengan 300 μL wash buffer selama 30 detik hingga 1 menit pada setiap pencucian. Kemudian plate dibiarkan mengering atau dengan menggunakan tissue atau kertas absorben.
8. Ditambahkan 50 μL larutan substrat A dan 50 μL larutan substrat B pada tiap well. Kemudian plate ditutup dengan segel baru.
9. Plate diinkubasi dalam suasana gelap selama 10 menit pada suhu 37°C .
10. Kemudian ditambahkan stop solution sebanyak 50 μL pada tiap well dan akan terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning.
11. Dilakukan analisis kadar IL-6 pada ELISA Kit Reader.

2.7 Pengolahan dan analisa data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan analisis kuantitatif. Data dianalisis dengan OneWay ANOVA menggunakan software SPSS (*Statistical Package for Social Science*). ANOVA adalah teknik statistik yang digunakan untuk menguji hipotesis sampel berkorelasi bila datanya berbentuk interval atau rasio. Lalu dilanjutkan dengan uji Post Hoc Tests untuk membandingkan antar kelompok. Syarat untuk uji ANOVA adalah skala data numerik, data berpasangan pada variabel yang diteliti serta digunakan lebih dari 2 kelompok.



2.8 Alur penelitian

