

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kulit merupakan salah satu organ tubuh yang letaknya paling luar yang berfungsi sebagai pelindung tubuh terhadap lingkungan dan sangat mudah terluka. Sebagai organ pelindung hampir di seluruh bagian tubuh, kulit sangat mudah mengalami cedera. Cedera yang paling sering terjadi adalah luka (*vulnus*). Luka merupakan kerusakan fungsi jaringan dan struktur tubuh. Luka dapat terjadi akibat beberapa faktor. Faktor tersebut diantaranya adalah trauma, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik, atau gigitan hewan. Berdasarkan bentuknya, luka terbagi atas dua jenis, yaitu luka tertutup dan luka terbuka. Luka terbuka pada kulit dapat mengganggu integritas kulit. Luka dapat mengakibatkan kerugian pada hewan yaitu kesakitan, penurunan nafsu makan, infeksi sekunder (Tarigan *et al.*, 2023). Saat terjadi luka, hewan akan mengalami perubahan kondisi tertentu, seperti hilangnya keseluruhan atau sebagian fungsi organ, respon stres simpatis, kontaminasi bakteri dan kematian sel, pada dasarnya luka akut maupun luka kronik akan sembuh dengan sendirinya melalui proses alami yang terjadi di dalam tubuh (Widyawati *et al.*, 2021).

Terdapat dua faktor yang dapat menjadi hambatan potensial dalam penyembuhan luka, yaitu faktor sistemik dan faktor lokal. Faktor sistemik meliputi usia, kondisi tubuh, asupan nutrisi, dan penyakit penyerta. Faktor lokal pada luka yang diketahui memengaruhi penyembuhan antara lain: perfusi jaringan, viabilitas jaringan, infeksi, keberadaan hematoma dan/atau seroma, serta faktor mekanis (seperti tegangan, gerakan, dan sisa jaringan) (Mickelson *et al.*, 2017). Salah satu faktor sistemik adalah kondisi tubuh. Hewan dengan kondisi immunosupresi mampu menghambat proses penyembuhan luka. Kondisi immunosupresi ialah kondisi di mana sistem imun dimodulasi, sehingga berpotensi mempengaruhi waktu penyembuhan luka dan kerentanan terhadap infeksi. Sistem imun berperan penting dalam pencegahan infeksi tetapi juga proses penyembuhan luka, dengan efek inflamasi yang menyebabkan proliferasi sel dan sekresi komponen intra dan ekstraseluler yang penting (Appoo *et al.*, 2023).

Kortikosteroid umumnya digunakan dalam praktik hewan kecil untuk mengelola berbagai penyakit, termasuk gangguan alergi, peradangan, penyakit yang dimediasi imun, hipoadrenokortisisme, dan cedera tulang belakang. Secara klinis, durasi penggunaan kortikosteroid bervariasi dengan etiologi dan respons terhadap penggunaan dan kemungkinan timbulnya efek samping yang tidak diinginkan. Salah satu efek samping terpenting dari penggunaan kortikosteroid jangka panjang adalah immunosupresi (Alshehabat *et al.*, 2020). Beberapa jenis glukokortikoid dapat menyebabkan immunosupresi, salah satunya adalah *dexamethasone* (Hamida Al Abrori *et al.*, 2020). Dalam kondisi immunosupresi akibat *dexamethasone*, dapat menyebabkan peningkatan glukoneogenesis dan penurunan penyerapan glukosa jaringan, sehingga mengakibatkan hiperglikemia, yang berpotensi mempengaruhi proses penyembuhan luka (Builders *et al.*, 2019).

Perawatan terbaik dan optimal dalam pengelolaan luka adalah dengan mempertahankan lingkungan dalam keadaan lembab (*moisture balance*) dengan menggunakan bahan-bahan dan metode yang mempercepat kontraksi luka, mencegah terbentuknya jaringan granulasi yang berlebihan, mencegah pertumbuhan bakteridan sebagai pelembab yang sesuai untuk mempercepat proses penyembuhan luka (Etty *et al.*, 2021). Madu merupakan terapi non-farmakologi yang biasa diberikan pada pengobatan luka. Madu memiliki sifat fisikokimia spesifik yang mendukung penggunaannya sebagai agen terapeutik untuk memerangi beberapa infeksi mikroba. Khasiat madu ini juga dikaitkan dengan efek penyembuhan luka, potensi anti-inflamasi, antioksidan, dan kemampuan menangkal radikal bebas (Tashkandi, 2021). Madu dan komponen-komponennya mampu merangsang atau menghambat pelepasan sitokin tertentu dari monosit dan makrofag, tergantung pada kondisi luka. Aktivasi kedua jenis sel imun yang diinduksi madu dapat meningkatkan debridemen luka dan mempercepat proses perbaikan. Dengan demikian, madu dapat mempercepat reepitelisasi dan penutupan luka. Aktivitas imunomodulatori madu sangat kompleks karena keterlibatan beberapa senyawa yang bervariasi secara kuantitatif di antara madu dengan asal yang berbeda (Majtan, 2014).

Berdasarkan latar belakang tersebut, untuk mengetahui pengaruh dan perbandingan efektivitas gel madu topikal dengan konsentrasi 10% dan 20% terhadap penyembuhan luka eksisi serta kadar glukosa darah pada hewan dengan kondisi imunosupresi akibat pemberian *dexamethasone*, maka dilakukan penelitian Komparasi Efektivitas Gel Madu Topikal 10% dan 20% Terhadap Diameter Luka Eksisi dan Kadar Glukosa Darah Hewan: Studi Awal Eksperimental Imunosupresi (*Dexamethasone*) dan Non-Imunosupresi.

1.2 Teori

1.2.1 Madu

Madu terbuat dari nektar bunga yang dikumpulkan oleh lebah madu dan sebagian besar terdiri dari glukosa dan fruktosa. Madu juga mengandung vitamin, mineral, asam amino, enzim, asam organik, dan senyawa lainnya. Komposisinya dipengaruhi oleh variasi musiman serta lokasi geografis tempat pengumpulan nektar oleh lebah. Kadar air campuran nektar yang diendapkan berkurang dan mengering sehingga menjadi lebih pekat dan menghasilkan madu yang kental (Tashkandi, 2021). Madu alami terdiri dari sekitar 82% air, karbohidrat, protein, fitokimia, antioksidan, dan mineral. Gula dalam madu meliputi, 38,2% fruktosa, 31,2% glukosa, 9% disakarida dan beberapa tri-sakarida lainnya serta sakarida yang lebih tinggi, dan 0,7-1% sukrosa. Madu yang mengandung berbagai senyawa aktif, termasuk flavonoid, asam organik, asam fenolik, vitamin, dan enzim, dapat meningkatkan penyembuhan luka. Pengendapan fibroblas dan pembentukan kolagen juga dapat didorong oleh banyaknya asam amino yang ditemukan dalam madu (Tashkandi, 2021). Vitamin yang terkandung dalam madu termasuk biotin (B7), asam nikotinat (B3), asam folik

(B9), asam pantotenat (B5), piridoksin (B6), dan tiamin (B1); juga enzim seperti diastase invertase, glukosa oksidase, dan katalase, serta mineral berupa kalium, besi, magnesium, fosfor, tembaga, dan kalsium. Madu juga mengandung hidrogen peroksida yang dihasilkan oleh glukosa oksidase, inhibin, dan mempunyai kadar pH rendah (Kalangi, 2012).

Madu memiliki sifat fisikokimia spesifik yang mendukung penggunaannya sebagai agen terapeutik untuk memerangi beberapa infeksi mikroba. Khasiat madu ini juga dikaitkan dengan efek penyembuhan luka, potensi anti-inflamasi, antioksidan, dan kemampuan menangkal radikal bebas. Sifat alami madu serta senyawa aktifnya sangat penting untuk proses penyembuhan luka. Madu alami adalah cairan kental yang memiliki konsistensi seperti jeli yang dapat menciptakan lapisan permukaan di atas luka yang menghambat masuknya bakteri dan melindungi luka dari dehidrasi. Kandungan gulanya yang tinggi menciptakan gradien osmotik yang lebih tinggi yang menarik cairan melalui jaringan subdermal dan menawarkan sumber glukosa tambahan untuk mengembangkan komponen seluler di area luka. Aktivitas air madu kurang dari 0,91 aw, yang mencegah dan mengendalikan pertumbuhan bakteri pada permukaan luka dan menyebabkan aliran cairan yang mengeluarkan serpihan, serpihan, dan jaringan nekrotik serta mikroorganisme keluar dari luka. Selain itu, aktivitas air yang rendah pada madu membantu mengangkut oksigen dan nutrisi dari jaringan dalam ke area luka, serta pH madu yang rendah meningkatkan oksigenasi jaringan, sementara radikal bebas yang menyebabkan kerusakan jaringan dihilangkan oleh flavonoid dan asam aromatik (Tashkandi, 2021).

1.2.2 Glukosa Darah

Glukosa darah di dalam tubuh berfungsi untuk bahan bakar bagi proses metabolisme dan juga sumber energi utama bagi otak. Glukosa darah adalah gula yang terdapat dalam darah yang terbentuk dari karbohidrat dalam makanan dan disimpan sebagai glikogen di hati dan otot rangka (Subiyono *et al.*, 2016). Glukosa yang mengalir dalam darah merupakan sumber energi utama bagi sel-sel tubuh. Peningkatan kadar glukosa darah setelah makan atau minum akan merangsang pankreas memproduksi insulin yang mencegah peningkatan kadar glukosa darah lebih lanjut dan menyebabkan kadar glukosa darah menurun secara perlahan. Proses kinerja glukosa dalam tubuh tentunya akan terganggu jika tubuh mengalami peningkatan glukosa melebihi batas normal (Kunyah *et al.*, 2023).

Kadar glukosa darah diatur dengan ketat dan dipertahankan dalam kisaran yang kecil oleh interaksi hormon insulin dan glukagon. Dalam keadaan normal, glukosa berlebih disimpan di hati sebagai glikogen dan jika kadarnya lebih tinggi, glukosa akan diubah menjadi lemak dan disimpan di hati serta jaringan adiposa. Namun, karena semakin banyak glukosa yang dipompa ke dalam sistem melalui asupan makanan berkalori tinggi, insulin akan mengimbanginya untuk beberapa waktu, tetapi pada titik tertentu, sel-sel menjadi resistan terhadap insulin yang mengakibatkan pradiabetes dan akhirnya diabetes serta kelebihan berat badan.

Terdapat kontrol vegetatif dalam sistem saraf pusat, yang menjaga asupan makanan dan pengeluaran energi tetap terkendali, sehingga cadangan energi tetap konstan dan dengan demikian berat badan juga tetap stabil. Ketika sel-sel lemak meningkatkan penyimpanan lemaknya, jaringan adiposa melepaskan leptin, hormon kenyang yang beredar, yang memberi sinyal kepada hipotalamus untuk mengatur asupan makanan dan menghambat sintesis asam lemak. Kelainan pada homeostasis glukosa dan energi dapat terjadi secara independen satu sama lain, atau dapat juga terjadi bersamaan (Giridharan, 2018).

1.2.3 Penyembuhan Luka

Luka adalah terputusnya atau hilangnya kontinuitas seluler dan anatomis, yang mengakibatkan terganggunya fungsi pelindung atau fisiologis jaringan (Pacvletic, 2018). Hal ini dapat berupa kerusakan sederhana pada integritas epitel kulit atau dapat lebih dalam, meluas ke jaringan subkutan dengan kerusakan pada struktur lain seperti tendon, otot, pembuluh darah, saraf, organ parenkim bahkan tulang (Velmar *et al.*, 2009). Penyembuhan luka adalah proses dinamis yang meliputi unsur-unsur tubuh, pembuluh darah, fibroblast, dan sel epitel. Penyembuhan luka dibagi menjadi penyembuhan primer dan sekunder. Umumnya penyembuhan luka merupakan serangkaian proses yaitu induksi respon peradangan akut oleh cedera, regenerasi sel parenkim, migrasi dan proliferasi baik parenkim maupun jaringan ikat, sintesis protein, dan remodelling baik parenkim untuk mengembalikan fungsi jaringan maupun jaringan ikat untuk memperoleh kekuatan luka. Perbedaan antara penyembuhan primer dan sekunder adalah jika kehilangan sel atau jaringan lebih luas maka proses penyembuhan menjadi kompleks, regenerasi sel parenkim tidak dapat mengembalikan bentuk asal sehingga terbentuk granulasi kemudian jaringan parut (Firdaus *et al.*, 2020).

Proses penyembuhan terdiri dari fase awal (hemostasis dan inflamasi), *intermediate* (proliferasi) dan fase akhir (*remodelling*). Pada fase awal, terjadi hemostasis dimana pembuluh darah yang terputus pada luka akan dihentikan dengan terjadinya reaksi vasokonstriksi untuk memulihkan aliran darah serta inflamasi untuk membuang jaringan rusak dan mencegah infeksi bakteri (Suryadi *et al.*, 2013). Selama hemostasis, trombosit dan fibrin berfungsi membentuk sumbat untuk menghentikan pendarahan. Hemostasis diikuti oleh fase inflamasi yang ditandai dengan pelepasan sitokin, terutama dari makrofag, yang penting untuk menginduksi fase proliferasi (Cotterel *et al.*, 2024). Pada fase *intermediate* terjadi penurunan jumlah sel-sel inflamasi, tanda-tanda inflamasi berkurang, munculnya sel fibroblast yang berproliferasi, pembentukan pembuluh darah baru, epitelialisasi dan kontraksi luka. Matriks fibrin yang dipenuhi platelet dan makrofag mengeluarkan *growth factor* yang mengaktifasi fibroblast. Fibroblast bermigrasi ke daerah luka dan mulai berproliferasi hingga jumlahnya lebih dominan dibandingkan sel inflamasi pada daerah tersebut. Fase ini terjadi pada hari ke-3 sampai hari ke-5. Fase *remodelling* dimulai sekitar hari ke-21 hingga 1 tahun. Pembentukan kolagen akan mulai menurun

dan stabil. Meskipun jumlah kolagen sudah maksimal, kekuatan tahanan luka hanya 15% dari kulit normal. Proses *remodelling* akan meningkatkan kekuatan tahanan luka secara drastis. Proses ini didasari pergantian dari kolagen tipe III menjadi kolagen tipe I. Peningkatan kekuatan terjadi secara signifikan pada minggu ke-3 hingga minggu ke-6 setelah luka. Kekuatan tahanan luka maksimal akan mencapai 90% dari kekuatan kulit normal (Suryadi *et al.*, 2013).

Sejumlah besar energi aktif dibutuhkan untuk penyembuhan luka. Energi yang berasal dari karbohidrat penting untuk proliferasi dan diferensiasi sel kulit selama perbaikan. Selama proses penyembuhan, karbohidrat monosakarida (seperti glukosa) dimetabolisme oleh glikolisis untuk menghasilkan adenosin trifosfat seluler dan zat antara berenergi tinggi seperti nikotinamida adenin dinukleotida dan piruvat, yang menyediakan energi untuk metabolisme sel. Jika glukosa tidak tersedia untuk penyembuhan luka, hati mulai memproduksi glukosa dari substrat karbon nonkarbohidrat melalui proses glukoneogenesis (Kruse *et al.*, 2016).

1.2.4 **Dexamethasone**

Dexamethasone adalah glukokortikoid sintetis non-selektif yang banyak diresepkan karena sifat anti-inflamasi, anti-alergi, dan immunosupresifnya. Obat ini sekitar 50 hingga 100 kali lebih kuat daripada kortisol. Namun, bila diberikan secara berlebihan, *dexamethasone* menimbulkan efek samping seperti katabolisme otot, hiperfagia, peningkatan adipositas, dislipidemia dan hipertriasilgliserolemia, serta resistensi insulin. Selain itu, pemberian *dexamethasone* jangka panjang menyebabkan pembentukan radikal bebas seperti superoksida, hidrogen peroksida, dan radikal hidroksil, yang berkontribusi terhadap stres oksidatif dan merusak kerja dan sekresi insulin, sehingga mempercepat munculnya DM tipe 2 (Batista *et al.*, 2024). *Dexamethasone* memicu resistensi insulin dengan menghambat kerja insulin, yaitu dengan merangsang produksi glukosa di hati dan mengurangi penggunaan glukosa di jaringan perifer. *Dexamethasone* merangsang produksi miostatin yang mengakibatkan atrofi otot dan penurunan berat badan pada hewan. Obat ini memiliki kemampuan kuat untuk menghambat pengangkutan glukosa ke dalam sel, sehingga mengakibatkan kekurangan lemak akibat resistensi insulin. *Dexamethasone* menyebabkan hiperglikemia melalui dua mekanisme, di satu sisi melalui mekanisme produksi berlebih (kelebihan glukoneogenesis dan glikogenolisis) di sisi lain melalui penurunan penggunaan glukosa oleh jaringan perifer (Maidadi *et al.*, 2023).

1.2.5 **Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)**

Menurut Rejeki *et al.* (2018), klasifikasi taksonomi tikus wistar (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Filum : Chordate

Kelas : Mamalia
 Ordo : Rodentia
 Famili : Murinane
 Genus : *Rattus*
 Spesies : *Rattus norvegicus*



Gambar 1. Tampilan morfologi tikus wistar (*Rattus norvegicus*) (Al-Hajj *et al.*, 2016)
 Sumber: Al-Hajj *et al.*, 2016. *Journal of Food and Nutrition Research* 4(7): 461-470 <https://pubs.sciepub.com/jfnr/4/7/8>

Pada penelitian eksperimental, hewan percobaan yang sering digunakan adalah tikus wistar. Selain memiliki harga yang murah, perawatannya pun mudah dilakukan. Tikus wistar juga mudah untuk dikembangbiakan. Tikus wistar mempunyai kemampuan metabolik yang relatif cepat sehingga lebih sensitif bila digunakan dalam penelitian yang berhubungan dengan metabolik tubuh (Irdalisa *et al.*, 2015). Tikus wistar dikembangkan pertama kali di Wistar Institute, Philadelphia, Pennsylvania, USA pada tahun 1906. Tikus wistar memiliki warna rambut albino dan merupakan hasil *outbred*. Tikus wistar adalah hewan model serba guna umum paling populer digunakan untuk studi penyakit menular, penuaan, dan sebagai model bedah (Modlinska dan Pisula, 2020).

1.3 Tujuan dan Manfaat

1.2.1 Tujuan Penelitian

Untuk menganalisis dan membandingkan efektivitas gel madu topikal 10% dan 20% dalam memengaruhi diameter luka eksisi dan kadar glukosa darah pada hewan, baik dalam kondisi imunosupresi (induksi *dexamethasone*) maupun non-imunosupresi.

1.2.2 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan baru mengenai efektivitas gel madu topikal 10% dan 20% terhadap diameter luka eksisi dan kadar glukosa darah, baik pada hewan dengan kondisi imunosupresi (yang diinduksi

dengan *dexamethasone*) maupun non-imunosupresi. Secara aplikatif, hasil penelitian ini diharapkan menjadi dasar ilmiah untuk pemanfaatan madu sebagai terapi alternatif dalam mempercepat penyembuhan luka, khususnya pada kondisi gangguan sistem imun, serta berpotensi dalam pengembangan produk topikal alami yang aman dan efektif untuk aplikasi di bidang veteriner maupun di masa depan untuk manusia.

BAB II METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2024 hingga Februari 2025. Penelitian ini menggunakan hewan coba berupa tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar berjenis kelamin jantan yang diperoleh dari Kabupaten Maros, kemudian diaklimatisasi dan diberikan perlakuan di *Animal Lab* Rumah Sakit Hewan Pendidikan Universitas Hasanuddin. Pengambilan dan pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Patologi Rumah Sakit Hewan Pendidikan Universitas Hasanuddin. Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Rumah Sakit Hewan Pendidikan Universitas Hasanuddin untuk penggunaan hewan model (tikus wistar) dalam penelitian, dengan nomor surat No. 012/UN4.1.RSHUH/B/PP36/2025

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat *punch biopsy*, botol minum, *glucometer*, gunting, *handscoon*, jangka sorong digital, jas lab, kandang tikus, dan masker. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 24 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar jantan dengan berat 200-300 g, air, *alcohol swab* 70%, aquades, gliserin, madu hutan, metil paraben, Na-CMC (*sodium carboxymethylcellulose*), pakan pelet, *povidone iodine*, propilen glikol, strip gula darah, dan tisu.

2.3 Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan pendekatan kuantitatif yang bertujuan membandingkan efektivitas gel madu topikal 10% dan 20% dalam memengaruhi diameter luka eksisi dan kadar glukosa darah pada hewan, baik dalam kondisi imunosupresi (induksi *dexamethasone*) maupun non-imunosupresi. Hewan uji dibagi ke dalam kelompok kontrol dan perlakuan, kemudian dibuat luka eksisi setelah induksi imunosupresi menggunakan *dexamethasone*. Parameter yang diamati meliputi diameter luka dan kadar glukosa darah yang diukur pada hari ke 1, 7, dan 14. Analisis data dipaparkan dalam bentuk tabel dan grafik.

2.4 Pelaksanaan Penelitian

2.4.1 Pemeliharaan Hewan Coba

Kandang disterilkan dengan cara dicuci dan dikeringkan lalu diberi serbuk kayu sebagai media alas. Tikus kemudian ditempatkan dalam kandang dan diberikan pakan pelet serta air minum secara *ad libitum*. Kadang diberikan penutup berupa kawat, kemudian diaklimatisasi selama 14 hari.

2.4.2 Pembuatan Gel Madu

Pembuatan gel madu yang digunakan mengacu pada metode yang dijelaskan oleh Lestari *et al.* (2021). Pembuatan sediaan gel dilakukan dengan menyiapkan semua bahan. Basis Na-CMC dimasukkan ke dalam wadah, kemudian dikembangkan menggunakan aquades dengan cara dipanaskan dalam suhu 70°C sambil diaduk secara konstan menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 400 rpm hingga terbentuk gel yang homogen. Metil paraben yang telah dilarutkan dengan aquades yang telah dipanaskan, diikuti dengan penambahan gliserin dan propilen glikol lalu diaduk hingga homogen. Madu dimasukkan sesuai formula bersama aquades secara perlahan sambil terus diaduk hingga tercampur sempurna dan membentuk massa gel yang sesuai.

Tabel 1. Formulasi gel (Lestari *et al.*, 2021)

Bahan	Formulasi	
	F1	F2
Madu	10%	20%
Na-CMC	3 g	3 g
Gliserin	5 g	5 g
Propilen Glikol	10 g	10 g
Metil Paraben	0,2 g	0,2 g
Aquades	ad 100 ml	ad 100 ml

Sumber: Lestari *et al.*, 2021. PHARMASIPHA : Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy 5(2): 32-40 <https://doi.org/10.21111/pharmasipha.v5i2.6521>

2.4.3 Evaluasi Fisik Gel Madu

Menurut Lestari *et al.* (2021), evaluasi fisik gel dilakukan untuk mengetahui perubahan fisik dari sediaan pada awal, tengah, dan akhir. Uji yang dilakukan meliputi uji homogenitas, organoleptis, dan pH.

a. Uji Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan dengan mengamati bentuk, bau dan warna gel. Gel dikatakan stabil jika tidak mengalami perubahan secara signifikan setelah dilakukan penyimpanan.

b. Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan mengamati campuran bahan dalam sediaan gel pada kaca objek yang menunjukkan terdapatnya butiran kasar atau tidak.

c. Uji pH

Pengukuran pH dilakukan menggunakan alat pH meter dengan mencelupkannya elektroda pH meter ke dalam sediaan. Sediaan gel dinyatakan memenuhi standar jika memiliki nilai pH pada interval 4,5-6,5 yang merupakan nilai pH kulit.

2.5.4 Perlakuan Sampel

Rumus *Federer* digunakan untuk menentukan jumlah sampel yang digunakan dalam satu kelompok dan berapa banyak jumlah pengelompokan yang dapat dilakukan.

Rumus *Federer*

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

n = jumlah sampel perkelompok

t = jumlah pengelompokan

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

$$8(n-1) \geq 15$$

$$8n - 8 \geq 15$$

$$8n \geq 15 + 8$$

$$n \geq \frac{23}{8}$$

$$n \geq 2,8$$

$$n \geq 3$$

Besar sampel pada penelitian ini adalah 24 ekor tikus wistar yang dibagi dalam 8 kelompok perlakuan, untuk setiap kelompok perlakuan terdapat 3 ekor tikus wistar.

- K- merupakan kelompok tikus wistar dengan model luka eksisi *punch biopsy* yang tidak diberikan obat topikal.
- K-2 merupakan kelompok tikus wistar diinduksi *dexamethasone* dengan model luka eksisi *punch biopsy* yang tidak diberikan obat topikal.
- K+ merupakan kelompok tikus wistar dengan model luka eksisi *punch biopsy* yang diberikan *povidone iodine*.
- K+2 merupakan kelompok tikus wistar diinduksi *dexamethasone* dengan model luka eksisi *punch biopsy* yang diberikan *povidone iodine*.
- KP1 merupakan kelompok tikus wistar diinduksi *dexamethasone* dengan model luka eksisi *punch biopsy* yang diberikan gel madu dengan konsentrasi 10%.
- KP2 merupakan kelompok tikus wistar diinduksi *dexamethasone* dengan model luka eksisi *punch biopsy* yang diberikan gel madu dengan konsentrasi 20%.
- KP3 merupakan kelompok tikus wistar dengan model luka eksisi *punch biopsy* yang diberikan gel madu dengan konsentrasi 10%.
- KP4 merupakan kelompok tikus wistar dengan model luka eksisi *punch biopsy* yang diberikan gel madu dengan konsentrasi 20%.

2.4.5 Penginduksian *Dexamethasone*

Pemberian *dexamethasone* dengan dosis tinggi 8 mg/kg diberikan melalui rute intraperitoneal selama 6 hari. Setiap hari tikus mengonsumsi pakan pellet standar dan air secara *ad libitum* (IM Nagendranayak *et al.*, 2021).

2.4.6 Pembuatan Luka

Pembuatan model luka dilakukan dengan model eksisi menggunakan alat *punch biopsy* ukuran diameter 4.0 mm yang terletak pada area dorsal tikus. Gel madu diberikan pada luka dimulai ketika hewan telah diinduksi *dexamethasone*. Pemberian gel madu secara topikal dilakukan sebanyak 2 kali sehari selama 14 hari.

2.5 Pengamatan dan Pengukuran

2.5.1 Pemeriksaan Glukosa Darah

Pengambilan sampel darah tikus dilakukan melalui *sinus orbitalis* dengan menggunakan pipet hematokrit (Siregar *et al.*, 2021). Alat *glucometer* disiapkan, kemudian darah diletakkan pada strip gula darah yang sudah berada di *glucometer*. Kadar glukosa darah akan terbaca di layar *glucometer* setelah beberapa detik dan akan dinyatakan dalam mg/dL (Dwijayanti *et al.*, 2019). Pemeriksaan glukosa darah dilakukan pada hari ke 1, 7, dan 14.

2.5.2 Pengamatan Diameter Luka

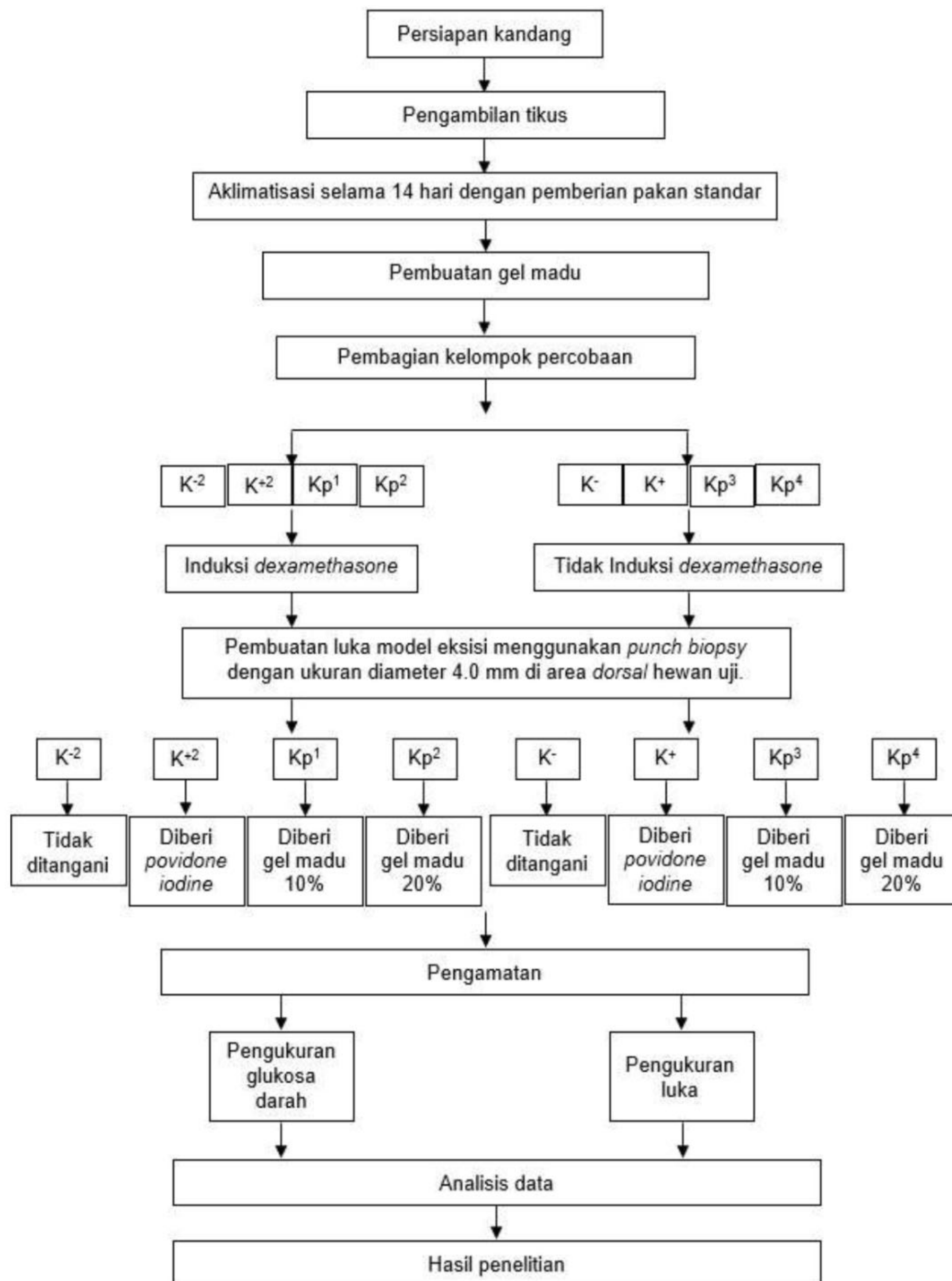
Pengamatan makroskopis bertujuan untuk membandingkan penyembuhan luka eksisi berdasarkan kelompok dan perlakuan telah yang diberikan. Pengamatan makroskopik diameter luka dilakukan menggunakan jangka sorong digital. Hasil pengukuran hari ke hari diameter luka yang diambil ialah pada hari ke 1, 7, dan 14.

2.6 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* untuk memastikan data berdistribusi dengan normal atau tidak. Di mana $p > 0.05$ menandakan data berdistribusi normal dan $p < 0.05$ menandakan tidak berdistribusi normal. Kemudian untuk menguji perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan dan waktu pengukuran, apabila data berdistribusi normal dilanjutkan dengan uji parametrik *Repeated Measures ANOVA* dan apabila data tidak berdistribusi normal uji non parametrik *Friedman* dan *Kruskal-Wallis*. Di mana $p < 0.05$ menunjukkan adanya

perbedaan signifikan dan $p > 0.05$ menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan. Jika terdapat perbedaan yang signifikan, dilanjutkan dengan uji *post hoc* untuk mengidentifikasi kelompok yang berbeda secara signifikan. Di mana apabila data berdistribusi normal digunakan uji *post hoc Bonferroni* dan apabila data berdistribusi tidak normal digunakan uji *post hoc Dunn-Bonferroni*.

2.7 Alur Penelitian



Gambar 2. Alur penelitian