

**TERAPI VCO (*Virgin Coconut Oil*) HASIL PENGASAMAN
JERUK NIPIS UNTUK HEWAN MODEL LUKA INSISI
NOSOKOMIAL BERDASARKAN KADAR TNF- α
DAN JUMLAH SEL RADANG
PADA KULIT MENCIT**

SKRIPSI

Oleh:
ANNISA RIZQI RAFRENSCA
145130100111038



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

**TERAPI VCO (*Virgin Coconut Oil*) HASIL PENGASAMAN
JERUK NIPIS UNTUK HEWAN MODEL LUKA INSISI
NOSOKOMIAL BERDASARKAN KADAR TNF- α
DAN JUMLAH SEL RADANG
PADA KULIT MENCIT**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:

ANNISA RIZQI RAFRENSCA

145130100111038



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**TERAPI VCO (*Virgin Coconut Oil*) HASIL PENGASAMAN JERUK NIPIS
UNTUK HEWAN MODEL LUKA INSISI NOSOKOMIAL
BERDASARKAN KADAR TNF- α DAN JUMLAH
SEL RADANG PADA KULIT MENCIT****Oleh :****ANNISA RIZQI RAFRENSCA****145130100111038**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 31 Juli 2019
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Edwin Widodo, S.Si., M.Sc., Ph.D.

NIP. 19810504 200501 1 001

drh. Dian Vidiastuti, M. Si

NIP. 19820207 200912 2 003

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya**Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M. App. Sc**

NIP. 19631216 198803 1 002

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Annisa Rizqi Rafrensca

NIM : 145130100111038

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

Terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) Hasil Pengasaman Jeruk Nipis untuk Hewan Model Luka Insisi Nosokomial berdasarkan Kadar TNF- α dan Jumlah Sel Radang pada Kulit Mencit

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 31 Juli 2019

Yang Menyatakan,



ANNISA RIZQI RAFRENSCA

NIM. 145130100111038

Terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) Hasil Pengasaman Jeruk Nipis untuk Hewan Model Luka Insisi Nosokomial Berdasarkan Kadar TNF- α dan Jumlah Sel Radang pada Kulit Mencit

ABSTRAK

Virgin Coconut Oil (VCO) merupakan hasil pengolahan kelapa yang mengandung asam laurat dan berfungsi sebagai antibakteri, mempercepat proliferasi fibroblas dan antiinflamasi. VCO berpotensi sebagai alternatif penanganan infeksi luka nosokomial akibat *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui VCO sebagai terapi hewan model luka insisi nosokomial terhadap penurunan kadar TNF- α dan jumlah sel radang. Rancangan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan *post control only*. Penelitian menggunakan mencit (*Mus musculus*) BALB/c jantan berat 30g berumur 8 minggu. Mencit diinsisi dan dilakukan penjahitan menggunakan benang silk 4/0 yang dikontaminasi *S. aureus*. Hewan coba dibagi dalam kelompok kontrol negatif (dijahit dan tidak diinfeksi *S. aureus*), kelompok kontrol positif (dijahit dan diinfeksi *S. aureus*), dan kelompok yang diinsisi, diinfeksi *S. aureus* dan diterapi VCO, terapi 1x sehari (P1), terapi 2x sehari (P2), dan terapi 3x sehari (P3). Pemberian VCO dilakukan selama 7 hari secara topikal. Kulit mencit diambil untuk histopatologi pewarnaan *Hematoxyline-Eosin* (HE) dan untuk uji *flow cytometer* mengetahui kadar TNF- α . Perhitungan sel radang dilakukan dari 5 lapang pandang tiap sampel yang di rata-rata. Data dianalisis menggunakan uji *one way ANOVA* dan uji lanjutan BNJ (Beda Nyata Jujur) dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Hasil menunjukkan kelompok P1 (terapi VCO 1x sehari) mampu menurunkan kadar relatif TNF- α (48,82%) dan jumlah sel radang (56,25%) pada kulit hewan model luka insisi nosokomial. Kesimpulan pada penelitian ini yaitu VCO dapat digunakan sebagai alternatif terapi luka insisi nosokomial.

Kata kunci : *Virgin Coconut Oil, Nosokomial, Sel radang, TNF- α*

VCO (*Virgin Coconut Oil*) Therapy Results for Acidification of Lime for Animals Model Nosocomial Incision Wounds Based on TNF- α Levels and Number of Inflammatory Cells in Mice Skin

ABSTRACT

Virgin Coconut Oil (VCO) is the result of processing coconut which contains lauric acid and functions as an antibacterial, accelerating the proliferation of fibroblasts and anti-inflammatory. VCO has the potential as an alternative treatment for nosocomial wound infections due to *Staphylococcus aureus*. This study aims to determine VCO as a therapy form animal model of nosocomial incision wounds to decrease TNF- α levels and the number of inflammatory cells. The design of study a Complete Randomized Design (RAL) and post control only. This study used experimental mice (*Mus musculus*) BALB/c male weighing 30g aged 8 weeks old. Mice were incised using 4/0 silk thread contaminated with *S. aureus*. Experimental animals were divided into negative control group (sutured and not infected by *S. aureus*), positive control group (sutured and infected by *S. aureus*), and the incised group, infected by *S. aureus* and treated by VCO, therapy once a day (P1), therapy 2x a day (P2), and therapy 3x a day (P3). Giving VCO is done for 7 days topically. Mice skin was taken for *Hematoxyline-Eosin* (HE) staining histopatology and for *flow cytometer* test to know TNF- α levels. Inflammation cell calculations were performed and 5 visual fields per sample were averaged. Data were analyzed using *one way ANOVA* test and continued BNJ test (Different, Real, Honest) with a confidence level of 95% ($\alpha = 0.05$). The results showed that P1 group (VCO therapy once a day) was able to reduce the relative levels of TNF- α (48.82%) and the number of inflammatory cells (56.25%) in *Mus musculus*'s skin with nosocomial incision wounds model. The conclusion of this study is that VCO can be used as an alternative therapy for nosocomial incision wounds.

Keywords: *Virgin Coconut Oil, Nosocomial, Inflammatory Cells, TNF- α*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan kemudahan dan rahmat-Nya, sehingga SKRIPSI yang berjudul “**Terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) Hasil Pengasaman Jeruk Nipis untuk Hewan Model Luka Insisi Nosokomial berdasarkan Kadar TNF- α dan Jumlah Sel Radang pada Kulit Mencit**” ini dapat terselesaikan.

Penulis mengucapkan terimakasih kepada segenap pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah membantu dalam penyusunan SKRIPSI ini. Ucapan terimakasih terutama kepada:

1. Edwin Widodo, S.Si., M.Sc., Ph.D. selaku dosen pembimbing 1 atas segala nasihat, bimbingan, arahan serta dukungan yang diberikan kepada penulis.
2. drh. Dian Vidiastuti, M. Si selaku dosen pembimbing 2 atas segala nasihat, bimbingan, arahan serta dukungan yang diberikan kepada penulis.
3. Dr. Sri Murwani, drh., MP yang telah membimbing saat awal pengambilan judul skripsi hingga proses penelitian, terimakasih atas nasihat dan masukan yang telah diberikan kepada penulis.
4. drh. Yudit Oktanella, M. Si selaku dosen penguji 1 atas segala saran dan nasihat yang telah diberikan kepada penulis.
5. drh. Galuh Chandra Agustina, M. Si selaku dosen penguji 2 atas segala saran, dan nasihat yang telah diberikan kepada penulis.
6. drh. Desi Wulansari, M. Vet selaku dosen Pembimbing Akademik atas segala nasihat dan motivasi yang telah diberikan kepada penulis.
7. Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M. App. Sc selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
8. Teruntuk keluarga penulis yaitu Bapak Sopian Mula, Ibu Umi Hidayati, Ayuk Wanodya Sofiarini Auza, kakak M. Yovantra, dek Orieza Febrina Putri, dek Anzalna Khen Khumaira, dek Sultan Akbar, serta keluarga besar Bani Zainudin yang senantiasa memberi semangat, doa terbaik, dukungan, dan pengorbanan kepada penulis selama penyusunan skripsi ini dan selama belajar di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang.

9. Teman-teman tim SKRIPSWEET yaitu Fitri, Galuh dan Ria yang tanpa lelah memberi semangat, selalu pengertian dan *support* terbaiknya.
10. Adik-adik Wafda (angkatan 15 hingga 18) terimakasih atas doa, dan semangat yang telah diberikan.
11. Desti, Nisa dan Martina yang telah memberikan perhatian, doa, semangat dan *support* selama penyelesaian skripsi ini.
12. Teman-teman DPO RKIM 18 (Elli, El, Ardian, Widi, Tama, Hasan), keluarga besar RKIM 17 dan adik-adik RKIM 18/19 yang secara langsung/tidak langsung memotivasi penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
13. Pejuang skripsi lainnya mbak Atika, mbak Fegha, dan kakak-kakak lainnya yang masih berjuang dalam penyelesaian skripsinya, terimakasih senantiasa membagi semangat dan motivasi kepada penulis.
14. Teman-teman angkatan 2014 terutama kelas D atas segala perhatian, semangat, motivasi, dukungan, kebersamaan, dan doa yang telah diberikan selama masa perkuliahan.
15. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan skripsi ini baik dengan doa, semangat, motivasi dan *support* terbaiknya yang mungkin luput tertuliskan di kata pengantar ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan SKRIPSI ini masih jauh dari kesempurnaan, maka saran dan kritik yang konstruktif dari semua pihak sangat diharapkan demi penyempurnaan selanjutnya.

Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan skripsi ini dapat memberikan manfaat dan menambah pengetahuan tidak hanya bagi penulis tetapi juga bagi pembaca.

Malang, 31 Juli 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
COVER	
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Kulit	6
2.2 Luka	9
2.3 Proses Penyembuhan Luka	10
2.4 Luka Infeksi Nosokomial	15
2.5 <i>Tumor Necrotic Factor</i> (TNF- α)	17
2.6 Sel Radang	18
2.7 <i>Virgin Coconut Oil</i> (VCO) dengan Pengasaman Perasan Jeruk Nipis	20
2.8 Mencit (<i>Mus musculus</i>)	22
BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	24
3.1 Kerangka Konseptual	24
3.2 Hipotesis Penelitian	27
BAB 4. METODE PENELITIAN	28
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	28
4.2 Alat dan Bahan	28
4.3 Tahapan Penelitian	29
4.3.1 Rancangan Penelitian	29
4.3.2 Penetapan Sampel Penelitian	30
4.3.3 Variabel Penelitian	30
4.4 Prosedur Kerja	31
4.4.1 Persiapan Hewan Coba	31
4.4.2 Pembuatan VCO Menggunakan Pengasaman Perasan Jeruk Nipis	31
4.4.3 Pembuatan Suspensi Bakteri	32
4.4.4 Identifikasi dan Uji Sensitifitas terhadap <i>S. aureus</i>	33
4.4.5 Pembuatan Benang Terkontaminasi Bakteri <i>S. aureus</i> ...	34



4.4.6 Pembuatan Model Insisi Nosokomial pada Mencit	34
4.4.7 Terapi <i>Virgin Coconut Oil</i> (VCO)	35
4.4.8 Pengambilan Jaringan Kulit	35
4.4.9 Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit	36
4.4.10 Pengukuran Kadar TNF- α	37
4.5 Analisis Data	38
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN	39
5.1 Pengamatan Makroskopis Efek Terapi VCO	41
5.2 Efek Terapi VCO Terhadap Jumlah Sel Radang	44
5.3 Efek Terapi VCO Terhadap Kadar TNF- α	53
BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN	58
6.1 Kesimpulan	58
6.2 Saran	58
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN	64



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
5.1 Rata-rata Jumlah Sel Radang	48
5.2 Rata-rata Kadar TNF- α	53



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Gambaran Lapisan Dermis pada Kulit	7
2.2 Gambaran Histologi Kulit	8
2.3 Proses Penyembuhan Luka	11
2.4 Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	23
5.1 Gambaran Makroskopis Kesembuhan Luka	43
5.2 Gambaran Histopatologi Luka Kontrol Negatif	45
5.3 Gambaran Histopatologi Luka Kontrol Positif	46
5.4 Gambaran Histopatologi Luka Perlakuan 1	46
5.5 Gambaran Histopatologi Luka Perlakuan 2	47
5.6 Gambaran Histopatologi Luka Perlakuan 3	47
5.7 Histogram Rata-rata Jumlah Sel Radang	48
5.8 Histogram Rata-rata Kadar TNF- α	54



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Kerangka Operasional Penelitian	65
2. Pembuatan Preparat Histopatologi	66
3. Prosedur Pewarnaan <i>Hematoxyline-Eosin</i>	67
4. Prosedur <i>Flowcytometry</i> untuk TNF- α	68
5. Perhitungan Pengenceran <i>Mc. Farland</i>	69
6. Uji Kemurnian <i>Stapylococcus aureus</i> pada Media MSA	70
7. Uji Sensitivitas Antibiotik terhadap <i>Stapylococcus aureus</i>	71
8. Surat Keterangan Laik Etik	72
9. Uji Fitokimia VCO	73
10. Perhitungan Statistika Jumlah Sel Radang	74
11. Perhitungan Statistika Kadar TNF- α	78
12. Hasil Uji <i>Flow cytometry</i> terhadap TNF- α	82

DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
%	: Persen
±	: Kurang lebih
≥	: Lebih besar sama dengan
°C	: Derajat selsius
BNF	: <i>Buffer Neutral Formalin</i>
BNJ	: Beda Nyata Jujur
CFU	: <i>Colony Foarming Units</i>
cm	: Sentimeter
ECM	: <i>Extra Celluler Matrix</i>
g	: gram
HE	: <i>Hematoxyline-Eosin</i>
IL-1	: Interleukin-1
IL-2	: Interleukin-2
IL-1	: Interleukin-8
MCFA	: <i>Medium Chain Asam lemak</i>
MDR	: <i>Miltidrug Resistant</i>
MHA	: <i>Mueller Hinton Agar</i>
MMP	: <i>Matrix Metallo Protease</i>
MSA	: <i>Manitol Salt Agar</i>
MRSA	: <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i>
NA	: <i>Nutrient Agar</i>
NB	: <i>Nutrient Broth</i>
NCCLS	: <i>National Commitee for Clinical Laboratory Standard</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>
PBS	: <i>Phospat Buffer Saline</i>
pg/mL	: picograms per mililiter
pH	: Potensial Hidrogen
RAL	: Rancangan Acak Lengkap
SD	: Standar Deviasi
TNF-α	: <i>Tumor Necrosis Factor- α</i>
VCO	: <i>Virgin Coconut Oil</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelia Growth Factor</i>





Terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) Hasil Pengasaman Jeruk Nipis untuk Hewan Model Luka Insisi Nosokomial Berdasarkan Kadar TNF- α dan Jumlah Sel Radang pada Kulit Mencit

ABSTRAK

Virgin Coconut Oil (VCO) merupakan hasil pengolahan kelapa yang mengandung asam laurat dan berfungsi sebagai antibakteri, mempercepat proliferasi fibroblas dan antiinflamasi. VCO berpotensi sebagai alternatif penanganan infeksi luka nosokomial akibat *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui VCO sebagai terapi hewan model luka insisi nosokomial terhadap penurunan kadar TNF- α dan jumlah sel radang. Rancangan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan *post control only*. Penelitian menggunakan mencit (*Mus musculus*) BALB/c jantan berat 30g berumur 8 minggu. Mencit diinsisi dan dilakukan penjahitan menggunakan benang silk 4/0 yang dikontaminasi *S. aureus*. Hewan coba dibagi dalam kelompok kontrol negatif (dijahit dan tidak diinfeksi *S. aureus*), kelompok kontrol positif (dijahit dan diinfeksi *S. aureus*), dan kelompok yang diinsisi, diinfeksi *S. aureus* dan diterapi VCO, terapi 1x sehari (P1), terapi 2x sehari (P2), dan terapi 3x sehari (P3). Pemberian VCO dilakukan selama 7 hari secara topikal. Kulit mencit diambil untuk histopatologi pewarnaan *Hematoxyline-Eosin* (HE) dan untuk uji *flow cytometer* mengetahui kadar TNF- α . Perhitungan sel radang dilakukan dari 5 lapang pandang tiap sampel yang di rata-rata. Data dianalisis menggunakan uji *one way ANOVA* dan uji lanjutan BNJ (Beda Nyata Jujur) dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Hasil menunjukkan kelompok P1 (terapi VCO 1x sehari) mampu menurunkan kadar relatif TNF- α (48,82%) dan jumlah sel radang (56,25%) pada kulit hewan model luka insisi nosokomial. Kesimpulan pada penelitian ini yaitu VCO dapat digunakan sebagai alternatif terapi luka insisi nosokomial.

Kata kunci : *Virgin Coconut Oil, Nosokomial, Sel radang, TNF- α*

VCO (*Virgin Coconut Oil*) Therapy Results for Acidification of Lime for Animals Model Nosocomial Incision Wounds Based on TNF- α Levels and Number of Inflammatory Cells in Mice Skin

ABSTRACT

Virgin Coconut Oil (VCO) is the result of processing coconut which contains lauric acid and functions as an antibacterial, accelerating the proliferation of fibroblasts and anti-inflammatory. VCO has the potential as an alternative treatment for nosocomial wound infections due to *Staphylococcus aureus*. This study aims to determine VCO as a therapy form animal model of nosocomial incision wounds to decrease TNF- α levels and the number of inflammatory cells. The design of study a Complete Randomized Design (RAL) and post control only. This study used experimental mice (*Mus musculus*) BALB/c male weighing 30g aged 8 weeks old. Mice were incised using 4/0 silk thread contaminated with *S. aureus*. Experimental animals were divided into negative control group (sutured and not infected by *S. aureus*), positive control group (sutured and infected by *S. aureus*), and the incised group, infected by *S. aureus* and treated by VCO, therapy once a day (P1), therapy 2x a day (P2), and therapy 3x a day (P3). Giving VCO is done for 7 days topically. Mice skin was taken for *Hematoxyline-Eosin* (HE) staining histopatology and for *flow cytometer* test to know TNF- α levels. Inflammation cell calculations were performed and 5 visual fields per sample were averaged. Data were analyzed using *one way ANOVA* test and continued BNJ test (Different, Real, Honest) with a confidence level of 95% ($\alpha = 0.05$). The results showed that P1 group (VCO therapy once a day) was able to reduce the relative levels of TNF- α (48.82%) and the number of inflammatory cells (56.25%) in *Mus musculus*'s skin with nosocomial incision wounds model. The conclusion of this study is that VCO can be used as an alternative therapy for nosocomial incision wounds.

Keywords: *Virgin Coconut Oil, Nosocomial, Inflammatory Cells, TNF- α*

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka merupakan cedera pada tubuh yang mengakibatkan terganggunya kontinuitas dari struktur tubuh. Luka dapat terjadi akibat hilangnya kontinuitas secara seluler ataupun anatomi. Penyebab terjadinya luka yaitu trauma benda tajam atau tumpul, perubahan suhu, zat kimia ataupun gigitan hewan lainnya. Luka insisi merupakan salah satu jenis luka yang disebabkan oleh benda tajam dengan kedalaman teratur dan tepi luka rata. Infeksi luka insisi dapat terjadi apabila dalam pelaksanaan melakukan insisi ataupun post insisi yang tidak steril. Kejadian luka insisi sering terjadi di rumah sakit yaitu terjadinya infeksi nosokomial (Harper, 2014).

Infeksi nosokomial merupakan infeksi yang terjadi di rumah sakit yang dapat terjadi secara lokal ataupun sistemik. Luka infeksi nosokomial dapat disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* 20%, *Pseudomonas aeruginosa* 16%, *Coagulase-negative Staphylococci* 15%, *Enterococci*, jamur, *Enterobacter*, dan *Escherichia coli* < 10%. Mikroorganisme ini dapat berasal dari dalam tubuh penderita sendiri (sumber endogin) atau dari lingkungan (sumber eksogin) yaitu dari perlengkapan rumah sakit yang tercemar, dari petugas rumah sakit maupun dari penderita lain yang sedang dirawat di rumah sakit (Soedarto, 2016). Menurut Nasution (2012) faktor yang mempengaruhi terjadinya infeksi nosokomial yaitu sistem imun pasien yang rendah, pemberian obat immunosupresif, obat antimikroba, serta melakukan transfusi darah dalam keadaan tidak steril.

Penyebab infeksi nosokomial pada luka insisi yang terinfeksi dapat menjadi *port d'entry* bagi bakteri yang bersifat *multi-drug resistant*, seperti *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), *Cl. difficile*, *E. coli*, dan *Salmonella spp.*, sehingga penanganan infeksi bakteri menggunakan antibiotik tidak cukup memadai. Hal tersebut akibat kurang tepat memilih antibiotik sehingga akan muncul resistansi yang mengakibatkan luka sulit diobati (Hendarto, 2017). Alternatif penanganan luka insisi nosokomial yaitu menggunakan bahan alami salah satunya penggunaan *Virgin Coconut Oil* (VCO).

Virgin Coconut Oil (VCO) merupakan hasil pengolahan kelapa. Modifikasi pengolahan kelapa akan menghasilkan minyak kelapa dengan kadar air dan kadar asam lemak bebas yang rendah. Salah satu metode pembuatan minyak kelapa yaitu dengan pengasaman. Metode pengasaman adalah metode pembuatan VCO dengan menambahkan senyawa asam yang berasal dari jeruk nipis ke dalam santan. Senyawa asam yang terdapat pada jeruk nipis yaitu asam sitrat akan menurunkan pH krim santan, pH krim santan yang asam akan menyebabkan minyak terpisah dari emulsi sehingga terjadi peningkatan volume VCO (Qasimah, 2017).

Berdasarkan penelitian Suastuti (2009), hampir 50% asam lemak dalam kelapa adalah asam laurat. Asam laurat adalah perubahan dari asam lemak. Pada tubuh manusia atau hewan asam laurat akan meningkat fungsinya menjadi *monolaurin* yaitu *anti-viral*, *antibacterial*, dan *antiprotozoal monoglyceride* yang berguna untuk menghancurkan mikroorganisme serta tidak memiliki efek samping. Asam laurat merupakan asam lemak jenuh dengan rantai karbon sedang

atau *Medium Chain Fatty Acid* (MCFA) yang mudah diserap sel sehingga metabolisme sel meningkat serta sel bekerja efisien membentuk sel baru dan membantu proses penyembuhan luka (Prasetyono, 2009).

Proses penyembuhan luka melalui beberapa tahapan yaitu fase hemostasis (penghentian pendarahan), fase inflamasi bertujuan untuk menghilangkan jaringan nonvital dan mencegah infeksi bakteri. Kemudian terjadi fase proliferasi yang mampu membentuk jaringan parut dan regenerasi jaringan. Pada fase yang terakhir, terjadi fase *remodelling* bertujuan untuk memaksimalkan kekuatan dan integritas struktural luka (Lorentz *et al.*, 2006). Menurut Williams (2009) fase penyembuhan tersebut diinisiasi, dimediasi, dan diteruskan oleh mediator biokimia berupa sitokin dan *growth factor*. Salah satu sitokin yang berperan dalam proses penyembuhan luka ialah *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α). TNF- α merupakan sitokin yang utama pada proses inflamasi akut yang dihasilkan oleh makrofag. Semakin tinggi kadar TNF- α pada luka, menandakan proses inflamasi sedang berlangsung, jika kadar TNF- α menurun berarti menandakan luka mulai membaik (Bratawidjaya, 2004). Respon inflamasi akut ini melibatkan sel radang berupa neutrofil dan makrofag. Peran neutrofil yaitu membersihkan daerah luka terhadap partikel asing dan bakteri kemudian dihancurkan oleh proses fagositosis makrofag (Singer, 2009).

Berdasarkan tinjauan tersebut, maka dalam penelitian ini dilakukan studi terapi *Virgin Coconut Oil* (VCO) hasil pengasaman terhadap terapi luka insisi nosokomial. Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah kadar sitokin

TNF- α dan jumlah sel radang. Penelitian ini diharapkan dapat membuat inovasi pengobatan luka insisi nosokomial yang efektif.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah terapi *Virgin Coconut Oil* (VCO) dapat menurunkan kadar TNF- α pada hewan model luka insisi nosokomial?
2. Apakah terapi *Virgin Coconut Oil* (VCO) dapat menurunkan jumlah sel radang pada hewan model luka insisi nosokomial?

1.3 Batasan Masalah

1. Hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) BALB/c jantan dengan berat 30 g yang berumur 8 minggu (Dai, 2011).
2. Anestesi untuk pembuatan model luka menggunakan kombinasi *Ketamine* HCl (dosis 100 mg/kgBB) dan *Xylazine* (dosis 5 mg/kgBB) yang disuntikkan melalui rute intraperitoneal masing-masing dengan dosis 0.1 ml/10 gBB (Clouthier, 2015; Plumb, 2008).
3. Pembuatan model luka nosokomial dibuat berdasarkan Dai (2011) yang dimodifikasi, yakni dengan membuat insisi *longitudinal midline* sepanjang 2,5 cm pada *panniculus carnosus* punggung dengan titik orientasi *vertebrae thoracalis* terakhir hingga *vertebrae lumbalis* ke 5. Luka dijahit dengan benang silk 4/0 dengan panjang 5 cm yang dikontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* (10^5 CFU/ml). Penjahitan dilakukan dengan jarum *tapper 1/2 GT 35 mm* pola *simple continuous suture* secara diagonal pada *panniculus carnosus* punggung.

4. *Virgin Coconut Oil* (VCO) diperoleh dari hasil perasan kelapa tua segar karena memiliki kandungan asam lemak yang lebih tinggi (Fajrin, 2012). Krim santan diolah dengan metode pengasaman melalui penambahan perasan jeruk nipis konsentrasi 1%. Frekuensi terapi VCO yaitu satu kali sehari, dua kali sehari dan tiga kali sehari dengan konsentrasi 100% VCO murni.
5. Pengamatan jumlah sel radang dilakukan dengan mengamati preparat histopatologi luka dengan pewarnaan *Hematoxyline-Eosin* (HE).

1.4 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui efek terapi *Virgin Coconut Oil* (VCO) terhadap penurunan kadar TNF- α pada hewan model luka insisi nosokomial.
2. Untuk mengetahui efek terapi *Virgin Coconut Oil* (VCO) terhadap penurunan jumlah sel radang pada hewan model luka insisi nosokomial.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Memperoleh informasi potensi *Virgin Coconut Oil* (VCO) sebagai terapi luka infeksi nosokomial pasca operasi.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit

Kulit merupakan organ terbesar tubuh, terdiri dari lapisan sel di permukaan yang disebut dengan epidermis, dan lapisan jaringan ikat yang lebih dalam, dikenal sebagai dermis dan hipodermis. Kulit memiliki beberapa fungsi yaitu perlindungan terhadap cedera dan kehilangan cairan, pengaturan suhu tubuh melalui kelenjar keringat dan pembuluh darah dan sensasi melalui saraf yang bersifat sensoris. Fungsi perlindungan ini terjadi melalui mekanisme biologis, yaitu pembentukan lapisan tanduk secara terus-menerus, respirasi, pengaturan suhu tubuh, produksi sebum dan keringat serta pembentukan pigmen melanin untuk melindungi kulit dari bahaya sinar ultraviolet matahari (Palvelic, 2010).

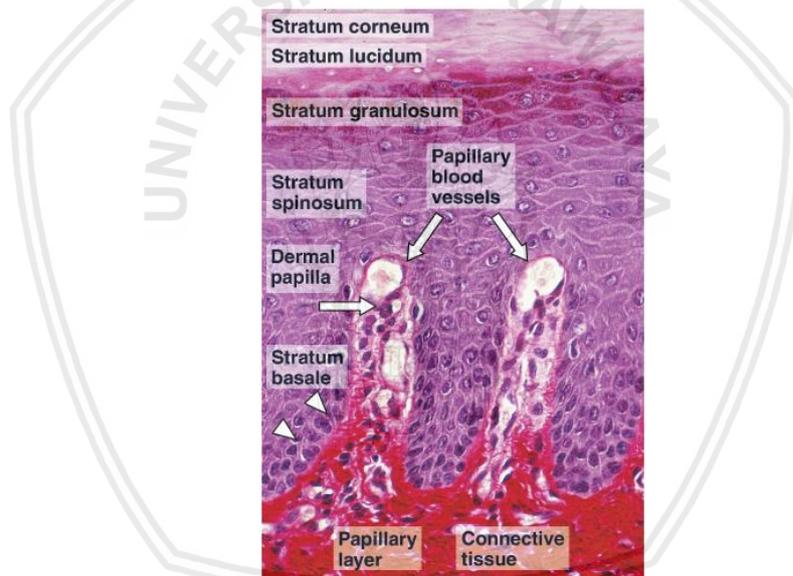
Menurut Kolarsick (2011) secara mikroskopis kulit terdiri dari 3 lapisan, yaitu:

1. Epidermis

Epidermis merupakan lapisan terluar kulit yang terdiri dari epitel skuamosa berkeratin berlapis dan lapisan ini avaskular (tanpa pembuluh darah). Epidermis terdiri atas lima lapisan sel yaitu stratum basal, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lusidum, stratum korneum yang tampak pada **Gambar 2.1**. Adapun penjelasan akan lima lapisan tersebut yaitu sebagai berikut.

- Stratum basal (stratum germinativum), terdiri atas selapis sel kuboid atau silindris basofilik yang terletak di atas lamina basalis pada perbatasan epidermis-dermis,

- Stratum spinosum, terdiri atas sel-sel kuboid dengan inti ditengah dan sitoplasma dengan cabang-cabang yang terisi berkas filamen,
- Stratum granulosum, terdiri atas 3–5 lapis sel poligonal gepeng yang sitoplasmanya berisikan granul basofilik kasar,
- Stratum lusidum, tampak lebih jelas pada kulit tebal, lapisan ini terdiri atas lapisan tipis sel epidermis eosinofilik yang sangat gepeng,
- Stratum korneum, lapisan ini terdiri atas 15–20 lapis sel gepeng berkeratin tanpa inti (Junqueira, 2005).



Gambar 2.1 Gambaran lapisan dermis pada kulit (Junqueira, 2005).

2. Dermis

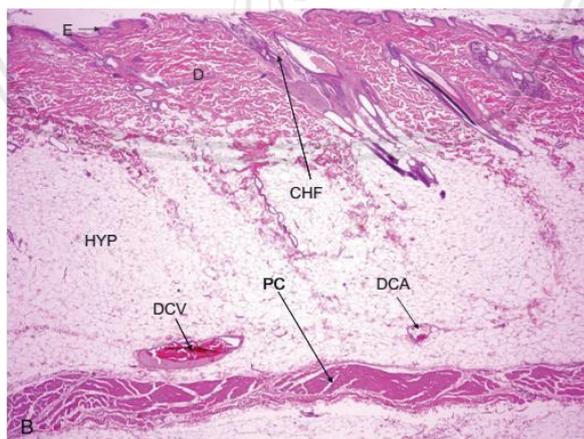
Dermis terdiri atas 2 lapisan dengan batas yang tidak nyata, stratum papilaris di sebelah luar dan stratum retikular yang lebih dalam. Stratum papilaris, terdiri atas jaringan ikat longgar, fibroblas dan sel jaringan ikat lainnya terdapat di stratum ini seperti sel mast dan makrofag. Dari lapisan ini, serabut lapisan kolagen masuk ke dalam lamina basalis dan meluas ke dalam dermis. Serabut kolagen

tersebut mengikat dermis pada epidermis yang disebut serabut penambat. Stratum retikular, terdiri atas jaringan ikat padat tak teratur dan memiliki lebih banyak serat serta lebih sedikit sel daripada stratum papilar (Junqueira, 2005).

Dermis kaya dengan jaring-jaring pembuluh darah dan limfa. Di daerah kulit tertentu, darah dapat langsung mengalir dari arteri ke dalam vena melalui anastomosis. Anastomosis ini berperan sangat penting pada pengaturan suhu. Selain komponen tersebut, dermis mengandung beberapa turunan epidermis, yaitu folikel rambut kelenjar keringat dan kelenjar sebacea (Junqueira, 2005).

3. Hipodermis

Lapisan ini terdiri atas jaringan ikat longgar yang mengikat kulit secara longgar pada organ-organ di bawahnya, yang memungkinkan kulit bergeser di atasnya. Hipodermis sering mengandung sel-sel lemak yang jumlahnya bervariasi sesuai daerah tubuh dan ukuran yang bervariasi sesuai dengan status gizi yang bersangkutan (Kalangi, 2015).



Gambar 2.2 Gambaran histopatologi kulit; E, epidermis; D, dermis; HYP, hipodermis; CHF, *compound hair follicle*; ERS, *external root sheath*; SG, kelenjar sebacea; DCA, *direct cutaneous artery*; DCV, *direct cutaneous vein*; PC, *panniculus carnosus*; APM, *musculus arrector pili* (Palvelic, 2010).

Penyusun hipodermis pada mencit salah satunya adalah *panniculus carnosus*. *Panniculus carnosus* merupakan kumpulan otot tipis pada lapisan hipodermis hewan yang merupakan salah satu komponen dari subkutan. Serat otot *panniculus carnosus* sangat tidak teratur dan cenderung berjalan melintang tampak seperti **Gambar 2.2** (Palvelic, 2010).

2.2 Luka

Luka merupakan kerusakan kontinuitas jaringan atau kulit, membran mukosa dan tulang atau organ tubuh lain. Luka disebabkan oleh banyak hal atau berbagai faktor dan proses patologis, baik secara internal maupun eksternal dari organ terlibat (Hunt, 2003). Ada berbagai macam jenis luka, diantaranya luka akut dan kronis. Luka akut biasanya akan melalui proses penyembuhan yang teratur dan tepat waktu sehingga menghasilkan integritas anatomi dan fungsional seperti semula. Luka kronik adalah luka yang gagal untuk melalui tersebut, ataupun luka yang berlangsung melalui proses perbaikan tanpa adanya integritas anatomi dan fungsional seperti semula (Kusumawardhana, 2015).

Menurut Prasetyono (2009), luka berdasarkan penyebabnya dibedakan menjadi:

1. *Vulnus ekskorsiasi* atau luka lecet/ gores adalah cedera pada permukaan epidermis akibat bersentuhan dengan benda yang memiliki permukaan kasar atau runcing.
2. *Vulnus scissum* atau luka insisi adalah luka sayat atau iris yang ditandai dengan tepi luka berupa garis lurus dan beraturan. *Vulnus scissum* biasanya dijumpai

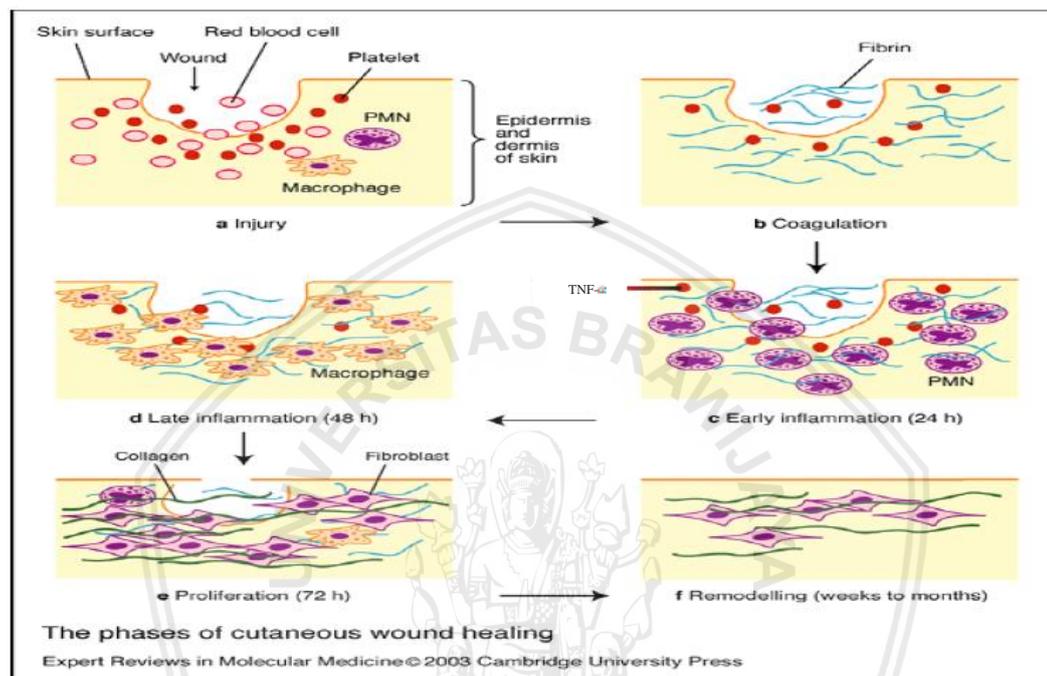
pada aktifitas sehari-hari seperti terkena pisau, sayatan benda tajam, dimana bentuk luka teratur.

3. *Vulnus laseratum* atau luka robek adalah luka dengan tepi yang tidak beraturan atau compang camping biasanya karena tarikan atau goresan benda tumpul.
4. *Vulnus punctum* atau luka tusuk adalah luka akibat tusukan benda runcing yang memiliki kedalaman luka lebih dari lebarnya.
5. *Vulnus morsum* adalah luka karena gigitan binatang. Luka gigitan hewan memiliki bentuk permukaan luka yang mengikuti gigi hewan yang mengigit, dengan kedalaman luka juga menyesuaikan gigitan hewan tersebut.
6. *Vulnus combutio* adalah luka karena terbakar oleh api atau cairan panas maupun sengatan listrik. *Vulnus combutio* memiliki bentuk luka yang tidak beraturan dengan permukaan luka yang lebar dan warna kulit yang menghitam. Biasanya juga disertai bula karena kerusakan epitel kulit dan mukosa.

2.3 Proses Penyembuhan Luka

Proses penyembuhan luka merupakan suatu proses pembentukan jaringan yang rusak sehingga kembali seperti semula dengan proses tahapan yang tampak pada **Gambar 2.3**. Proses penyembuhan luka melalui beberapa fase yaitu hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan fase *remodelling* (Djamaluddin, 2009). Setiap fase ini memiliki peran masing-masing mulai dari penghentian pendarahan, penghilangan antigen asing misal seperti bakteri, hingga pemulihan kebentuk semula. Proses penyembuhan pada suatu luka hingga sembuh memerlukan waktu yang beragam tergantung beberapa faktor yang mempengaruhinya seperti

imunitas tubuh, besar luka, kedalaman luka, jenis agen infeksi, maupun penanganan luka. Setiap fase penyembuhan luka juga memerlukan waktu yang beragam sesuai dengan peran setiap fase tersebut.



Gambar 2.3 Proses penyembuhan luka (Djamaluddin, 2009).

1. Fase Hemostasis

Fase hemostasis merupakan fase pertama tahap penyembuhan luka, dimana pada fase ini terjadi karena respon tubuh untuk meminimalisir pendarahan. Pada fase ini hanya berlangsung 5-10 menit dengan respon dari komponen vaskuler berupa vasokonstriksi pembuluh darah dan pembekuan pembuluh darah (Kumar, 2005).

Hemostasis diawali dengan terbentuknya *fibrin plug* yang terbentuk akibat aktivasi dari trombosit, di mana protrombin berubah menjadi trombin, fibrinogen menjadi fibrin, dan *clot* menjadi *fibrin clot*. Trombosit yang keluar dari pembuluh darah saling melengket dan bersama jala fibrin yang terbentuk

akan mengakibatkan pembekuan darah, sementara itu juga terjadi reaksi inflamasi. Aktivitas fibrinolitik terjadi pada fase awal penyembuhan luka (Djamaluddin, 2009).

2. Fase Inflamasi

Fase inflamasi berlangsung sejak terjadinya luka sampai kira-kira hari ke lima. Fase inflamasi ditandai dengan aktivitas seluler dengan menarik sel-sel yang akan memfagosit debris, bakteri, dan jaringan yang rusak, serta pelepasan faktor yang akan memulai proliferasi jaringan (Morison, 2004). Pada fase inflamasi juga terjadi vasodilatasi yang mengakibatkan peningkatan aliran darah sehingga semakin cepatnya sirkulasi darah. Tanda dan gejala klinis reaksi radang menjadi jelas yang berupa warna kemerahan kapiler melebar (rubor), rasa hangat (kalor), nyeri (dolor), dan pembengkakan (tumor) (Morison, 2004).

Aktivitas seluler yang terjadi adalah pergerakan leukosit menembus dinding pembuluh darah (diapedesis) menuju luka karena daya kemotaksis. Faktor kemotaksis akan menyebabkan sel radang seperti sel leukosit polimorfonuklear, makrofag, dan limfosit bergerak menuju luka. Netrofil, limfosit dan makrofag adalah sel yang pertama kali mencapai daerah luka. Fungsi utamanya adalah melawan infeksi dan membersihkan debris matriks seluler dan benda-benda asing.

Leukosit yang terdapat pada luka di dua hari pertama adalah neutrofil. Sel ini membuang jaringan mati dan bakteri dengan fagositosis. Netrofil juga mengeluarkan protease untuk mendegradasi matriks ekstraseluler yang tersisa.

Setelah melaksanakan fungsi fagositosis, neutrofil akan difagositosis oleh makrofag atau mati. Neutrofil memiliki peran dalam mencegah infeksi, keberadaan neutrofil yang persisten pada luka dapat menyebabkan luka sulit untuk mengalami proses penyembuhan. Hal ini bisa menyebabkan luka akut berprogresi menjadi luka kronis. Makrofag akan menggantikan peran polimorfonuklear sebagai sel dominan. Makrofag mensekresi proteinase untuk mendegradasi *matriks ekstraseluler* (ECM) dan penting untuk membuang material asing, merangsang pergerakan sel, dan mengatur pergantian ECM. Makrofag merupakan penghasil sitokin dan *growth factor* yang menstimulasi proliferasi fibroblast, produksi kolagen, pembentukan pembuluh darah baru, dan proses penyembuhan lainnya (Morison, 2004).

3. Fase proliferasi

Fase ini berlangsung dari akhir fase inflamasi sampai kira-kira akhir minggu ke-3. Pada fase ini terdapat tiga proses penting yaitu proses angiogenesis, re-epitelisasi dan proses fibroplasia. Angiogenesis merupakan pertumbuhan pembuluh darah baru yang terjadi secara alami di dalam tubuh, baik dalam kondisi sehat maupun patologis. Kata angiogenesis sendiri berasal dari kata *angio* yang berarti pembuluh darah dan *genesis* yang berarti pembentukan. Pada keadaan terjadi kerusakan jaringan, proses angiogenesis berperan dalam mempertahankan kelangsungan fungsi berbagai jaringan dan organ yang terkena. Terjadinya hal ini melalui terbentuknya pembuluh darah baru yang menggantikan pembuluh darah yang rusak (Harper, 2014).

Proses epitelisasi secara simultan yaitu sel-sel basal pada epitelium bergerak menuju daerah luka dan menutupi daerah luka (Hunt, 2003). Pada tepi luka, keratinosit akan berproliferasi setelah kontak dengan ECM dan kemudian bermigrasi dari membran basal ke permukaan yang baru terbentuk. Ketika bermigrasi, keratinosit akan menjadi pipih dan panjang dan juga membentuk tonjolan sitoplasma yang panjang. Pada ECM, mereka akan berikatan dengan kolagen tipe I dan bermigrasi menggunakan reseptor spesifik integrin. Kolagenase yang dikeluarkan keratinosit akan mendisosiasi sel dari matriks dermis dan membantu pergerakan dari matriks awal. Keratinosit juga mensintesis dan mensekresi *Matrixmetalloproteinase* (MMP) ketika bermigrasi (Falanga, 2006).

Pada proses fibroplasia dimulai dari fibroblast memasuki daerah luka 2 - 5 hari setelah fase inflamasi luka berakhir, dan jumlahnya mencapai puncak pada 1 - 2 minggu setelah terjadinya luka. Pada akhir minggu pertama, fibroblas adalah sel utama dalam luka. Fibroplasia berakhir 2 sampai 4 minggu setelah luka terjadi (Gurtner, 2007). Fibroblas berproliferasi dan bermigrasi, sehingga nantinya menjadi sel utama yang menjadi matrix kolagen di dalam area luka. Fibroblas dari jaringan normal bermigrasi ke dalam area luka. Awalnya fibroblas menggunakan benang fibrin pada fase inflamasi untuk bermigrasi, melekat ke fibronektin. Lalu fibroblas mengendapkan substansi dasar ke dalam area luka yang selanjutnya akan ditempati oleh kolagen. Fase proliferasi akan berakhir jika epitel dermis dan lapisan kolagen telah terbentuk, terlihat proses

kontraksi dan akan dipercepat oleh berbagai *growth factor* yang dibentuk oleh makrofag dan trombosit (Falanga, 2006).

4. Fase *Remodelling*

Pada fase *remodelling* ini terjadi proses pematangan terdiri atas penyerapan kembali jaringan yang berlebih dan proliferasi fibroblas membentuk matriks ekstraseluler. Fase ini dapat berlangsung berbulan-bulan dan dinyatakan berakhir ketika semua tanda radang sudah tidak ada. Tubuh berusaha menormalkan kembali semua yang menjadi abnormal karena proses penyembuhan. Edema dan sel radang diserap, sel muda menjadi matang, kapiler baru menutup dan diserap kembali, kolagen yang berlebih diserap dan sisanya mengerut sesuai dengan regangan yang ada (Djamaluddin, 2009). Selama proses ini dihasilkan jaringan parut yang pucat, tipis dan lemas, serta mudah digerakkan dari dasar, dan terlihat pengerutan maksimal pada luka. Pada akhir fase ini, perupaan luka kulit mampu menahan regangan kira-kira 80% kemampuan kulit normal, hal ini tercapai kira-kira 3–6 bulan setelah penyembuhan (Djamaluddin, 2009).

2.4 Luka Infeksi Nosokomial

Infeksi nosokomial adalah infeksi yang didapat penderita ketika penderita tersebut dirawat di rumah sakit, atau pernah dirawat di rumah sakit. Infeksi nosokomial merupakan infeksi yang terjadi dirumah sakit yang dapat terjadi secara lokal ataupun sistemik. Infeksi nosokomial dapat disebabkan oleh bakteri, virus, jamur atau parasit. Mikroorganisme ini dapat berasal dari dalam tubuh

penderita sendiri (sumber endogin) atau mungkin berasal dari sumber eksogin yaitu lingkungan dari perlengkapan rumah sakit yang tercemar, dari petugas rumah sakit maupun dari penderita lain yang sedang dirawat di rumah sakit tersebut (Soedarto, 2016). Infeksi ini dapat terjadi melalui penularan dari pasien kepada petugas, dari pasien ke pasien lain, dari pasien kepada pengunjung atau keluarga maupun dari petugas kepada pasien. Saat ini infeksi nosokomial di rumah sakit di seluruh dunia lebih dari 1,4 juta pasien rawat inap.

Menurut Montgomery (2014) angka kejadian infeksi nosokomial di rumah sakit manusia di Amerika sekitar 5-10% pasien. Faktor resiko di rumah sakit hewan sebanding dengan yang ada di rumah sakit manusia, adapun faktor risiko tersebut yaitu masa rawat inap yang panjang, kurangnya kebersihan, status imun penderita yang lemah ataupun terjadinya bakteri resisten antibiotik karena penggunaan antibiotik yang tidak tepat dan berlebihan (Milton, *et.al.*, 2015).

Kejadian infeksi nosokomial dapat terjadi karena kateterisasi kandung kemih ataupun saat pembedahan dan perawatan luka operasi. Tindakan pembedahan invasif dapat meningkatkan risiko mengalami infeksi karena bakteri dapat memasuki bagian tubuh yang steril. Infeksi pada luka bedah dapat terjadi ditempat luka bedah selama operasi berlangsung ataupun bersifat eksogen yang berasal dari luar daerah operasi, gejala kliniknya dapat berupa inflamasi dan keluar pus disekitar luka operasi. Menurut Hendarto (2017) penyebab infeksi nosokomial pada luka yang terinfeksi dapat menjadi *port d'entry* bagi bakteri yang bersifat *multi-drug resistant*, seperti *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), *Cl. difficile*, *E. coli*, dan *Salmonella spp.* sehingga sulit untuk

diobati. Infeksi nosokomial pada luka operasi ditandai dengan adanya pus, inflamasi, nyeri dan rasa panas (Peterson, 2004).

2.5 Tumor Necrotic Factor (TNF- α)

Tumor Necrotic Factor (TNF- α) adalah sitokin yang merupakan mediator pro-inflamasi yang diproduksi oleh makrofag yang berfungsi untuk merangsang sel inflamasi, fibroblas dan sel epitel. Semakin tinggi kadar TNF- α pada luka, menandakan proses inflamasi sedang berlangsung. Meskipun proses penyembuhan luka sama bagi setiap penderita, namun hasil yang dicapai tergantung pada kondisi biologis masing-masing individu (Kresno, 2010). Menurut Antoni (2011) bahwa TNF- α tertinggi didapatkan pada 4 hari sesudah terjadinya luka. Namun, sumber lain menyebutkan kadar tertinggi TNF- α adalah tiga hari setelah terjadinya luka, dan lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak terjadi luka.

TNF- α merupakan mediator utama pada respon inflamasi akut terhadap infeksi bakteri dan berperan dalam respon imun bawaan terhadap berbagai mikroorganisme penyebab infeksi yang lain, serta bertanggung jawab atas banyak komplikasi sistemik yang disebabkan infeksi berat. Pembentukannya terjadi sebagai respon terhadap rangsangan bakteri, virus dan kompleks imun (Werner, 2003).

2.6 Sel Radang

Sel radang merupakan sel yang mampu menghancurkan, mengurangi atau mengurung agen asing sebagai upaya proses penyembuhan luka. Sel radang terdiri dari sel leukosit yang berfungsi sebagai bentuk pertahanan diri terhadap infeksi. Leukosit terdiri dari sel polimorfonuklear (granulosit) dan sel mononuklear (agranulosit). Leukosit polimorfonuklear merupakan sel yang mengandung granula spesifik dalam sitoplasmanya dan mempunyai inti yang memperlihatkan banyak variasi dalam bentuknya. Leukosit polimorfonuklear terdiri dari neutrofil, eosinofil dan basofil (Effendi, 2003).

Neutrofil merupakan leukosit polimorfonuklear yang memiliki daya lekat dengan kompleks imun, dan kemampuan fagositosis. Neutrofil membentuk 60-70% komponen dari sel darah putih yang beredar. Diameter neutrofil 12-15 μm (pada sediaan apus darah), dengan inti yang terdiri atas 2-5 (biasanya 3) lobus yang dihubungkan oleh benang kromatin halus. Neutrofil merupakan sel berumur pendek dengan waktu paruh 6-7 jam dan memiliki waktu hidup selama 1-4 hari dalam jaringan ikat, tempat neutrofil mati melalui apoptosis. Neutrofil merupakan sel fagosit aktif terhadap bakteri dan partikel kecil lainnya. Neutrofil tidak aktif dan berbentuk bulat saat beredar dalam sirkulasi, tetapi saat sel ini melekat di substrat padat seperti kolagen dan matriks ekstrasel, sel ini menjadi aktif dan memperlihatkan gerakan ameboid (Junqueira, 2005).

Eosinofil memiliki diameter kira-kira 8 μm dengan inti sel biasanya berupa bilobus dengan tiga atau lebih lobus. Eosinofil ditandai oleh granula kristaloid besar yang dikenal sebagai granula spesifik atau sekunder, berwarna merah terang

setelah pewarnaan dengan zat pewarna asam seperti eosin pada mikroskop cahaya (Bacha, 2012). Eosinofil memiliki kemampuan melakukan fagositosis dan eliminasi bakteri dan mikroorganisme lainnya. Eosinofil memiliki jumlah yang lebih sedikit daripada neutrofil dan merupakan komponen leukosit sebesar 2-4% dalam darah normal (Effendi, 2003).

Basofil memiliki diameter 12-15 μm dengan inti yang sering terhalangi granula-granula spesifik di atasnya. Granula spesifik ini mengandung heparin dan histamin. Basofil membentuk kurang dari 1% leukosit darah, sehingga basofil sulit ditemukan dalam peredaran darah tepi normal. Basofil dalam jaringan menjadi "mast cells". Pada reaksi terhadap antigen tertentu, basofil dapat melepaskan isi granulanya, seperti halnya sel mast (Effendi, 2003).

Leukosit mononuklear terdiri dari limfosit dan monosit. Limfosit termasuk suatu famili sel yang berbentuk sferis dengan karakteristik morfologi yang sama. Limfosit berdiameter 6-8 μm dan disebut sebagai limfosit kecil. Nukleus limfosit gelap, berbentuk bundar atau agak berlekuk dengan kelompok kromatin kasar dan tidak berbatas tegas. Sitoplasma limfosit berwarna biru-langit dan dalam kebanyakan sel, terlihat seperti bingkai halus di sekitar inti (Junqueira, 2005). Menurut Young (2006) limfosit yang beredar berukuran lebih besar dengan diameter 12-16 μm dengan sitoplasma yang banyak yang mengandung sedikit granula azurophilik. Bentuk yang lebih besar ini dipengaruhi oleh antigen.

Monosit merupakan agranulosit dengan diameter bervariasi antara 12-20 μm . Intinya lonjong, berbentuk ginjal atau tapal kuda yang umumnya terketak eksentris. Kromatinnya tidak sepadat inti limfosit. Sitoplasmanya bersifat

basofilik dan sering mengandung granul azurofilik yang sangat halus. Monosit darah bukan sel terminal dapat dipandang bahwa monosit merupakan sel prekursor dari sistem fagosit mononuklear. Monosit ketika memasuki jaringan ikat akan berkembang menjadi makrofag (Young, 2006).

2.7 Virgin Coconut Oil (VCO) dengan Pengasaman Perasan Jeruk Nipis

Virgin Coconut Oil (VCO) merupakan minyak kelapa murni yang terbuat dari daging kelapa segar. Pengolahan daging kelapa murni dapat diolah dengan suhu rendah atau tanpa pemanasan, sehingga kandungan yang penting dalam minyak tetap dapat dipertahankan. Komponen utama dari VCO sekitar 92 persen adalah asam lemak jenuh, diantaranya asam laurat (48,74%), asam miristat (16,31%), asam kaprilat (10,91%), asam kaprat (8,10%) dan asam kaproat (1,25%). Kandungan paling besar dalam minyak ini adalah asam laurat. Kandungan asam Laurat pada VCO sangat kaya sekitar 50-70%. Asam ini termasuk dalam golongan asam lemak jenuh, dimana selama ini asam lemak jenuh dianggap sebagai sumber berbagai masalah kesehatan. Meskipun minyak nabati tidak mengandung kolesterol, namun konsumsi lemak jenuh yang berlebihan bisa merangsang hati untuk memproduksi kolesterol lebih banyak (Rindengan, 2005). Pada dalam tubuh manusia asam laurat akan diubah menjadi monolaurin yang bersifat antivirus, antibakteri dan antiprotozoa serta asam-asam lain seperti asam kaprilat, yang didalam tubuh manusia diubah menjadi *monocaprin* yang bermanfaat untuk penyakit yang disebabkan oleh virus (Widiyanti, 2015).

Senyawa itu berasal dari trigliserida yang terkandung dalam VCO. Namun, trigliserida baru aktif berubah menjadi monogliserida dan asam lemak bebas setelah berada dalam tubuh. *Virgin Coconut Oil* (VCO) bersifat sebagai bakteriostatik dengan mengganggu keseimbangan asam-basa, proton dan produksi energi di dalam sel bakteri sehingga bakteri menjadi mati dan sebagai antiinflamasi dengan cara menghambat sintesis mediator inflamasi seperti *histamine*, kinin dan prostaglandin. Terhambatnya *histamine* mampu menurunkan peningkatan permeabilitas vaskuler. Terhambatnya kinin juga memberikan pengaruh dalam menurunkan permeabilitas vaskuler, vasokonstriksi, dan menurunkan rasa nyeri. Terhambatnya prostaglandin menyebabkan vasokonstriksi vaskuler sehingga akan sulit dilalui oleh larutan protein yang berupa koloid. Penurunan permeabilitas tersebut menyebabkan penurunan jumlah cairan yang keluar dari pembuluh darah kapiler sehingga tidak terbentuk edema (Fauzi, 2012).

Kelapa mengandung minyak dan air yang memiliki polaritas yang berbeda, air merupakan senyawa polar dan minyak merupakan senyawa nonpolar. Suatu senyawa dengan polaritas yang berbeda tidak dapat saling melarutkan. Perlu adanya penstabil emulsi berupa protein kelapa, maka air dan minyak dapat membentuk emulsi yang stabil yaitu berupa santan kelapa. Santan dapat menghasilkan minyak, namun kestabilan emulsi dari santan harus dirusak atau mengganggu kestabilan dari santan. Adapun metode untuk merusak kestabilan tersebut antara lain menggunakan metode pemanasan, metode penggaraman, metode fermentasi ataupun metode pengasaman (Salsabila, 2016).

Metode pemanasan, yaitu metode pembuatan VCO dengan melakukan pemanasan terhadap santan kelapa. Pemanasan ini dilakukan untuk menghilangkan kandungan air yang terdapat dalam santan tersebut, namun yang didapatkan VCO akan berwarna kekuning-kuningan. Metode penggaraman, yaitu metode pembuatan VCO dengan menambahkan *calcium carbonat* sebagai *emulsifier* untuk emulsi air dalam minyak, sehingga dengan menambah garam kalsium ke dalam santan sistem emulsi menjadi rusak dan santan dapat menghasilkan minyak. Metode fermentasi, yaitu metode pembuatan VCO dengan memanfaatkan mikroorganisme sehingga mikroorganisme ini akan mengganggu kestabilan dari emulsi minyak dan air didalam santan. Metode pengasaman, yaitu metode pembuatan VCO dengan menambahkan senyawa asam ke dalam santan. Senyawa asam yang dapat digunakan yaitu dari jeruk nipis. Senyawa asam yang terdapat pada jeruk nipis yaitu asam sitrat yang dapat menurunkan pH krim santan. Asam sitrat dapat mempercepat proses pemisahan antara fase minyak dan fase air, yang mana asam sitrat ini akan mengakibatkan protein pada santan akan kehilangan sifatnya sebagai *emulsifier* sehingga terjadi pemisahan minyak dan airnya (Setiaji, 2006).

2.8 Mencit (*Mus musculus*)

Mencit merupakan hewan mamalia rodensia yang termasuk ke dalam famili *Muridae*. Adapun taksonomi mencit yaitu sebagai berikut.

Kingdom : Animali

Filum : Chordata

Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rotentia
Famili	: Muridae
Genus	: Mus
Spesies	: <i>Mus musculus</i>

Mencit (*Mus musculus*) merupakan salah satu *animal model* yang sering digunakan dalam penelitian yaitu sekitar 40-80%. Pertimbangan mencit sebagai *animal model* yaitu mencit memiliki keselarasan pertumbuhan dengan kondisi manusia (Akbar, 2010). Mencit (*Mus musculus*) memiliki tubuh kecil dengan rata-rata berat badan jantan yaitu 20 – 40 gram sedangkan betina yaitu 25-40 gram, dengan rambut warna putih tampak seperti **Gambar 2.4**.

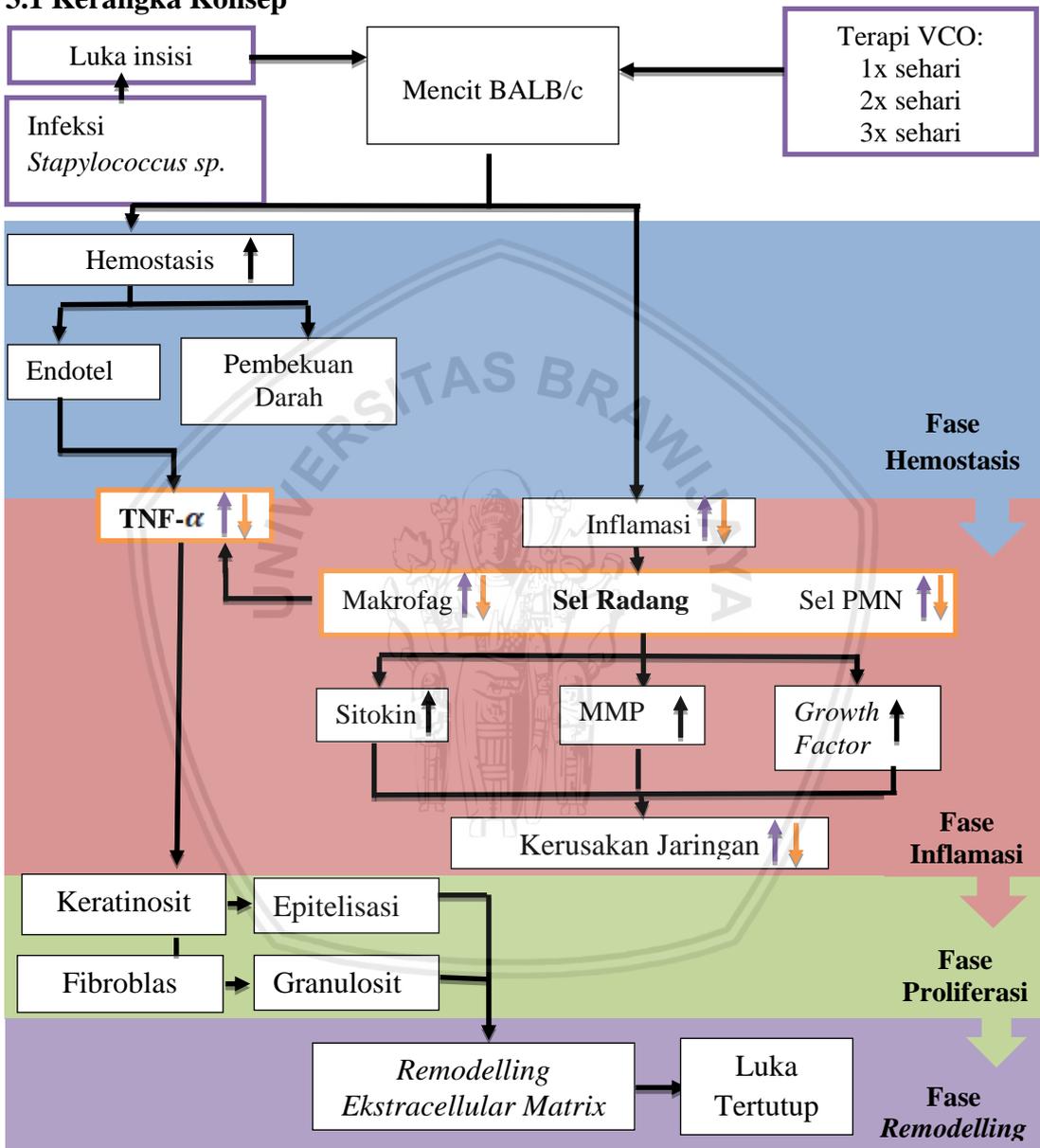


Gambar 2.4. Mencit (*Mus musculus L.*) (Akbar, 2010).

Pada penelitian Wibowo (2017) mengenai pengaruh minyak cengkeh pada proses penyembuhan luka insisi, bahwa pada mencit (*Mus musculus*) strain BALB/C jantan mengalami pemendekan luka insisi pada hari ke 7. Hal ini didukung dengan pendapat Dao (2010) bahwa mencit jantan memiliki ketebalan kulit 40% dibandingkan dengan mencit betina, sehingga penggunaan mencit jantan dapat mempercepat proses penyembuhan luka.

BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan:

- : Variabel Bebas
- : Variabel Terikat
- ↑↓ : Stimulus
- ↑↓ (purple) : Efek luka insisi nosokomial
- ↑↓ (orange) : Efek terapi VCO

Proses terjadinya luka akan mengakibatkan kerusakan jaringan sekitarnya. Luka dapat terinfeksi bakteri yang berasal dari lingkungan sekitar, salah satunya yaitu *Stapylococcus sp.* Luka yang terinfeksi *Stapylococcus sp.* akan mempengaruhi terjadinya proses penyembuhan luka, sehingga perlu dilakukannya terapi VCO sebagai upaya mempercepat proses penyembuhan luka tersebut.

Proses penyembuhan luka merupakan suatu proses pembentukan jaringan yang rusak sehingga kembali seperti semula. Pada prosesnya penyembuhan luka dimulai melalui beberapa tahap yaitu fase hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi dan fase *remodelling*. Fase hemostasis berlangsung sangat singkat yaitu selama 5- 10 menit. Pada fase ini terjadi vasokonstriksi pembuluh darah dan pembekuan darah di mana protrombin berubah menjadi trombin, fibrinogen menjadi fibrin, dan *clot* menjadi *fibrin clot* yang membentuk *fibrin plug*. Pada fase ini endotel dan jaringan yang rusak akan menghasilkan mediator pro-inflamasi, salah satunya adalah $TNF-\alpha$.

Pada fase inflamasi ditandai dengan terjadinya aktivitas seluler yang terjadi adalah pergerakan leukosit menembus dinding pembuluh darah (diapedesis) menuju luka karena daya kemotaksis. Faktor kemotaksis akan menyebabkan sel radang seperti sel leukosit polimorfonuklear, makrofag, dan limfosit bergerak menuju luka. Kemotaksis sendiri adalah migrasi dari sel- sel menuju suatu senyawa penarik atau *attractant*. Sel radang akan melakukan pertahanan terhadap agen infeksius seperti bakteri yang mengontaminasi luka. Sel radang akan menghasilkan MMP, sitokin, dan *growth factor*.

Pada fase inilah *Virgin Coconut Oil* (VCO) yang bersifat sebagai bakteriostatik dengan mengganggu keseimbangan asam-basa, proton dan produksi energi di dalam sel bakteri sehingga bakteri menjadi mati dan sebagai antiinflamasi dengan cara menghambat sintesis mediator inflamasi seperti histamin, kinin dan prostaglandin. Terhambatnya histamin mampu menurunkan permeabilitas vaskuler. Terhambatnya kinin juga memberikan pengaruh dalam menurunkan permeabilitas vaskuler, vasokonstriksi, dan penurunan rasa nyeri. Terhambatnya prostaglandin menyebabkan vasokonstriksi vaskuler sehingga akan sulit dilalui oleh larutan protein yang berupa koloid. Penurunan permeabilitas tersebut menyebabkan penurunan jumlah cairan yang keluar dari pembuluh darah kapiler sehingga tidak terbentuk edema. Apabila respon inflamasi selesai, maka ekspresi TNF- α dan jumlah sel radang akan menurun.

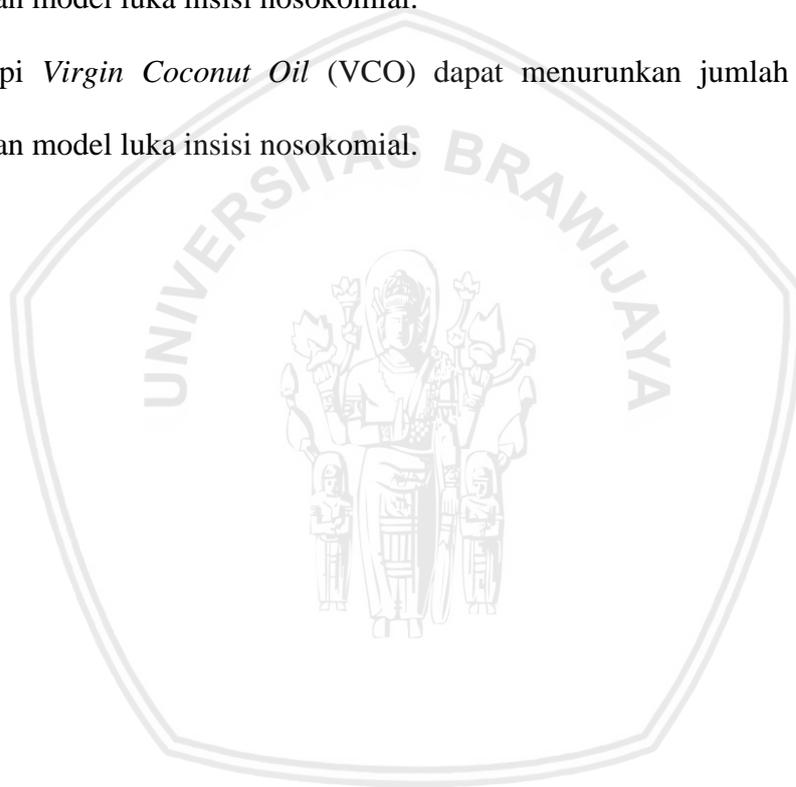
Pada fase proliferasi terjadi proses angiogenesis, re-epitelisasi dan fibroplasia. Pada keadaan terjadi kerusakan jaringan, proses angiogenesis berperan dalam mempertahankan kelangsungan fungsi berbagai jaringan dan organ. Tepi luka akan melakukan re-epitelisasi yaitu dengan keratinosit yang berproliferasi menjadi epitel baru, sedangkan proses fibroplasia dimulai dari fibroblas memasuki daerah luka pada hari ke dua hingga lima serta fibroblas akan menjadi granulosit dan bermigrasi menjadi sel utama yang menjadi matrix kolagen didalam area luka.

Pada tahapan terakhir proses penyembuhan luka yaitu fase *remodelling* terjadi proses pematangan terdiri atas penyerapan kembali jaringan yang berlebih dan proliferasi fibroblas membentuk matriks ekstraseluler. Fase *remodelling* fibroblas akan berpoliferasi membentuk matriks ekstraseluller sehingga luka akan

tertutup. Selama proses ini dihasilkan jaringan parut yang pucat, tipis dan lemas, serta mudah digerakkan dari dasar, dan terlihat pengerutan maksimal pada luka.

3.2 Hipotesis Penelitian

1. Terapi *Virgin Coconut Oil* (VCO) dapat menurunkan kadar TNF- α pada hewan model luka insisi nosokomial.
2. Terapi *Virgin Coconut Oil* (VCO) dapat menurunkan jumlah sel radang hewan model luka insisi nosokomial.



BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2018 dan dilakukan di beberapa laboratorium yaitu :

1. Pemeliharaan hewan coba dan pemberian perlakuan hewan coba di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
2. Pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* 10^5 CFU/ml dan pembacaan hasil histopatologi kulit di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
3. Pembuatan *Virgin Coconut Oil* (VCO) dengan pengasaman perasan jeruk nipis di Laboratorium Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Uji *flowcytometry* untuk pengamatan kadar TNF- α yang dilakukan di Laboratorium Biomolekuler FMIPA Universitas Brawijaya, Malang.
5. Pembuatan preparat histopatologi kulit dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu kandang mencit, *dissecting set*, *beaker glass*, kertas saring, wadah plastik, blender, perkandangan mencit, tempat makan dan minum mencit, mikroskop, *gloove*, masker, cawan petri,

bunsen, autoklaf, pipet, spuit, tabung reaksi, ose, serta alat untuk uji flowcytometry seperti *yellow tip*, *blue tip*, *mortir*, *sentrifuge tube*, *flowcytometer* dan *software BD Cell Quest ProTM*.

Bahan yang dipersiapkan dalam penelitian ini antara lain mencit (*Mus musculus*) BALB/c jantan dengan berat 30 g berumur 8 minggu, benang silk 4/0, jarum tapper ½ GT 35 mm, kelapa, jeruk nipis, alkohol 70 %, *ketamine HCl*, *xylazine*, media MSA, media NA, media NB, media MHA, *aquades pro inj.*, formalin 10%, antibodi anti TNF- α , *cytofix*, *cytoform*, pewarnaan *Hematoxyline-Eosin* (HE), NaCl fisiologis 0,9%, dan *xylol*.

4.3 Tahapan Penelitian

4.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan *post control only*. Penelitian terdiri dari lima kelompok yaitu:

1. Kelompok kontrol negatif : mencit yang diinsisi dan dijahit dengan benang silk secara aseptis.
2. Kelompok kontrol positif : mencit yang diinsisi dan dijahit dengan benang terkontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* tanpa terapi VCO.
3. Kelompok P1: mencit yang diinsisi dan dijahit dengan benang terkontaminasi bakteri *S. aureus* serta dilakukan terapi VCO frekuensi 1 kali dalam sehari
4. Kelompok P2: mencit yang diinsisi dan dijahit dengan benang terkontaminasi bakteri *S. aureus* serta dilakukan terapi VCO frekuensi 2 kali dalam sehari

5. Kelompok P3: mencit yang diinsisi dan dijahit dengan benang terkontaminasi bakteri *S. aureus* serta dilakukan terapi VCO frekuensi 3 kali dalam sehari

4.3.2 Penetapan Sampel Penelitian

Kriteria hewan model yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit (*Mus Musculus*) BABL/c jantan berat 30 g berumur 8 minggu. Jumlah sampel yang ditentukan berdasarkan perhitungan berikut $t (n-1) \geq 15$ (Montgomery and Kowalsky, 2011) :

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

Keterangan:

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

t = Jumlah perlakuan

$$5n - 5 \geq 15$$

n = Jumlah ulangan yang diperlukan

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan di atas maka untuk lima kelompok perlakuan diperlukan jumlah ulangan minimal empat kali dalam setiap kelompok perlakuan sehingga dibutuhkan 20 ekor mencit.

4.3.3 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini adalah :

- Variabel bebas : frekuensi pemberian terapi *Virgin Coconut Oil* (VCO) dan bakteri *S. aureus* 10^5 CFU/ml.
- Variabel terikat : Jumlah sel radang dan kadar TNF- α
- Variabel kontrol: homogenitas mencit meliputi jenis kelamin, berat badan, umur, pakan, dan kandang serta perlakuan luka model nosokomial.

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Persiapan Hewan Coba

Sampel penelitian menggunakan mencit sebagai hewan percobaan. Mencit yang digunakan dalam penelitian ini adalah spesies *Mus musculus* galur BALB/c jantan dengan berat 30 g yang berumur 8 minggu. Mencit diadaptasi selama tujuh hari sebelum digunakan untuk penelitian. Hewan coba diberi minum secara *ad libitum* dan pakan berbentuk pelet sebanyak 10% berat badan setiap pagi dan sore. Pakan diberikan sebanyak 3 g per hari. Setiap kelompok terdiri dari empat ekor mencit dalam satu kandang (Hendarto, 2017). Kandang mencit berbahan plastik dengan tutup kawat dan diberi alas berupa sekam kayu agar kandang tidak lembab. Hewan coba mencit dipelihara di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.

4.4.2 Pembuatan VCO Menggunakan Pengasaman Perasan Jeruk Nipis

Pembuatan VCO diawali dengan persiapan alat dan bahan. Bahan baku pembuatan VCO menggunakan kelapa tua yang diperoleh dari Pasar Blimbing, Malang. Proses pembuatan VCO dapat dijelaskan sebagai berikut (Setiaji, 2006):

- a. Kelapa tua dikupas dengan cara memisahkan antara daging buah dengan kulit sabut dan tempurungnya, lalu airnya dibuang. Kelapa yang sudah dikupas ditempatkan di dalam satu wadah dan siap untuk diparut.
- b. Parutan kelapa dicampur dengan air bersih kemudian diperas. Hasil perasan kelapa ditampung dalam toples plastik. Proses pemerasan dilakukan dua kali. Ampas hasil perasan pertama dicampur lagi dengan air bersih, lalu diperas, disaring dan hasil perasan (santan) ditampung. Proses pemerasan ini sangat

penting dan harus segera dilakukan, karena jika hasil parutan kelapa terlalu lama didiamkan rasanya akan asam dan tidak bisa menghasilkan VCO.

- c. Santan didiamkan sekitar 2 jam, sehingga terdapat 2 lapisan lapisan atas adalah kanil (krim) dan bagian bawah adalah air (skim). Setelah air terbang, proses selanjutnya kanil (krim) dapat diolah dengan metode pengasaman dengan menambahkan perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 1% (Qasimah, 2017). Proses pendiaman dilakukan selama 10 jam. Selanjutnya akan terbentuk tiga lapisan yaitu lapisan pertama berada paling bawah adalah air, lapisan kedua berada ditengah adalah blondo dan lapisan ketiga yang paling atas minyak.
- d. Minyak yang berada di lapisan atas adalah VCO. Cara mengambil minyak dengan menggunakan sendok dan ditampung dalam wadah yang telah disiapkan.
- e. Selanjutnya untuk menghindari masuknya bakteri dan membuang kadar air, maka dilakukan penyaringan. Kadar air VCO ini mencapai 0,015% setelah dilakukan pengujian kadar air dan tidak berbau tengik.

4.4.3 Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan meremajakan kultur murni *S. aureus* ke *Nutrient Agar* (NA) *Slant* selama tiga hari berturut-turut. Inokulasi 1 ose bakteri ke 2 ml *Nutrient Broth* (NB) yang diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, selanjutnya kultur cair *S. aureus* dalam NB steril disetarakan dengan larutan standar 1 Mc. Farland I (populasi $\pm 3 \times 10^8$ CFU/ml). Pengenceran berseri dilakukan dengan cara biakan bakteri diencerkan dengan NB steril hingga

konsentrasinya menjadi 10^5 CFU/ml (Sujono, 2010). Bakteri *S. aureus* dalam penelitian ini diuji patogenitas *S. aureus* dengan metode fermentasi manitol yaitu penanaman bakteri di media MSA (*Manitol Salt Agar*) yang nantinya jika bakteri patogen akan mengubah media yang berwarna merah menjadi kuning, hal ini dikarenakan bakteri mampu memfermentasi manitol menjadi asam (Sari, 2015).

4.4.4 Identifikasi dan Uji Sensitifitas terhadap *Staphylococcus Aureus*

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini diuji sensitifitas terhadap antibiotik dengan metode difusi cakram kertas. Pada uji ini beberapa jenis antibiotik pada cakram kertas diletakkan di permukaan medium MHA (*Mueller-Hinton Agar*) yang telah diolesi *S. aureus*. Kemudian dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati zona hambatnya (Sari, 2015). Hasil dari uji sensitifitas ini akan terlihat apakah bakteri sensitif atau resisten terhadap beberapa golongan antibiotik dilihat dari diameter zona hambat bakteri yang diukur dan dicocokkan dengan tabel standar NCCLS (*National Committee For Clinical Laboratory Standart*). Antibiotik yang digunakan antara lain *penicilline*, *ampicilline*, *gentamycine*, *levofloxacine*, *tetracycline*, dan *ciprofloxacine*. Menurut Afifurrahman (2014) uji resistensi untuk *S. aureus* dapat menggunakan antibiotik golongan β -laktam, termasuk golongan *penicillinase-resistant penicillins* (oxacillin, methicillin, nafcillin, cloxacillin, dicloxacillin), cephalosporin dan carbapenem. Selain itu, resistensi silang juga terjadi pada antibiotik non- β -laktam seperti eritromisin, klindamisin, gentamisin, kotrimoksazol, dan siprofloksasin.

4.4.5 Pembuatan Benang Terkontaminasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Pembuatan benang yang terkontaminasi *S. aureus* dilakukan dengan menggunakan benang *silk* steril yang dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 8 ml pengenceran suspensi *S. aureus*, kemudian dilakukan pencampuran menggunakan *mixer vortex* selama 10 detik, dan direndam dalam suspensi selama 30 menit. Pada proses ini, sekitar 10^5 bakteri terabsorpsi pada setiap segmen benang. Tahap selanjutnya segmen dikeluarkan dari tabung dan dikeringkan dalam cawan petri lain yang steril sehingga benang tidak terkontaminasi oleh bakteri lainnya (Dai, 2011).

4.4.6 Pembuatan Luka Model Insisi Nosokomial pada Mencit

Hewan coba telah memperoleh persetujuan layak etik dari Komisi Layak Etik Penelitian Universitas Brawijaya. Masing-masing mencit ditandai menggunakan spidol pada bagian ekor sesuai kelompok perlakuan, selanjutnya mencit dianastesi menggunakan kombinasi *ketamine* HCl (dosis 100 mg/kgBB) dan *Xylazine* (dosis 5 mg/kgBB) (Hendarto, 2017).

Xylazine 20 mg/ml sebanyak 0,5 ml diencerkan dengan cara dicampur dengan 19,5 ml aqua pro injeksi. Hal ini bertujuan agar mudah untuk lakukan injeksi pada mencit. Selanjutnya, *Ketamine* HCl 100 mg/ml sebanyak 2 ml dicampur dengan 18 ml aqua pro injeksi. Penyuntikkan secara intraperitonium dengan volume 0.1 ml/10 gBB (Plumb, 2008).

Punggung mencit yang akan diinsisi dibersihkan dengan sabun dan dilakukan pencukuran. Tahap selanjutnya punggung dibersihkan dengan alkohol 70%. Insisi *longitudinal midline* pada punggung mencit yang sudah dibersihkan

tadi sepanjang 2,5 cm sampai *panniculus carnosus* kurang lebih 2-3 mm menggunakan jangka sorong. Titik orientasi insisi adalah *vertebrae thoracalis* XIII sampai *vertebrae lumbalis* III, lokasi insisi berada diatas *musculus Longissimus dorsi*. Luka dijahit dengan benang silk 4/0 yang telah terkontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* (10^5 CFU/ml). Penjahitan dilakukan dengan jarum *tapper* 1/2 GT 35 mm pola *simple continuous suture* dengan benang 5 cm pada *panniculus cornosus* (Hendarto, 2017).

4.4.7 Terapi Virgin Coconut Oil (VCO)

Frekuensi terapi VCO satu kali sehari, dua kali sehari dan tiga kali sehari secara topikal dengan volume 1 tetes (50 μ l) pada area luka. Waktu pemberian VCO dilakukan berdasarkan pembagian jumlah frekuensi 24 jam. Pengamatan dilakukan secara makroskopis setiap hari dengan pengamati proses penyembuhan luka selama tujuh hari.

4.4.8 Pengambilan Jaringan Kulit

Pengambilan jaringan kulit pada hewan coba dilakukan pada hari ke-8 dengan cara dieutanasi menggunakan teknik dislokasi leher. Mencit diposisikan *ventral recumbency*, pada bagian kulit punggung yang akan diambil jaringan kulitnya dilakukan pencukuran. Kulit diambil pada ketebalan ± 3 mm sampai dengan subkutan dengan luas 2×2 cm^2 . Menurut Febram (2010), kulit yang diperoleh kemudian dipotong menjadi dua bagian, kulit untuk preparat histopatologi dimasukkan dalam pot yang difiksasi dengan *Buffer Neural Formalin* (BNF) 10% dan dibiarkan pada suhu kamar selama 48 jam. Sampel kulit untuk pemeriksaan TNF- α dengan *flowcytometer* dimasukkan dalam pot

dengan media PBS dan pemeriksaan dilakukan dalam waktu kurang dari 24 jam dari pengambilan sampel.

4.4.9 Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit

Jaringan kulit yang telah difiksasi menggunakan larutan BNF 10% lalu dilakukan *trimming* jaringan dan dimasukkan ke dalam *cassette tissue* dari plastik. Tahap selanjutnya dilakukan proses dehidrasi alkohol menggunakan konsentrasi alkohol yang bertingkat yaitu alkohol 70%, 80%, 90%, alkohol absolut I, alkohol absolut II masing-masing selama 2 jam, kemudian dilakukan penjernihan menggunakan *xylol* I dan *xylol* II masing-masing selama 2 jam. Proses pencetakan atau parafinisasi dilakukan menggunakan parafin I dan parafin II. Sediaan dimasukkan ke dalam alat pencetak yang berisi parafin setengah volume dan potongan melintang sediaan melekat pada dasar parafin. Setelah mulai membeku, parafin ditambahkan kembali hingga alat pencetak penuh dan dibiarkan sampai parafin mengeras (Febram, 2010). Adapun penjelasan berupa diagram alir pembuatan histopatologi kulit pada **Lampiran 2**.

Blok-blok parafin kemudian dipotong tipis setebal 5 mikrometer dengan menggunakan mikrotom. Hasil potongan yang berbentuk pita (*ribbon*) tersebut dibentangkan di atas air hangat yang bersuhu 46°C dan langsung diangkat yang bertujuan untuk meregangkan potongan agar tidak berlipat atau menghilangkan lipatan akibat dari pemotongan. Sediaan diangkat dan diletakkan di atas gelas objek dan dikeringkan semalaman dalam inkubator bersuhu 60°C sehingga dapat dilakukan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE) (**Lampiran 3**) untuk melihat sel radang (Febram, 2010).

4.4.10 Pengukuran Kadar TNF- α menggunakan *Flowcytometry*

Sampel kulit diambil dengan margin 1 cm dari tepi atas, bawah, kiri, dan kanan dari garis insisi. Sampel yang telah diambil dibilas dengan PBS sebanyak dua kali, diletakan dalam cawan petri yang berisi 5 ml PBS, digerus menggunakan mortir dan dihomogenisasi serta disuspensi menggunakan PBS. Sel-sel yang diperoleh dari hasil isolasi difilter dengan menggunakan *wire* (**Lampiran 4**). Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm, pada suhu 20°C selama 5 menit. Hasil supernatan dibuang dan pelletnya di fiksasi dengan 100 μ L *cytofix/cytoferm* 10x dan diinkubasi kembali selama 20 menit. *Cytofix/cytoferm* berfungsi untuk fiksasi dan permeabilitas sel yang diperlukan untuk pewarnaan sitokin intraselular dengan antibodi anti-sitokin yang telah terkonjugasi. Setelah itu dicuci dengan 1 ml *wash buffer* 10x. Supernatan dibuang dan ditambahkan 50-100 μ L kemudian ditambahkan *antibody intracellular staining* TNF yang belum diencerkan sebanyak 1 μ l yang dikonjugasi dengan label PE dan dinkubasi 15 menit sebelum di baca di *flowcytometry*. Kemudian data hasil dari *flowcytometry* dianalisis dengan menggunakan *software BD cellquest ProTM*®. Program diatur sesuai dengan pewarnaan dan jenis sel yang diidentifikasi. *Gated* dilakukan berdasarkan pola ekspresi sel yang terlihat dalam layar komputer.

4.5 Analisis Data

Sampel untuk mengetahui jumlah sel radang dilakukan pewarnaan *Hematoxyline-Eosin* yang kemudian dilakukan perhitungan jumlah sel radang dari lima lapang pandang tiap sampel. Perhitungan sel radang ini menggunakan *software Image Raster*®. Sampel untuk mengetahui kadar *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α) diukur menggunakan *flowcytometer* secara kuantitatif yang dianalisis dengan *software BD cellquest Pro*™.

Hasil yang diperoleh pada penelitian ini kemudian dianalisa secara statistik menggunakan *software IBM SPSS Statistics 19*®. Uji yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan uji *one way ANOVA* yang bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan tiap kelompok. Uji homogenitas dan normalitas dilakukan sebelum dilakukan uji *one way ANOVA*, hal ini bertujuan untuk memenuhi syarat dilakukannya uji *one way ANOVA*. Kemudian dilanjutkan uji BNJ (Beda Nyata Jujur) dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha= 0,05$) untuk mengetahui hasil perbedaan notasi yang signifikan.

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

Luka merupakan kerusakan kontinuitas jaringan atau kulit atau organ tubuh lainnya. Salah satu jenis luka yaitu luka insisi yang dilakukan sebagai tindakan pembedahan dan rentan terjadinya infeksi. Infeksi pada luka insisi dapat terjadi ditempat luka insisi selama pembedahan berlangsung ataupun bersifat eksogen yang berasal dari luar daerah pembedahan. Infeksi pada luka insisi yang didapat dari rumah sakit biasa disebut infeksi nosokomial. Menurut Nasution (2012) angka kejadian luka infeksi nosokomial paling tinggi disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*.

Pada penelitian ini dilakukan uji kemurnian *S. aureus* bertujuan untuk membedakan *S. aureus* dengan staphylococcus lainnya. Metode ini dilakukan dengan cara penanaman bakteri di media MSA (*Manitol Salt Agar*) dan diamati perubahan warna pada media. Menurut Murwani (2015) media MSA mengandung garam sodium klorida tinggi (7,5%) yang merupakan medium selektif *Staphylococcus sp.* *S. aureus* dapat memfermentasi manitol yang terdapat pada media sehingga koloni menjadi kuning, sedangkan staphylococcus lainnya tidak dapat memfermentasi manitol. Hasil uji ini tampak pada **Lampiran 6**.

S. aureus yang diperlukan pada penelitian ini yaitu bakteri *Multidrug Resistant* (MDR) dan untuk mengetahuinya perlu dilakukan uji sensitifitas bakteri terhadap antibiotik dengan metode difusi cakram kertas. Metode ini bertujuan untuk menentukan kepekaan bakteri penyebab penyakit terhadap antibiotik dengan menggunakan media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Pada uji ini

permukaan media MHA (*Mueller Hinton Agar*) diolesi *S. aureus* dan beberapa jenis antibiotik cakram kertas diletakkan pada permukaan media. Menurut Afifurrahman (2014) uji resisten untuk *S. aureus* dapat menggunakan antibiotik golongan β -laktam, cephalosporin dan carbepenem. Antibiotik yang digunakan pada uji sensitifitas antibiotik pada penelitian ini menggunakan *levofloxacin*, *penicillin*, *gentamicin*, *cefadroxil* dan *tetracyclin*. Setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C diamati zona hambatnya. Hasil dari uji sensitifitas ini akan terlihat apakah bakteri sensitif atau resisten terhadap beberapa golongan antibiotik dilihat dari zona hambat bakteri yang diukur dan dicocokkan dengan tabel standar NCCLS (*National Committe for Clinical Laboratory Standart*). Hasil pada uji ini menunjukkan bahwa *S. aureus* yang digunakan pada penelitian ini termasuk bakteri *Multidrug Resistant* (MDR) yang terlihat pada **Lampiran 7**.

Pembuatan hewan model luka insisi nosokomial menggunakan mencit (*Mus Musculus*). Luka insisi dilakukan pada punggung mencit dengan panjang 2,5 cm dan penjahitan dilakukan dengan benang silk yang terkontaminasi *S. aureus*, kecuali pada kontrol negatif. Benang silk terbuat dari pintalan filamen protein alami dari ulat sutra. Benang silk mudah dipakai dan disimpul serta relatif murah. Jahitan pada daerah kulit harus segera dibuka setelah 7 hingga 10 hari untuk meminimalisir terjadinya inflamasi yang berkepanjangan akibat respon tubuh yang menginterpretasikannya sebagai benda asing.

Sebelum perlakuan mencit dianestesi menggunakan kombinasi ketamin-xilazin dengan volume 0,1 ml/10 gBB secara intraperitoneal. Pasca insisi tiap kelompok dilakukan terapi yang berbeda yaitu pada kelompok kontrol negatif

terapi menggunakan antibiotik, kelompok kontrol positif tidak diberikan terapi apapun, kelompok P1 menggunakan terapi VCO satu kali sehari, kelompok P2 menggunakan terapi VCO dua kali sehari dan kelompok P3 menggunakan terapi VCO tiga kali sehari.

Perbandingan proses penyembuhan luka inilah yang akan diamati baik secara makroskopis luka maupun mikroskopisnya. Secara mikroskopis yang diamati yaitu jumlah sel radang yang tampak pada preparat melalui pewarnaan HE dan kadar TNF- α yang diukur menggunakan *flow cytometry*.

5.1 Pengamatan Makroskopis Efek Terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) pada Hewan Model Luka Insisi Nosokomial

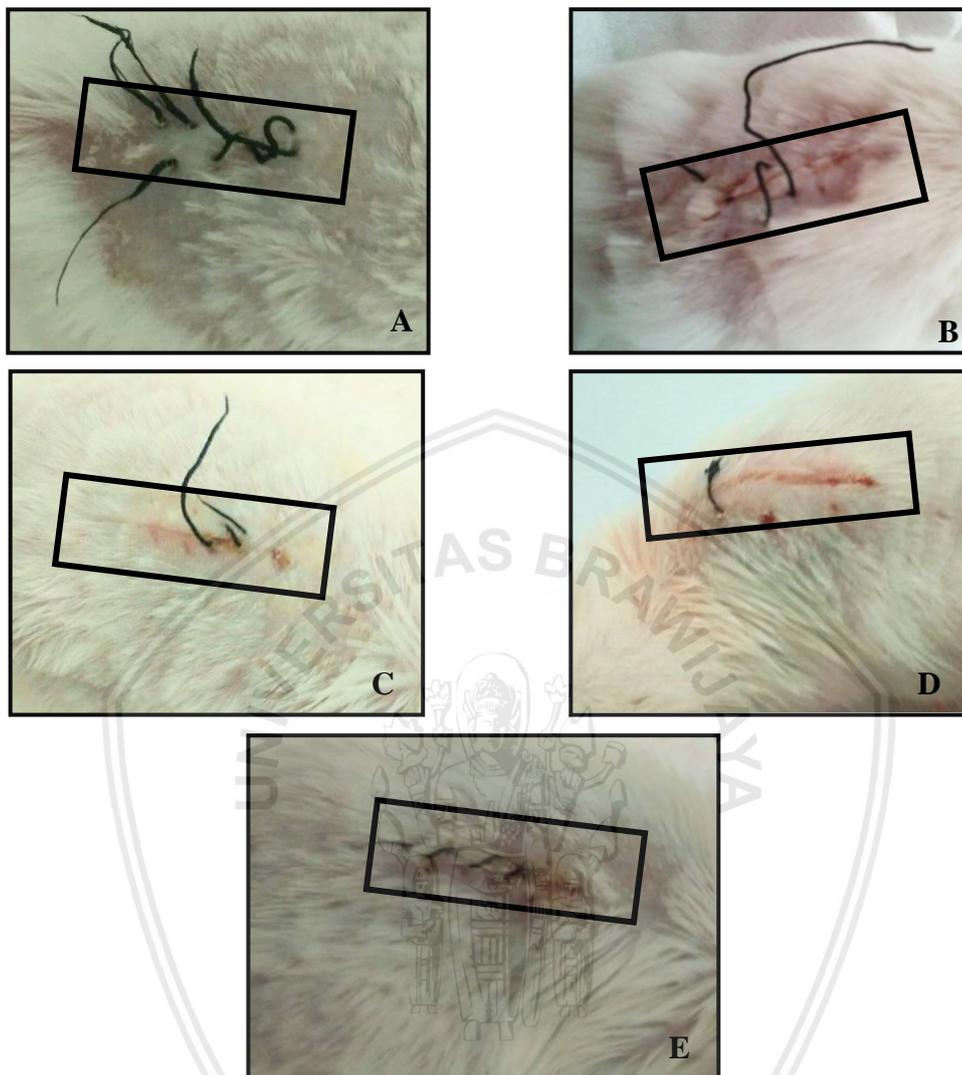
Kontaminasi *Staphylococcus aureus* pada luka akan menjadi infeksi nosokomial dan dapat menjadi *port d'entry* bagi bakteri yang bersifat *multidrug resistant*. *S. aureus* termasuk bakteri yang bersifat *multidrug resistant* karena bakteri ini resisten terhadap beberapa jenis antibiotik atau biasanya disebut dengan MRSA (*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*). Menurut Peterson (2004) infeksi nosokomial pada luka ditandai dengan adanya pus, inflamasi, nyeri, dan rubor.

Gambaran penyembuhan luka secara makroskopis dari terapi VCO terhadap hewan model luka insisi nosokomial mencit (*Mus Musculus*) dapat dilihat pada **Gambar 5.1**. Luka kelompok kontrol negatif tergolong dalam *clean wound* atau luka bersih. Hal ini dikarenakan luka insisi tidak terkontaminasi (Chard, 2008). Pada kelompok kontrol negatif menunjukkan hasil tepi insisi yang telah menyatu

dan tidak mengalami inflamasi pada hari kedelapan pasca operasi serta sekitar sudah mulai ditumbuhi rambut yang tampak pada **Gambar 5.1 A**. Luka sudah memasuki fase proliferasi.

Kelompok kontrol positif termasuk luka infeksi nosokomial dan tergolong *infected wound* atau luka terinfeksi karena luka diinfeksi *S. aureus* dan tidak diberikan perlakuan sehingga pada hari kedelapan masih tampak inflamasi pada luka. Luka yang tampak pada **Gambar 5.1B** menunjukkan luka insisi yang sudah menutup namun masih mengalami inflamasi yang ditandai warna kemerahan pada area sekitar luka. Menurut Williams (2009) fase inflamasi pada kondisi normal terjadi maksimal sampai dengan 6 hari pasca operasi, sedangkan pada kelompok kontrol positif mengalami fase inflamasi yang lebih panjang.

Kelompok P1, P2 dan P3 tergolong dalam *contaminated wound* karena terkontaminasi *S. aureus*. Pada kelompok P1, P2, dan P3 yang dilakukan terapi VCO sebanyak P1 (satu kali sehari), P2 (dua kali sehari) dan P3 (tiga kali sehari), luka tampak mengalami kesembuhan. Luka terlihat sudah menutup dan mengering serta sudah tampak adanya pertumbuhan rambut di sekitar luka yang menunjukkan telah terjadinya proses regenerasi dan kondisi kulit sudah mulai kembali normal. Luka pada kelompok P1, P2 dan P3 telah memasuki fase proliferasi yang tampak pada **Gambar 5.1C, D dan E**. Secara makroskopis fase proliferasi ditandai dengan adanya jaringan granulasi yang kaya akan jaringan pembuluh darah baru, fibroblas, dan makrofag (Primadina, 2019). Menurut Lostapa (2016) rubor, tumor dan adanya keropeng atau krusta pada luka menandakan sedang berlangsung fase proliferasi.



Gambar 5.1 Gambaran makroskopis kesembuhan luka pada hari ke delapan pasca operasi. Area luka insisi tampak di dalam kotak hitam (dokumentasi pribadi, 2018)

Keterangan:

- (A) Kontrol negatif: luka telah menutup dan tidak terdapat inflamasi
- (B) Kontrol positif: luka belum menutup dan terdapat inflamasi
- (C) Terapi VCO satu kali sehari: luka telah menutup dan tidak terdapat inflamasi
- (D) Terapi VCO dua kali sehari: luka telah menutup dan tidak terdapat inflamasi
- (E) Terapi VCO tiga kali sehari: luka telah menutup dan tidak terdapat inflamasi

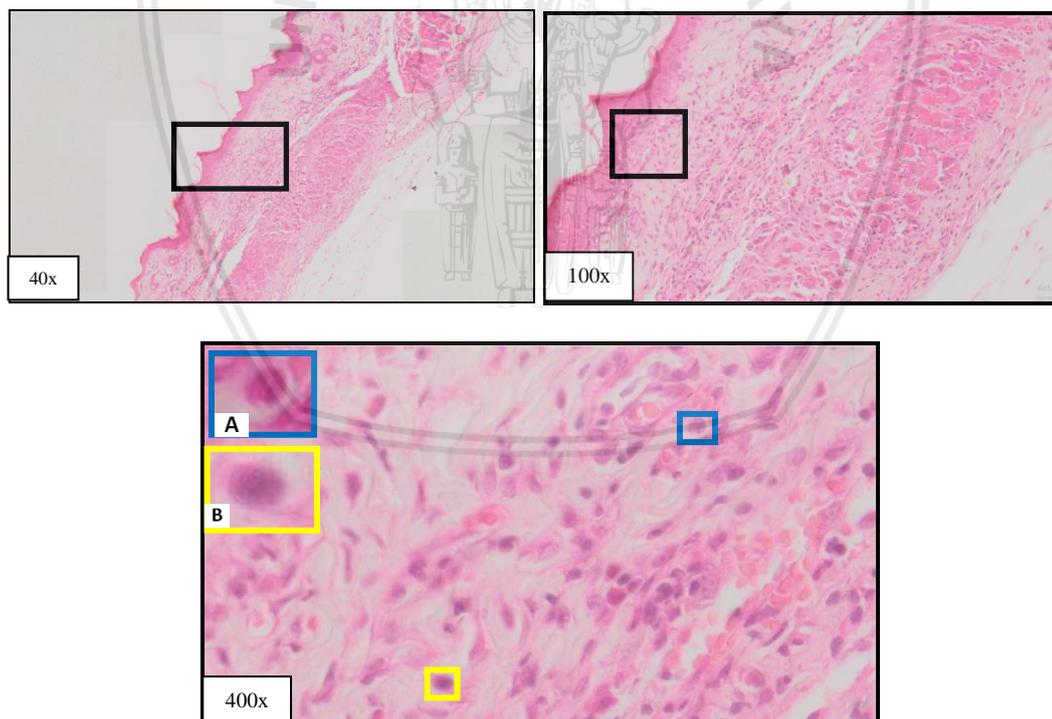
5.2 Efek Terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) Terhadap Jumlah Sel Radang pada Jaringan Kulit Hewan Model Luka Insisi Nosokomial

Berdasarkan histopatologi pengamatan parameter jumlah sel radang dilakukan untuk mengetahui gambaran inflamasi pada luka, yaitu dengan menghitung jumlah sel radang pada masing-masing sampel. Pengamatan parameter jumlah sel radang ini menggunakan *software Image Raster®* dengan perbesaran 400x. Perhitungan jumlah sel radang dilakukan dengan menghitung rata-rata jumlah sel radang dari lima lapang pandang tiap sampel yang diamati pada perbesaran 40x, 100x, dan 400x yang ditunjukkan pada **Gambar 5.2** sampai dengan **Gambar 5.6**.

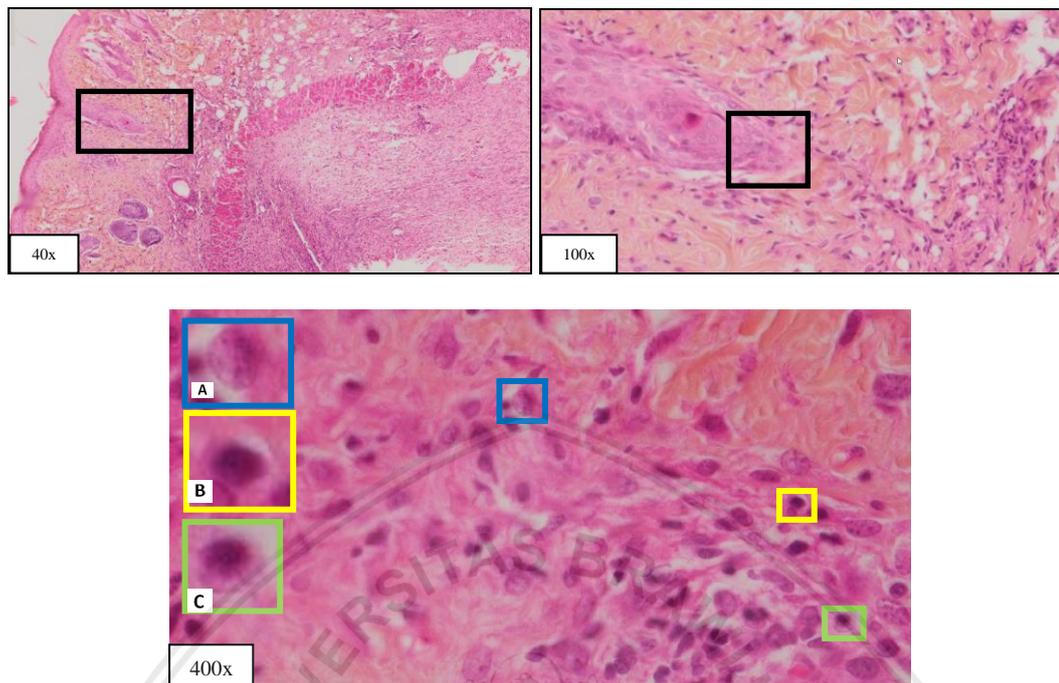
Sel radang pada daerah luka memiliki peranan penting yaitu sebagai respon tubuh nonspesifik dengan melakukan pertahanan terhadap bakteri yang mengkontaminasi luka. Sel radang berupa sel leukosit polimorfonuklear, makrofag dan limfosit akan bergerak menuju luka dengan bantuan faktor kemotaksis yang menyebabkan adanya peningkatan sel radang pada area luka yang terinfeksi. Menurut Vidinsky, *et al* (2006) yang membedakan daerah insisi dengan daerah yang normal yaitu terlihat garis yang banyak terdapat sel radang disekitar area insisi. Bagian dermis tampak fibroblas yang mulai terbentuk yang tersebar secara acak dan tidak beraturan. Bagian lapisan dermis lebih tebal jika dibandingkan kulit normal serta tidak ada folikel rambut pada daerah sekitar insisi.

Gambaran histopatologi luka pada kelompok kontrol negatif (**Gambar 5.2**) lapisan dermis tampak menyatu dan terdapat sel radang berupa makrofag dan

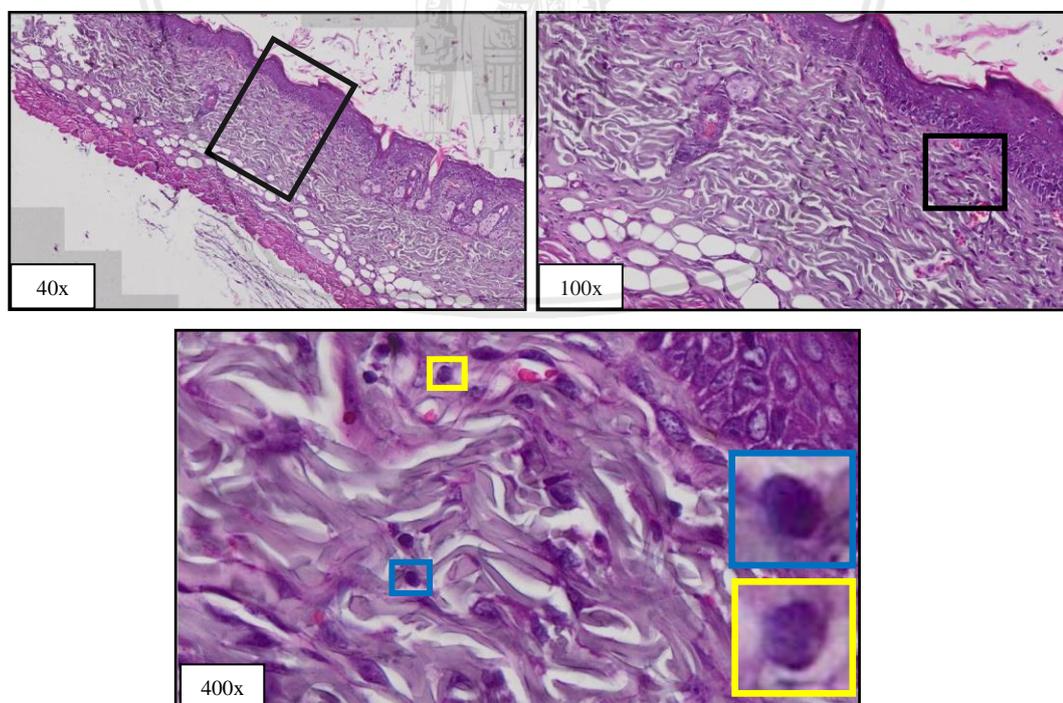
neutrofil diarea luka. Pada kelompok kontrol positif (**Gambar 5.3**) lapisan dermis tampak belum menyatu dan terdapat jumlah sel radang yang tinggi pada area luka berupa makrofag dan limfosit. Pada kelompok perlakuan 1 dengan pemberian VCO satu kali sehari (**Gambar 5.4**) lapisan dermis tampak sudah menyatu dan terdapat sedikit sel radang berupa makrofag dan limfosit diantara jaringan ikat. Pada kelompok perlakuan 2 dengan pemberian VCO dua kali sehari (**Gambar 5.5**) lapisan dermis tampak sudah menyatu dan terdapat sel radang berupa limfosit dan neutrofil di area luka insisi. Pada kelompok perlakuan 3 dengan pemberian VCO tiga kali sehari (**Gambar 5.6**) lapisan dermis juga tampak menyatu dengan sel radang berupa makrofag dan neutrofil diarea luka.



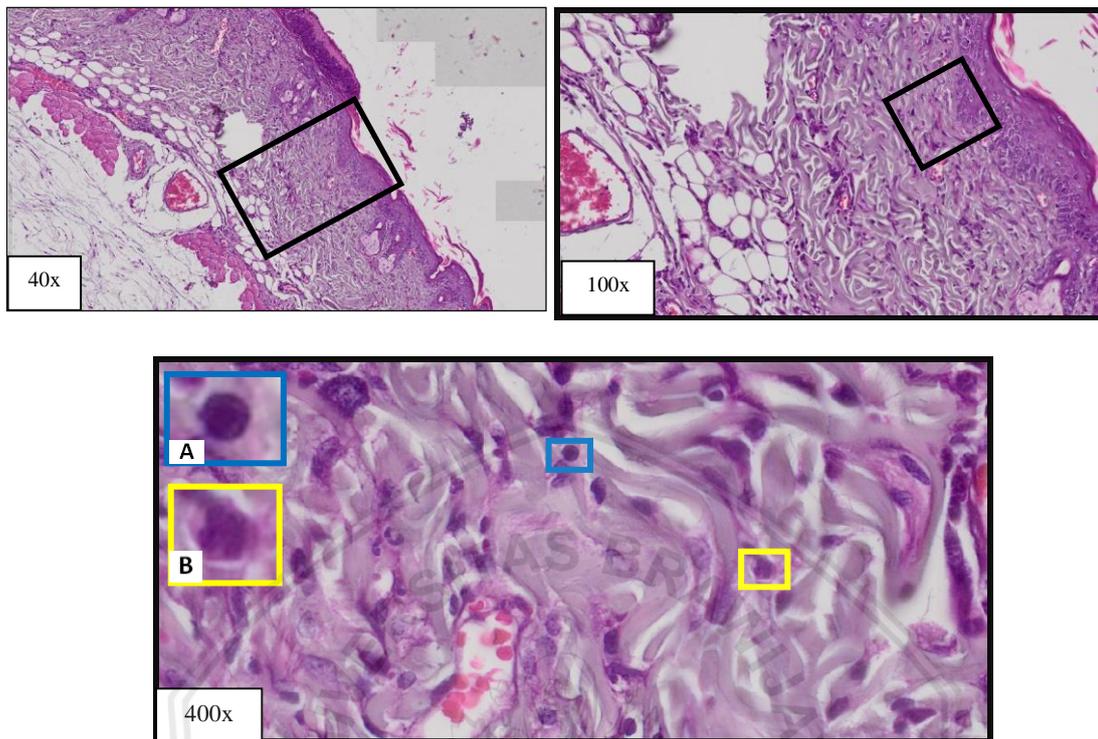
Gambar 5.2 Gambaran histopatologi luka kontrol negatif perbesaran 40x, 100x dan 400x menggunakan pewarnaan HE. Lapisan dermis tampak telah menyatu dan hanya terdapat beberapa jumlah sel radang yang tinggi disekitar tepi insisi berupa makrofag (A), limfosit(B) (dokumentasi pribadi, 2018).



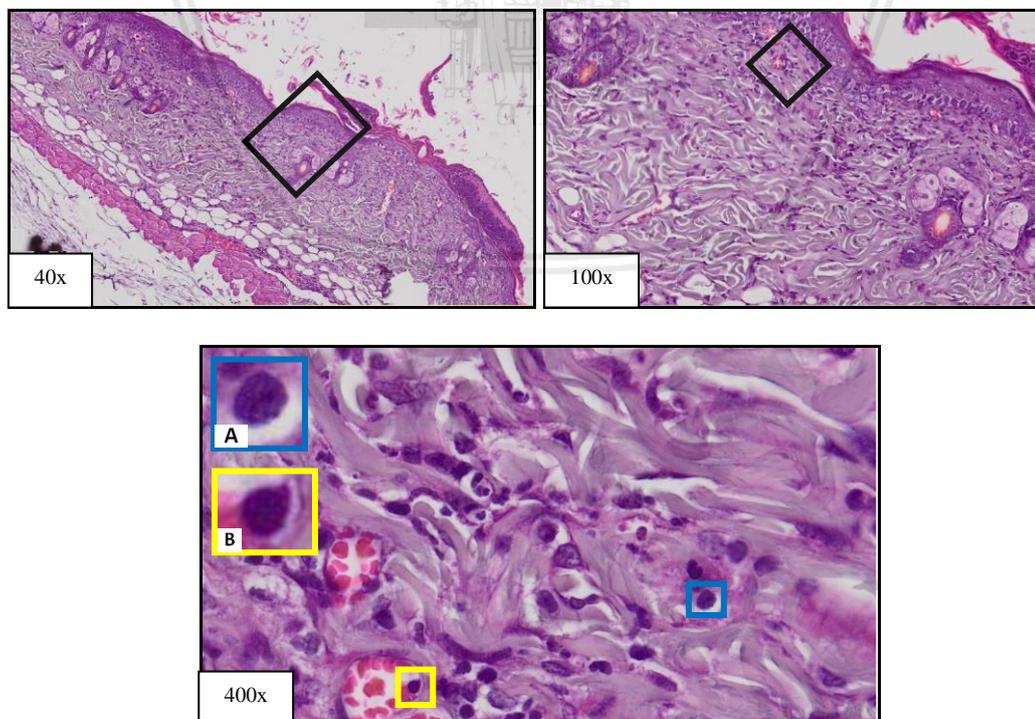
Gambar 5.3 Gambaran histopatologi luka kontrol positif perbesaran 40x, 100x dan 400x menggunakan pewarnaan HE. Lapisan dermis tampak belum menyatu dan terdapat jumlah sel radang yang tinggi disekitar tepi insisi berupa makrofag (A), limfosit (B), neutrofil (C) (dokumentasi pribadi, 2018).



Gambar 5.4 Gambaran histopatologi luka pada kelompok P1 perbesaran 40x, 100x dan 400x menggunakan pewarnaan HE. Lapisan dermis tampak telah menyatu dan terdapat sel-sel radang berupa limfosit(A), makrofag (B) (dokumentasi pribadi, 2018).



Gambar 5.5 Gambaran histopatologi luka pada kelompok P2 perbesaran 40x,100x dan 400x menggunakan pewarnaan HE. Lapisan dermis tampak telah menyatu dan terdapat sel-sel radang berupa limfosit(A), neutrofil(B) (dokumentasi pribadi, 2018).



Gambar 5.6 Gambaran histopatologi luka pada kelompok P3 perbesaran 40x, 100x dan 400x menggunakan pewarnaan HE. Lapisan dermis tampak telah menyatu dan terdapat sel-sel radang berupa makrofag(A), limfosit(B) (dokumentasi pribadi, 2018).

Setelah dilakukan pengamatan, data yang diperoleh dianalisis secara statistika menggunakan *software IBM SPSS Statistics 19*®. Hasil dari uji *one way ANOVA* menunjukkan adanya pengaruh terapi yang diberikan terdapat perbedaan nyata ($p < 0,05$). Hasil uji BNJ ditunjukkan pada **Tabel 5.1** berikut ini.

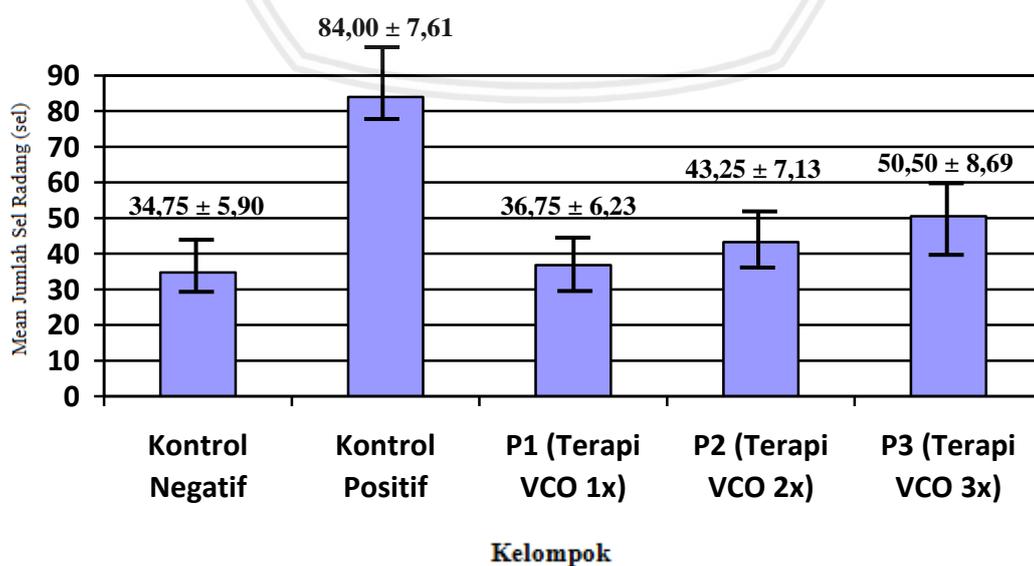
Tabel 5.1 Rata-rata jumlah sel radang pada pemeriksaan mikroskopis dengan perbesaran 400x

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Jumlah Sel radang (sel) \pm SD	Persentase Penurunan (%)
Kontrol Negatif	$34,75 \pm 5,90^a$	-
Kontrol Positif	$84,00 \pm 7,61^c$	-
Perlakuan 1 (Terapi VCO 1x sehari)	$36,75 \pm 6,23^{ab}$	56,25
Perlakuan 2 (Terapi VCO 2x sehari)	$43,25 \pm 7,13^{ab}$	48,51
Perlakuan 3 (Terapi VCO 3x sehari)	$49,85 \pm 8,69^b$	40,65

Keterangan : Perbedaan notasi menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$)

Histogram hasil rata-rata perhitungan jumlah sel radang ditunjukkan oleh

Gambar 5.7 berikut ini.



Gambar 5.7 Histogram rata-rata jumlah sel radang pada pemeriksaan histopatologi dengan perbesaran 400x

Hasil uji BNJ yang tampak pada **tabel 5.1** terlihat adanya perbedaan notasi pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol positif menunjukkan jumlah sel radang yang lebih tinggi daripada kelompok kontrol negatif dengan perbedaan yang signifikan. Pada kelompok perlakuan 1 tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan lainnya, sedangkan pada kelompok kontrol negatif jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan untuk luka insisi nosokomial menggunakan terapi VCO memiliki potensi yang sama dengan pemberian terapi antibiotik.

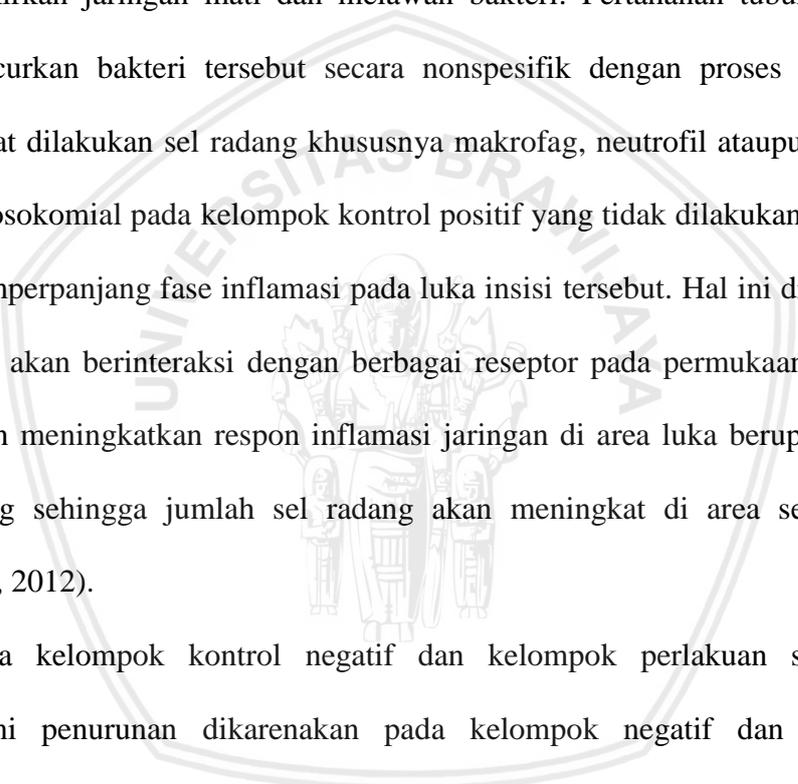
Pada kelompok kontrol negatif jumlah sel radang yang paling sedikit dibandingkan kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol positif terdapat jumlah sel radang yang tinggi pada area luka. Jumlah sel radang pada kelompok kontrol positif paling banyak jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan. Pada kelompok perlakuan 1 dengan pemberian VCO satu kali sehari terdapat sedikit sel radang berupa makrofag dan neutrofil diantara jaringan ikat. Jumlah sel radang pada kelompok perlakuan 1 lebih sedikit jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya. Pada kelompok perlakuan 2 dengan pemberian VCO dua kali sehari terdapat sel radang berupa limfosit dan neutrofil di area luka insisi. Pada kelompok perlakuan 3 dengan pemberian VCO tiga kali sehari jumlah sel radang pada kelompok perlakuan 3 lebih banyak dari kelompok perlakuan 1 dan 2.

Perbedaan yang signifikan jumlah sel radang pada kelompok kontrol positif jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan

repository.ub.ac.id

dapat dikarenakan pada kelompok kontrol positif masih pada fase inflamasi. Menurut Kresno (2010) tubuh memiliki respon imun nonspesifik untuk mempertahankan diri terhadap antigen yang masuk ke dalam tubuh misalnya berupa bakteri. Respon imun nonspesifik ini berupa reaksi inflamasi akut yang akan memusatkan sel-sel imun berupa sel radang ke lokasi infeksi untuk menyingkirkan jaringan mati dan melawan bakteri. Pertahanan tubuh ini akan menghancurkan bakteri tersebut secara nonspesifik dengan proses fagositosis yang dapat dilakukan sel radang khususnya makrofag, neutrofil ataupun limfosit. Infeksi nosokomial pada kelompok kontrol positif yang tidak dilakukan perlakuan akan memperpanjang fase inflamasi pada luka insisi tersebut. Hal ini dikarenakan *S. aureus* akan berinteraksi dengan berbagai reseptor pada permukaan sel inang yang akan meningkatkan respon inflamasi jaringan di area luka berupa infiltrasi sel radang sehingga jumlah sel radang akan meningkat di area sekitar luka (Yuwono, 2012).

Pada kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan sel radang mengalami penurunan dikarenakan pada kelompok negatif dan kelompok perlakuan telah memasuki fase proliferasi yang merupakan kelanjutan dari inflamasi akut yang ditandai dengan peningkatan fibroblas, keratin dan jumlah sel radang yang menurun. Adanya perbedaan fase penyembuhan luka pada kelompok kontrol positif bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan dapat dikarenakan oleh kerja antibiotik pada kelompok kontrol negatif dan VCO pada kelompok perlakuan.



Pemberian VCO pada luka infeksi luka nosokomial akan mempercepat proses penyembuhan luka. Menurut Rindengan (2005) VCO memiliki kandungan asam lemak jenuh sekitar 92% dan tergolong asam lemak rantai menengah atau MCFA (*Medium Chain Fatty Acid*). MCFA pada VCO yang terbanyak yaitu asam laurat sebesar 48-53% yang mana asam laurat ini memiliki sifat sebagai antibakteri. Terapi VCO pada kelompok perlakuan dapat mempercepat proses inflamasi sehingga mempercepat proses penyembuhan. Hal ini dikarenakan VCO memiliki kemampuan melawan molekul sinyal dan *chemoattractant* yang dilepas ketika adanya infeksi. Selain itu menurut Nevin (2010) kandungan asam lemak pada VCO yang merupakan molekul bioaktif mampu memodulasi proliferasi sel, *signaling cel*, dan aktivitas *growth factor*. Aktivitas *growth factor* akan menstimulasi fibronectin dalam gumpalan benang fibrin yang akan membentuk kerangka reepitelisasi dan proliferasi fibroblas. Selanjutnya asam laurat pada VCO dapat menstimulasi pembentukan matriks seluler yang selanjutnya akan menginisiasi pembentukan kolagen pada luka.

Berdasarkan hasil rata-rata jumlah sel radang yang tampak pada **Tabel 5.1** bahwa kelompok perlakuan 1 memiliki jumlah sel radang yang paling sedikit dibandingkan dengan kelompok perlakuan 2 dan 3, yang artinya kelompok perlakuan 1 yaitu terapi VCO sebanyak satu kali sehari paling efektif. Kelompok perlakuan 1, 2 dan 3 menunjukkan perbedaan tidak nyata antar kelompok, namun adanya penurunan jumlah sel radang dari perlakuan 1 dibandingkan perlakuan 2 dan perlakuan 3. Perlakuan 3 memiliki rata-rata jumlah sel radang yang lebih tinggi dibandingkan dengan rata-rata jumlah sel radang pada perlakuan 2 dan

perlakuan 1. Hal ini dapat disebabkan akibat adanya pengaruh pH dan kelembapan VCO yang digunakan pada penelitian ini.

pH merupakan faktor penentu bakteri dapat terinaktivasi yaitu dengan pH 6,5 (Susanto, 2015). pH pada VCO dapat membantu meningkatkan proses proliferasi dan aktivitas fibroblas. Menurut Perdanaksuma (2007) bahwa pH pada kulit manusia berada pada kisaran pH 7, sedangkan berdasarkan hasil uji pH VCO hasil pengasaman yang digunakan pada penelitian ini seperti pada **Lampiran 9** yaitu 6,25. Kadar pH VCO yang digunakan pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan pH VCO dengan metode lainnya, hal ini dapat dikarenakan penambahan jeruk nipis ke dalam kanil (krim) pada saat pembuatan VCO tidak dilakukan pengukuran pH terlebih dahulu sehingga dengan kadar pH awal yang rendah dapat menghasilkan VCO dengan pH yang lebih asam. Pemberian VCO sebanyak dua kali sehari dan tiga kali sehari dapat menimbulkan kondisi pH kulit yang lebih asam bila dibandingkan dengan pemberian VCO sebanyak satu kali sehari, hal ini dapat mengganggu proses proliferasi fibroblas yang terjadi sehingga mengganggu proses penyembuhan luka.

Kelembapan dapat mempengaruhi proses penyembuhan pada luka, hal ini dikarenakan kelembapan diperlukan untuk aktivitas faktor pertumbuhan dan aktivitas enzimatis proteolitik. Menurut Nevin (2010) bahwa enzim proteolitik memiliki peran untuk proses perbaikan jaringan dan mampu mengaktifkan sintesis serta deposisi komponen matriks protein dalam jaringan granulasi. Kandungan air pada VCO yang digunakan pada penelitian ini seperti pada **Lampiran 9** yaitu 0,68%, sedangkan kandungan air pada minyak kelapa murni di Indonesia berkisar

0,20-0,31% (Susanto, 2015). Kandungan air VCO yang terlalu tinggi pada penelitian ini dapat mempengaruhi kelembapan pada luka. Kelembapan yang tinggi pada luka dapat menjadi media yang baik untuk pertumbuhan mikroba dan dapat pula mempermudah partikel-partikel kotoran mudah menempel sehingga mempengaruhi proses penyembuhan luka.

5.3 Efek Terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) Terhadap Kadar TNF- α pada Jaringan Kulit Hewan Model Luka Insisi Nosokomial

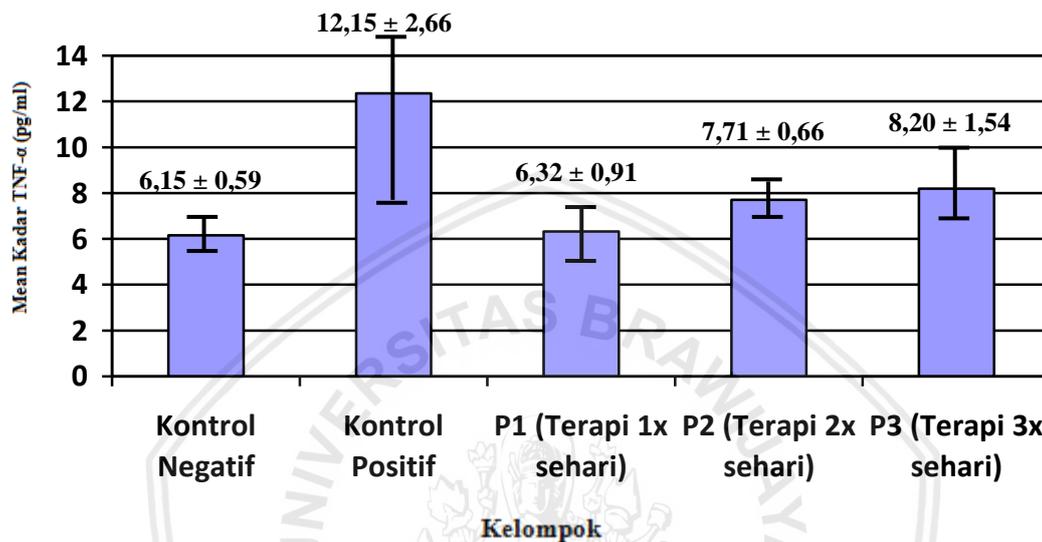
Pengamatan kadar TNF- α pada penelitian ini diamati secara kuantitatif yang diukur menggunakan *flowcytometry*. Hasil yang didapatkan dianalisis dengan *software* BD *cellquest Pro*TM dengan kadar TNF- α tertinggi pada kontrol positif dan kadar TNF- α terendah pada kontrol negatif. Hasil dari uji *one way* ANOVA menunjukkan adanya pengaruh terapi yang diberikan terhadap kadar TNF- α terdapat perbedaan nyata ($p < 0,05$). Hasil uji BNJ ditunjukkan pada **Tabel 5.2** berikut ini.

Tabel 5.2 Rata-rata Kadar TNF- α

Kelompok Perlakuan	Rata-rata kadar relatif TNF- α \pm SD (%)	Presentase Penurunan (%)
Kontrol Negatif	6,15 \pm 0,59 ^a	-
Kontrol Positif	12,35 \pm 2,66 ^c	-
Perlakuan 1 (Terapi VCO 1x sehari)	6,32 \pm 0,91 ^a	48,82
Perlakuan 2 (Terapi VCO 2x sehari)	7,71 \pm 0,66 ^b	37,57
Perlakuan 3 (Terapi VCO 3x sehari)	8,20 \pm 1,54 ^{ab}	33,60

Keterangan : Perbedaan notasi menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan $p < 0,05$

Histogram hasil rata-rata kadar TNF- α pada jaringan kulit hewan model luka insisi nosokomial yang diterapi menggunakan VCO ditunjukkan pada **Gambar 5.8**.



Gambar 5.8 Histogram rata-rata kadar TNF- α menggunakan *flowcytometry*

Hasil uji BNJ yang tampak pada **tabel 5.2** terlihat pada kelompok kontrol positif memiliki perbedaan rata-rata kadar TNF- α yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan. Berdasarkan hasil tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian terapi VCO memberi efek terapi berupa penurunan kadar TNF- α pada kelompok hewan model mencit dengan luka insisi nosokomial.

Kelompok kontrol positif menunjukkan kadar TNF- α yang lebih tinggi dan perbedaan rata-rata yang signifikan dari kelompok kontrol negatif. Hal ini dikarenakan kelompok kontrol positif merupakan luka infeksi nosokomial pada luka insisi. Kelompok kontrol positif termasuk luka infeksi nosokomial yang tergolong *infected wound* atau luka terinfeksi karena luka diinfeksi *S. aureus*.

S. aureus akan meningkatkan respon inflamasi jaringan pada area luka yang akan mengaktivasi *imunitas innate* atau sistem imun nonspesifik. Salah satu mediator utama pada sistem imun nonspesifik yang berperan dalam melawan berbagai mikroorganisme penyebab infeksi adalah *Tumor Necrosis Factor* (TNF- α). Penghasil utama TNF- α sebagai respon inflamasi akut terhadap infeksi bakteri yaitu makrofag, sedangkan sejumlah sel baru dapat menghasilkan TNF- α setelah mendapatkan rangsangan yang cocok seperti limfosit dan sel NK.

Leukosit akan melepaskan bermacam-macam faktor untuk menarik sel yang akan memfagosit debris, bakteri, dan jaringan yang rusak, serta menghasilkan sitokin yang akan memulai proliferasi jaringan. Leukosit yang terdapat pada luka di dua hari pertama adalah neutrofil. Neutrofil akan melakukan fagositosis yang selanjutnya akan difagositosis oleh makrofag. Hal ini dikarenakan keberadaan neutrofil yang persisten pada luka dapat menyebabkan luka akan sulit untuk mengalami proses penyembuhan dan menjadikan luka akut berprogresi menjadi luka kronis (Landen, 2016). Pada hari ke tiga monosit akan berdiferensiasi menjadi makrofag masuk kedalam luka. Makrofag akan menjadi sel penting dalam proses penyembuhan luka. Makrofag akan menggantikan peran polimorfonuklear sebagai predominan yang nantinya akan memfagositosis bakteri ataupun jaringan rusak dan akan menghasilkan TNF- α . Selama fase inflamasi maka kadar TNF- α pada luka dan sekitarnya akan tinggi, sehingga tampak pada luka insisi nosokomial yang tidak diberikan perlakuan apapun yaitu pada kelompok kontrol positif memiliki fase inflamasi yang lebih lama yang artinya kadar TNF- α nya juga masih tinggi.

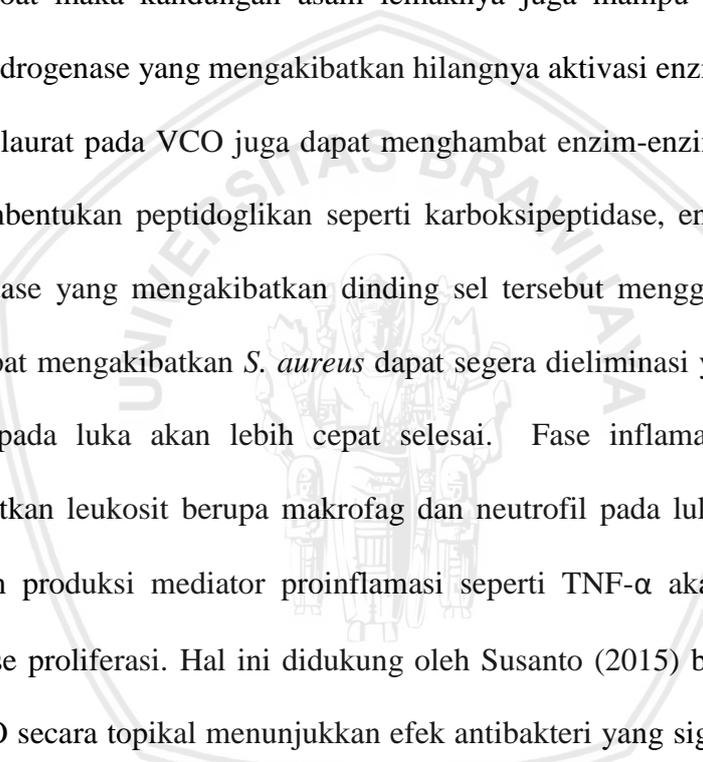
Pada kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan 1 memiliki kadar TNF- α yang rendah dan tidak berbeda nyata. Hal ini dikarenakan pada kelompok kontrol negatif yaitu luka insisi yang diberikan perlakuan antibiotik berupa *nebacetin*. *Nebacetin* merupakan kombinasi *neomycin sulfat* dengan *zinc bacitracin*. Menurut Wientarsih, dkk (2017) *Neomycin sulfat* merupakan antibiotik golongan aminoglikosida yang bekerja dengan cara menghambat bakteri mensintesis protein, sedangkan *zinc bacitracin* merupakan antibiotik spektrum luas yang dapat memberikan efek untuk bakteri gram positif ataupun gram negatif. Kombinasi *neomycin sulfat* dan *zinc bacitracin* biasa digunakan untuk mengobati infeksi luar seperti luka, sehingga penggunaan *nebacetin* pada luka insisi kelompok kontrol negatif cukup efektif untuk mencegah luka agar tidak terkontaminasi bakteri gram positif ataupun gram negatif. Hal ini menghasilkan luka cepat sembuh dengan memperpendek fase inflamasi luka, sehingga luka pada kelompok kontrol negatif telah memasuki fase proliferasi yang ditandai dengan berkurangnya mediator pro inflamasi yaitu TNF- α pada daerah sekitar luka. Pada kelompok perlakuan 1 yaitu luka insisi yang diinfeksi bakteri *S. aureus* dan diberikan terapi VCO satu kali sehari juga menunjukkan kadar TNF- α yang sedikit, hal ini dikarenakan VCO berperan sebagai antibakteri (Susanto, 2015).

VCO mengandung monogliserol yang bersifat lipofilik yang memungkinkan menembus membran sel dengan mengganggu dan mempengaruhi integritas membran sitoplasma sehingga terjadinya kebocoran sel serta dapat menghambat aktivitas enzim yang terlibat dalam produksi energi dan transport nutrisi pada bakteri. Menurut Nevin (2010) kandungan monolaurin yang terdapat pada VCO

repository.ub.ac.id

dapat menyebabkan kerusakan pada membran bakteri dengan cara merusak protein ekstraseluler, asam nukleat dan menurunkan aktivitas enzim tertentu. Pembentukan dinding sel bakteri dapat dihambat oleh asam-asam lemak terutama asam laurat pada VCO dan dapat pula menghambat enzim yang terlibat pada produksi energi. Pada saat bakteri mensintesis asam dihidrofolat dari p-aminobenzoat maka kandungan asam lemaknya juga mampu bereaksi dengan enzim dehidrogenase yang mengakibatkan hilangnya aktivasi enzim.

Asam laurat pada VCO juga dapat menghambat enzim-enzim yang berperan dalam pembentukan peptidoglikan seperti karboksipeptidase, endopeptidase dan transpeptidase yang mengakibatkan dinding sel tersebut mengalami degradasi. Hal ini dapat mengakibatkan *S. aureus* dapat segera dieliminasi yang artinya fase inflamasi pada luka akan lebih cepat selesai. Fase inflamasi yang pendek mengakibatkan leukosit berupa makrofag dan neutrofil pada luka akan semakin sedikit dan produksi mediator proinflamasi seperti TNF- α akan menurun dan menuju fase proliferasi. Hal ini didukung oleh Susanto (2015) bahwa pemberian terapi VCO secara topikal menunjukkan efek antibakteri yang signifikan terhadap luka yang terinfeksi bakteri MRSA. Pada fase proliferasi kandungan asam laurat dari VCO dapat membantu menstimulasi pembentukan matriks seluler yang dapat menginisiasi pembentukan kolagen pada luka. VCO memiliki kemampuan memodulasi VEGF (*Vascular Endothelia Growth Factor*) yang dapat membantu dalam pertumbuhan pembuluh darah baru sehingga membantu dalam percepatan penyembuhan luka dan pencegahan bekas luka (Ibrahim, 2017).



BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Pemberian terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) satu kali sehari dapat digunakan untuk terapi hewan model luka insisi nosokomial karena:

1. Mampu menurunkan kadar relatif TNF- α sebanyak 48,82% pada jaringan kulit mencit (*Mus musculus*) model luka insisi nosokomial,
2. Mampu menurunkan jumlah sel radang sebanyak 56,25% pada jaringan kulit mencit (*Mus musculus*) model luka insisi nosokomial.

6.2 Saran

1. Pada saat proses pembuatan hewan model luka insisi nosokomial perlu dilakukan penjahitan *double continuous suture* atau *subcuticular suture* untuk mendapatkan hasil luka insisi nosokomial yang maksimal.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai metode pembuatan VCO hasil pengasaman dengan variasi jeruk lainnya seperti jeruk lemon, atau jeruk aforer dan perlu dilakukannya pengecekan pH awal agar mendapatkan VCO dengan pH yang optimal.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aplikasi terapi VCO untuk jenis luka lainnya seperti luka bakar ataupun luka akibat diabetes melitus, dan mengenai pemberian sediaan VCO seperti kombinasi VCO dengan vaselin album sebagai basis agar didapatkan sediaan VCO yang paling efektif untuk luka insisi nosokomial.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifurrahman, S., dan Syahril, A. 2014. *Pola Kepekaan Bakteri Staphylococcus aureus terhadap Antibiotik Vancomycin di RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang*. Fakultas Kedokteran Universal Sriwijaya. Palembang.
- Akbar. 2010. *Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi sebagai Bahan Antifertilitas*. Adabia Press: Jakarta.
- Antoni dan Agustika. 2011. *Efek Jus Jambu Biji (Apple Guava) terhadap Kadar TNF- α dan Pertumbuhan Jaringan Kolagen pada Luka Tikus [Tesis]*. Program Pasca Sarjana Biomedik Universitas Andalas. Padang.
- Bacha, W. J. and L. M., Bacha. 2012. *Color Atlas of Veterinary Histology*. 3rd ed. Oxford: Wiley-Blackwell. 105-106.
- Bratawidjaya, K. G. 2004. *Imunolgi Dasar*. Edisi ke-6. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Chard, R. 2008. Wound Classifications. *Aorn Journal*, 88(1): 108-109.
- Clouthier, S. dan T. Luther. 2015. *SOP-BCR-6.3 Ketamine/Xylazine Containing Anesthesia for Mouse Surgery Preparation*. <http://www.med.umich.edu/wicha-lab/SOP/SOP%206%203-%20Ketamine%20Xylazine%20Anesthesia%204-2-2015.pdf> [Diakses 03 Februari 2018].
- Dai, T., G.B. Kharkwal, M. Tanaka, Y. Huang, V. C. B. de Arce, dan M. Hamblin. 2011. Animal models of external traumatic wound infections. *Virulence*. Vol. 2(4): 296-315.
- Dao, H. Jr., and Kazin, R.A. 2010. *Gender Differences in Skin : A Review of the Literature*. *Gend med*, 4:308-328.
- Djamaluddin, A. M. 2009. *Pemanfaatan Khitosan dari Limbah Krustasea untuk Penyembuhan Luka pada Mencit (Mus musculus albinus)*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Effendi, Z. 2003. *Peranan Leukosit sebagai Anti Inflamasi Alergik dalam Tubuh*. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Sumatera Utara.
- Fajrin, E. 2012. *Penggunaan Enzim Bromelin pada Pembuatan Minyak Kelapa (Cocos nucifera) secara Enzimatis [Skripsi]*. Universitas Hasanudin. Makassar

- Falanga, V., dan Kerdel F. A. 2006. Split Thickness Skin Grafting of Leg Ulcers. The University of Miami Department of Dermatology's Experience. *Dermatol Surgery*, vol. 21: 701.
- Fauzi, A., I. Setiawan, dan F. Ariyanti. 2012. The Effect of Virgin Coconut Oil (VCO) on *Staphylococcus aureus* Infection in Mice (*Mus musculus*) Observed from different Organ Histopathology. *Journal of Applied Sciences Research*, 8(2): 1168-1173.
- Febrem, B., I. Wientarsih dan B. Pontjo. 2010. Activity of Ambon Banana (*Musa Paradisiaca* Var. *Sapientum*) Stem Extract In Ointment Formulation on The Wound Healing Process of Mice Skin (*Mus Musculus Albinus*). *Majalah Obat Tradisional*, 15(3): 121-137.
- Gurtner, G. C. 2007. *Wound Healing, Normal and Abnormal*. Grabb and Smith's Plastic Surgery 6th edition, p: 15-22.
- Harper, D., A. Young, and C. E. Mc. Naught. 2014. The Physiology of Wound Healing. Elsevier Surgery 32:9.
- Hendarto, K. R. 2017. *Studi Terapi Kitosan Kerang Darah (Anadara granosa) Terhadap Luka Insisi Hewan Model Nosokomial Dilihat dari Ekspresi IL-1 dan Jumlah Sel Radang [Skripsi]*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Hunt, K. T. 2003. *Wound Healing*. In: *Doherty MG. Current Surgical Diagnosis and Treatment. 12th Ed.* USA: MCGraw-Hills.
- Ibrahim, A H., A. S. A. Mjid, A. M. S. Majid, dan Ji, Haibo Li, S.S Al- Rawi and X. Xia. 2017. Angiogenic and Wound Healing Potency of Fermented Virgin Coconut Oil: In Vitro and in Vivostudies. *Journal Translation Research*, 9 (11): 4936-4944.
- Junqueira, L. and Carneiro, J. 2005. *Basic Histology: Text & Atlas*. 12 edition. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Kalangi, dan Sonny, J., R. 2015. Histofologi Kulit. *Jurnal Biomedik (JBM)* 5 (3): S12-20.
- Kolarsick, Paul A., J. B., S. Maria, A., MSN, ARHP-C Carolyn Goodwin, APRN-BC, FNP. 2011. Anatomy and Physiology of the Skin. *Journal of the Dermatology Nurses' Association* 3 (4): 203-213.
- Kresno, S. B. 2010. *Diagnosis dan Prosedur Laboratorium. Imunologi*. Edisi kelima. Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.

- Kumar, V., Cotran R. and S. L. Robbins. 2005. *Robbins Pathologic Basic of Disease, 7 ed.* Philadelphia: W.B. Saunders.
- Kusumawardhana, A. D., U. Kalsum, dan I. Rini. 2015. Pengaruh Sediaan Salep Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle Linn.*) terhadap Jumlah Fibroblas Luka Bakar Derajat IIA pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar. *Majalah Kesehatan FKUB* 2(1): 16-28.
- Landen, N. X, and Stahle M. 2016. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. *Cellular and Molecular Life Sci.*, 73 (20), p.3861-3885.
- Lorentz, H. P., and Longaker, M. T. 2006. *Wound Healing: Repair Biology and Wound and Scar Treatment in Mathes, S. J. and Hentz, V. R., Plastic surgery*. Philadelphia: Saunders Elsevier, p: 209-34.
- Lostapa, I. W. F. W., Wardhita, A. G. G. J., Pemayun, I. G. A. G. P., dan Sudirmartini, L. M. 2016. Kecepatan Kesembuhan Luka Insisi yang diberikan Amoksisilin dan Asam Mefenamat pada Tikus Putih. *Buletin Veteriner Udayana*, Vol. 8 no. 2 : 172-179.
- Milton, A., A., P., G. B. Priya, M. Aravind, S. Parthasarathy, M. Saminathan, K. Jeeva, and R. K. Agarwal. 2015. Nosocomial infections and their surveillance in veterinary hospitals. *Advances in Animal and Veterinary Sciences* 3(2):1-24.
- Montgomery, D., and S. Kowalsky. 2011. *Design and Analysis of Experiment*. John Wiley as Sains Inc. ISBN 978-0-470-16990-2.
- Montgomery, C. P., M. Daniels, F. Zhao, M. L. Alegre, A. S. Chong, and R. S. Dauma. 2014. Protective Immunity against Recurrent Staphylococcus aureus Skin Infection Requires Antibody and Interleukin-17A. *Infect Immun*, 82(5): 2125-34.
- Morison, M. J. 2004. *Manajemen Luka*. Jakarta: ECG.
- Murwani, S. 2015. *Dasar-dasar Mikrobiologi Veteriner*. Malang: Ub Press.
- Nasution, L. H. 2012. Infeksi Nosokomial. *MDVI* 39(1): 36-41.
- Nevin, K. G., dan T. Rajamohan. 2010. Effect of Topical Application of Virgin Coconut Oil on Skin Component and Antioxidant Status During Dermal Wound Healing in Young Rats. *Skin Pharmacol Physiol*, 23: 290-297.
- Nurrahman dan Nurhidajah. 2015. Pengaruh Konsumsi Tempe Kedelai Hitam Terhadap Makrofag dan Kadar TNF- α pada Tikus secara in Vitro. *Agritech* 35 (3): 294-298.

- Palvelic, M. M. 2010. *Atlas of Small Animal Wound Management and Reconstructive Surgery*. Iowa: W. B. Saunders Company.
- Perdanakusuma, D. S. 2007. *Anatomi Fisiologi Kulit dan Penyembuhan Luka*. Surabaya: Airlangga University School of Medicine.
- Peterson. 2004. *Principle's of Oral and Maxillofacial Surgery*, 2nd ed. London: BC Decker Inc.
- Plumb, D. C. 2008. *Plumb's Veterinary Drug Handbook*. 6th ed. Wisconsin: PharmaVet Inc.
- Prasetyono, T. O. H. 2009. General Concept of Wound Healing, Revisited. *Ed Indones* 18 (3): 208-216.
- Primadina, N., Basori, A., dan Perdanakusuma, D. S. 2019. Proses Penyembuhan Luka ditinjau dari Aspek Mekanisme Seluler dan Molekuler. *Qanun Medika*, Vol.3 no.1.
- Qasimah, D. 2017. *Proses Produksi Virgin Coconut Oil (VCO) Menggunakan Variasi Keasaman Jeruk*. Seminar Temu Nasional Inovasi Pengelolaan, Pemanfaatan, dan Festival Sumber Genetik Lokal. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Jawa Timur.
- Rindengan, B., dan Novarianto, H. 2005. *Virgin Coconut Oil: Pembuatan dan Pemanfaatan Minyak Kelapa Murni*. Cetakan keempat. Penerbit Penebar Swadaya. Jakarta.
- Salsabila, M. 2016. *Pembuatan Minyak Kelapa dengan Pengasaman (Jeruk Nipis) dan Penetralkan dengan NaCO₃ Beserta Uji Kualitasnya [Skripsi]*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Semarang.
- Sari, M. 2015. *Uji Bakteriologis dan Resistensi Antibiotik terhadap Bakteri E. coli dan Shigella sp. pada Makanan Gado-Gado di Kantin UIN Syarif Hidayatullah Jakarta [Skripsi]*. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Setiaji, B., dan Prayugo, S. 2006. *Membuat VCO Berkualitas Tinggi*. Cetakan kedua. Penerbit Penebar Swadaya. Jakarta.
- Singer, A. J. and Clarck, R. A. F. 2009. *Cotaneous Wound Healing*. NEJM 341(10): 738-746
- Standar Nasional Indonesia (SNI). 2008. *Minyak Kelapa Virgin (VCO) SNI 7381 : 2008*. Badan Standarisasi Nasional.
- Soedarto. 2016. *Infeksi Nosokomial di Rumah Sakit*. Sagung Setyo: Jakarta.

- Suastuti, A. D. 2009. Kadar Air dan Bilangan Asam dari Minyak Kelapa yang Dibuat dengan Cara Tradisional dan Fermentasi. *Jurnal Kimia* 3(2): 69-74.
- Sujono, E. 2010. Uji Antibakteri Senyawa N-Fenil-N'-(Klorobenzoil) Tiourea Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Unika Widya Mandala. Surabaya.
- Susanto, Tirta D., Sujatno, M., Kuswinarti, Yuwono, Hendro S. 2015. *Efek Antibakteri Virgin Coconut Oil terhadap Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus*. Jurnal Medicinus Vol. 4. Fakultas Kedokteran. Universitas Padjadjaran.
- Vidinsky, B., Gal, P., Toporcer, T., Longauer, F., Lenhardt, L., Bobrov, N., and Sabo, J. 2006. Histological Study of the first Seven days of Skin Wound Healing in Rat. *Acta Veterinaria Brno*. 75: 197-202.
- Wibowo, N., dan Ari. 2017. *Pengaruh Olesan Minyak cengkeh Terhadap Proses Penyembuhan Luka Insisi pada Mencit (Mus Musculus) Strain BALB/C*. Jurnal Keperawatan Muhammadiyah. Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Surabaya.
- Wientarsih, L., Prasetyo, Bayu F., Madyastuti, R., Noviyanti, L., dan Akbari, A. R. 2017. *Obat-obatan untuk Hewan Kecil*. Penerbit IPB press. Bogor.
- Williams, J. W., dan A. Moores. 2009. *BSAVA Manual of Canine and Feline Wound Management and Reconstruction*. London: BSAVA.
- Widiyanti, R. A. 2015. *Pemanfaatan Kelapa Menjadi VCO (Virgin Coconut Oil) sebagai Antibiotik Kesehatan dalam Upaya Mendukung Visi Indonesia Sehat 2015*. Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi 2015. Pendidikan Biologi FKIP Universitas Muhammadiyah Malang.
- Werner, S. G. R. 2003. *Regulation of wound healing by growth factors and cytokines*. *Physiology Review* 83: 835-870.
- Young, B. 2006. *Wheater's Functional Histology*, Ftfth edition. New York: El Sevier.
- Yuwono. 2012. *Staphylococcus aureus dan Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA)*. Penelitian Departemen Mikrobiologi FK Unsri. Palembang.