

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi sampai saat ini menjadi masalah kesehatan di negara berkembang maupun di negara maju.¹ Penyakit infeksi banyak terjadi di daerah tropis termasuk Indonesia.² Penyakit infeksi merupakan penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen yaitu bakteri, virus, parasit, dan jamur.³

Infeksi bakteri merupakan infeksi yang paling sering terjadi.⁴ *Staphylococcus aureus* adalah salah satu bakteri patogen yang paling terkenal dan paling umum menyebabkan ratusan ribu hingga jutaan infeksi serius di seluruh dunia setiap tahun.⁵ *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal yang terdapat pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Bakteri ini juga dapat ditemukan di udara dan lingkungan sekitar.⁶

Staphylococcus aureus dapat menyebabkan infeksi jika jumlahnya mencapai 1.000.000 atau 10^6 per Gram yang merupakan jumlah yang cukup dalam memproduksi toksin.⁷ Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan beberapa jenis penyakit seperti pioderma, paronikhia, *toxic shock syndrome*, pneumonia dan berbagai bentuk klinis lain yang menyebabkan kematian seperti septikemia, dan ensefalitis.⁸ Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat diketahui dengan adanya kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah.⁹

Staphylococcus aureus dapat menular dari satu orang ke orang yang lain secara kontak langsung ataupun melalui benda yang terkontaminasi.¹⁰ Penularannya juga dapat terjadi melalui udara serta kontak langsung pada kulit yang mengalami lesi.⁸

Leukosit (sel darah putih) memiliki peran dalam sistem imunitas dengan membunuh kuman dan sebagai pertahanan tubuh dalam melawan infeksi. Normalnya nilai leukosit berjumlah 3.200-10.000 mm^3 .¹¹ Terdapat beberapa jenis leukosit yang terdiri dari basofil, eosinofil, neutrofil segmen, neutrofil batang, limfosit dan monosit.¹² Leukosit yang paling banyak adalah neutrofil yang memiliki fungsi utama dalam melawan infeksi bakteri dan gangguan radang.¹¹

Ketika tubuh mengalami infeksi, maka jumlah sel darah putih biasanya meningkat, yang disebut dengan istilah leukositosis.² Penderita penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* umumnya diberi pengobatan berupa antibiotik seperti penisilin dan obat-obat yang tahan terhadap penisilinase.^{1,8} Pemakaian antibiotik yang tidak adekuat dapat menimbulkan resistensi.¹ Hal itu dapat terjadi akibat penggunaan antibiotik yang kurang tepat dan penggunaan antibiotik yang tidak disiplin termasuk dalam hal lama penggunaan obat tersebut.¹³ Alternatif yang dapat dilakukan untuk mengatasi resistensi tersebut misalnya dengan memakai bahan-bahan alami sebagai bahan dasar terapi.¹

Ada sekitar 40.000 jenis tanaman obat yang dikenal di seluruh dunia, 30.000 diantaranya terdapat di Indonesia. Dari jumlah tersebut, 25% atau sekitar 7.500 jenis diantaranya telah diidentifikasi memiliki khasiat herbal atau sebagai tanaman obat, namun baru 1.200 jenis tanaman yang sudah digunakan untuk bahan baku obat-obatan herbal.¹⁴

Masyarakat Indonesia telah lama mengenal dan memanfaatkan tumbuhan berkhasiat sebagai obat yang dikenal dengan pengobatan tradisional. Pengetahuan tentang tanaman obat telah diterapkan dari waktu ke waktu sebagai hasil dari pengalaman dan pengetahuan yang diturunkan dari satu generasi ke generasi berikutnya, meskipun sistem pengobatan di Indonesia sudah berkembang.¹⁵ Hal ini karena obat herbal dapat mengobati penyakit dengan efek samping yang minimal karena terbuat dari bahan-bahan alami.¹⁶

Tumbuhan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) telah lama digunakan masyarakat sebagai tanaman obat tradisional.¹⁷ Daun belimbing wuluh bersifat antibakteri dengan adanya kandungan komponen kimia aktif yaitu senyawa flavonoid, fenol dan steroid yang mempunyai aktivitas antibakteri.²

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian Zarwinda,dkk (2020) memaparkan bahwa ekstrak etanol daun belimbing wuluh terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* secara in vitro.¹⁸ Hasil penelitian Kurniawan,dkk pada tahun 2021 menunjukkan bahwa pemberian

ekstrak daun belimbing wuluh dengan dosis 200 dan 400 mg/kgBB/hari pada mencit jantan (*Mus musculus* L) yang terinfeksi *Staphylococcus aureus* terjadi penurunan jumlah leukosit dan dosis paling efektif menurunkan jumlah leukosit didapati pada dosis 400 mg/kgBB/hari.² Penelitian Agastia,dkk (2021) memaparkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh efektif sebagai antibakteri dengan menghambat pertumbuhan bakteri *Eshchericia coli* secara in vitro.¹⁹

Berdasarkan beberapa uraian di atas, penelitian tentang peran daun belimbing wuluh ini menurut peneliti penting dilakukan untuk mengetahui perbandingan aktivitas dua dosis ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) terhadap jumlah leukosit pada tikus putih yang terinfeksi *Staphylococcus aureus*.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dapat dirumuskan masalah yaitu: Bagaimanakah perbandingan aktivitas beberapa dosis ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) terhadap jumlah leukosit tikus putih yang terinfeksi *Staphylococcus aureus*?

1.3. Hipotesis

Ho: Tidak terdapat perbedaan penurunan jumlah leukosit jika diberi dosis yang berbeda.

Ha: Terdapat perbedaan penurunan jumlah leukosit jika diberi dosis yang berbeda.

1.4. Tujuan Penelitian

1.4.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui perbandingan aktivitas ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) pada dua dosis terhadap jumlah leukosit tikus putih yang terinfeksi *Staphylococcus aureus*.

1.4.2. Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui jumlah leukosit tikus putih yang terinfeksi *Staphylococcus aureus* setelah pemberian ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) pada dosis 100 mg/kgBB/hari.
2. Untuk mengetahui jumlah leukosit tikus putih yang terinfeksi *Staphylococcus aureus* setelah pemberian ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) pada dosis 150 mg/kgBB/hari.
3. Untuk membandingkan jumlah leukosit tikus putih yang terinfeksi *Staphylococcus aureus* setelah pemberian ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) pada dosis 100 dan 150 mg/kgBB/hari.

1.5. Manfaat Penelitian

1. Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengalaman peneliti dalam menulis karya ilmiah, menambah pengetahuan peneliti mengenai penelitian eksperimental tentang perbandingan aktivitas dosis ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) terhadap jumlah leukosit pada tikus putih yang terinfeksi *Staphylococcus aureus* serta diharapkan penelitian ini dapat menjadi wadah untuk mengaplikasikan ilmu yang telah didapat selama belajar di fakultas kedokteran.

2. Institusi

Menambah referensi penelitian di Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen Medan dan dapat menjadi referensi bagi penelitian selanjutnya.

3. Masyarakat

Menambah pengetahuan dan wawasan masyarakat mengenai manfaat daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) terhadap infeksi.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Leukosit

Leukosit adalah sel darah putih yang memiliki inti sel. Leukosit berfungsi dalam sistem imun untuk mencegah masuknya antigen atau benda asing sebagai penyebab penyakit. Antigen masuk ke dalam tubuh manusia dengan 2 cara, yaitu fagositosis dan pengaktifan respon imun tubuh.²⁰ Normalnya nilai leukosit berjumlah 3200-10000 mm³.¹¹ Sel darah putih dibagi menjadi dua golongan yaitu granulosit dan agranulosit. Granulosit merupakan sel yang mempunyai segmen pada inti selnya dan granula pada sitoplasmanya, yang terdiri dari neutrofil, eosinofil, dan basofil sedangkan golongan agranulosit merupakan sel yang tidak bersegmen pada inti selnya dan tidak bergranula pada sitoplasmanya, yang terdiri dari monosit dan limfosit.²¹

Leukosit tinggi merupakan suatu tanda dari adanya infeksi atau penyakit dalam tubuh. Meningkatnya jumlah leukosit (leukositosis) bisa diakibatkan karena adanya infeksi (bakteri dan jamur) atau kerusakan jaringan.¹¹ Menurunnya jumlah leukosit (leukopenia) dapat diakibatkan oleh stress yang berkepanjangan, infeksi virus, penyakit terkait kerusakan sumsum tulang, radiasi ataupun kemoterapi, penyakit sistemik berat seperti lupus eritematosus, penyakit tiroid, dan sindrom *cushing*.²⁰

2.1.1. Jenis-Jenis Leukosit

Leukosit dibagi menjadi dua kategori yaitu agranulosit dan granulosit. Agranulosit terdiri dari limfosit dan monosit. Limfosit memiliki nukleus besar berbentuk bulat dan memiliki ukuran beragam dari 7 hingga 15 mikron. Limfosit terbagi menjadi 2 jenis yaitu limfosit T dan limfosit B. Limfosit B menghasilkan antibodi yang berperan sebagai imunitas humoral sedangkan limfosit T secara langsung mendeteksi sel sasaran spesifik dengan menghasilkan berbagai zat kimia yang dapat melubangi sel, sebuah proses yang disebut dengan imunitas seluler.²⁰

Limfosit berjumlah 25-33% dari jumlah total komponen sel darah putih dan berjumlah lebih banyak pada anak-anak. Limfosit berperan dalam membunuh dan fagositosis bakteri yang masuk ke dalam jaringan tubuh. Monosit memiliki ukuran

yang lebih besar dibandingkan dengan limfosit, berwarna biru sedikit abu-abu, protoplasma besar, serta terdapat sedikit bintik berwarna kemerahan. Inti sel monosit berbentuk bulat dan panjang. Sel monosit berasal dari sumsum tulang dan dalam keadaan yang masih imatur beredar selama 1-2 hari sebelum menetap di berbagai jaringan tubuh. Di tempat barunya sel monosit akan melangsungkan pematangan dan berubah menjadi makrofag. Makrofag berjumlah 2-6% dari jumlah total komponen sel darah putih, berperan sebagai fagosit.²²

Granulosit mempunyai granula berukuran kecil pada protoplasmanya yang berdiameter 10–12 mikron. Granulosit terdiri dari tiga jenis yaitu neutrofil, eosinofil, dan basofil. Pada neutrofil terdapat granula tidak berwarna dan inti sel yang terangkai yang kadang tampak terpisah. Pada eosinofil terdapat granula yang berwarna merah saat pewarnaan asam dan memiliki inti bilobus. Pada basofil terdapat granula berwarna biru saat pewarnaan basa dan memiliki sel berukuran lebih kecil dibandingkan eosinofil.²³

Neutrofil memiliki bintik halus pada protoplasmanya. Neutrofil bertindak sebagai pertahanan tubuh awal pada infeksi bakteri akut dan juga berfungsi dalam migrasi, fagositosis, dan destruksi. Neutrofil terbagi menjadi neutrofil segmen dan neutrofil stab. Neutrofil segmen adalah neutrofil yang matang atau matur dan neutrofil stab adalah neutrofil yang belum matang. Neutrofil total berjumlah 60-70 % dari keseluruhan sel darah putih yang terdiri dari 50-65 % neutrofil segmen dan 0-5 % neutrofil stab. Peningkatan jumlah hitung neutrofil sangat menunjukkan infeksi bakteri.²⁰

Eosinofil memiliki granula yang berukuran lebih besar pada sitoplasmanya, berjumlah 1-4% dari jumlah total komponen sel darah putih. Eosinofil berfungsi sebagai respon terhadap penyakit parasitik dan alergi serta berfungsi dalam proses fagositosis dan destruksi. Peningkatan jumlah eosinofil dalam darah berhubungan dengan kondisi alergi serta infestasi parasit internal seperti cacing.²²

Basofil memiliki inti sel teratur dan dalam protoplasmanya memiliki granula yang berukuran besar, berjumlah 0,25 – 0,5 % dari jumlah total komponen sel darah putih. Basofil merupakan jenis leukosit yang berjumlah paling sedikit. Granul pada basofil memiliki histamin dan heparin yang akan dibebaskan setelah

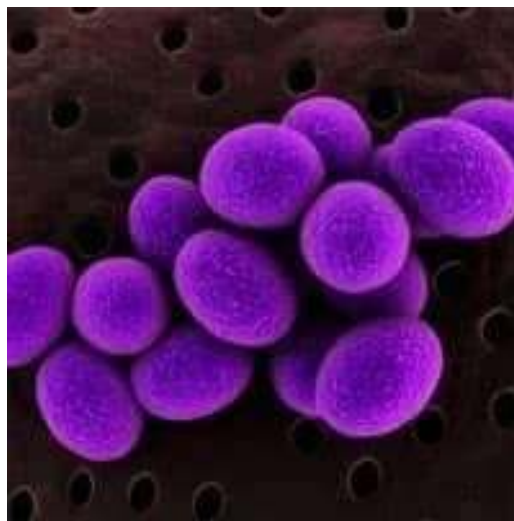
pengikatan immunoglobulin E pada reseptor permukaan. Basofil berfungsi dalam reaksi hipersensitivitas segera.²³

2.2. Bakteri *Staphylococcus aureus*

2.2.1. Morfologi dan Taksonomi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang bersifat aerob maupun anaerob fakultatif, memiliki bentuk bulat atau kokus dengan diameter 0,4 – 1,2 μm dengan rata-rata diameter 0,8 μm . Bakteri *Staphylococcus aureus* tersusun berkelompok menyerupai buah anggur. Bakteri tersebut non-motil dan tidak membentuk spora. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang dapat tumbuh dengan baik dalam biakan pada suhu 37 °C dan Ph 7,4, dan dalam menghasilkan pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 °C).⁸ Berikut taksonomi bakteri *Staphylococcus aureus*²⁴:

Kingdom : *Bacteria*
Phylum : *Firmicutes*
Class : *Bacilli*
Order : *Bacillales*
Family : *Staphylococcaceae*
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*



Gambar 2.1. *Staphylococcus aureus*²⁵

2.2.2. Struktur Antigen *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus memiliki antigenik karbohidrat (Ag-KH) dan antigenik protein (Ag-protein) pada dinding sel. Pada strain bakteri yang tergolong patogen akan ditemukan antigenik karbohidrat A sedangkan yang tidak tergolong patogen ditemukan antigenik karbohidrat B. Pada umumnya dinding sel bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki komponen protein A yang akan memperantari perlekatan bakteri terhadap sel inang serta menjadi faktor virulensi yang penting.^{8,26}

2.2.3. Enzim dan Toksin *Staphylococcus aureus*

Enzim katalase bekerja dengan membentuk katalase yang dapat mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Uji ini dapat digunakan sebagai pembeda antara bakteri *Staphylococcus* positif katalase dan bakteri *Streptococcus* negatif. Enzim koagulase dapat membekukan plasma yang mengandung oksalat dan sitrat. Enzim lainnya seperti *hialuronidase* merupakan faktor penyebar stafilokinase dapat mengakibatkan fibrinolisis. Selain itu, terdapat juga faktor penggumpal yang melekat pada dinding sel bakteri yang berfungsi dalam perlekatan bakteri terhadap fibrin dan fibrinogen sehingga ketika berbaur dengan plasma, bakteri akan membuat gumpalan.^{8,26}

Hemolisin merupakan toksin yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus*. Terdapat 4 jenis toksin hemolisin yaitu toksin α -Hemolisin, toksin- β , toksin- δ dan Hemolisin- γ . α -Hemolisin merupakan protein heterogen yang bekerja pada membran sel eukariot spektrum luas. Toksin- β berkemampuan menguraikan sfingomielin dan bersifat toksik terhadap sel eritrosit manusia. Toksin- δ bersifat heterogen dan terurai membentuk subunit-subunit dalam detergen nonionik. Hemolisin- γ merupakan leukosidin yang dapat berinteraksi dengan dua protein penyusun leukosidin Panton-Valentine yang mampu melisiskan sel leukosit. Selain itu, terdapat toksin Leukosidin Panton-Valentine (PV) yang dapat membunuh sel leukosit manusia. Toksin lainnya seperti toksin epidermolitik mengakibatkan sindrom kulit melepuh dan sindrom syok toksik. Enterotoksin dapat menyebabkan keracunan makanan dengan gejala yang timbul berupa muntah dan diare.^{8,26}

2.2.4. Patogenesis Infeksi *Staphylococcus aureus*

Masa inkubasi bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 4–10 hari. Infeksi paling sering terjadi akibat masuknya bakteri *Staphylococcus aureus* ke dalam luka yang terbuka. Paparan awal pada jaringan inang permukaan kulit maupun mukosa diperkirakan memicu meningkatnya regulasi virulensi gen sehingga tubuh memberi respon terhadap metabolit bakteri atau cedera jaringan dengan mengaktifkan sistem pertahanan tubuh. Peptidoglikan dan lipoprotein bakteri *Staphylococcus aureus* menyebabkan keluarnya produk pecahan hialuronan yang berikatan dengan *Toll Like Receptor* yang akan menyebabkan pengeluaran sinyal pro inflamasi untuk mengaktifkan sel imun serta merekrut neutrofil dan makrofag.²

Dalam pertahanannya dari ancaman tersebut, *Staphylococcus aureus* melakukan perlawanan dengan mengeluarkan molekul *CHIP* (*Chemotaxis Inhibitory Protein*) dan *EAP* (*Extracellular Adherence Protein*) yang berperan memblokir neutrofil mengenali kemotaktik dan mencegah pengikatan neutrofil ke *Intracellular Cell Adherence Molecule-1* (ICAM-1) untuk menghalangi terjadinya adhesi leukosit, diapedesis dan ekstrasvasasi dari aliran darah ke daerah terjadinya infeksi. Hal ini mengakibatkan bakteri *Staphylococcus aureus* tidak dapat difagosit oleh neutrofil sehingga menimbulkan kelainan pada kulit yang terinfeksi.²

2.2.5. Gambaran Klinis Infeksi *Staphylococcus aureus*

Infeksi *Staphylococcus aureus* lokal terlihat sebagai jerawat, infeksi folikel rambut atau abses. Umumnya didapati suatu reaksi inflamasi yang sangat nyeri dan mengalami supurasi sentral. Infeksi juga bisa terjadi akibat kontak langsung dengan suatu lesi, seperti infeksi sesudah tindakan bedah atau pascatrauma. Penyebaran bakteri dapat mengakibatkan terjadinya bakteremia, hematogen akut, meningitis, atau infeksi paru dengan gambaran klinis disfungsi organ serta supurasi fokal yang hebat. Keracunan makanan yang disebabkan oleh enterotoksin *Staphylococcus* ditandai dengan masa inkubasi yang pendek yaitu 1-8 jam dengan gejala-gejala berupa mual, muntah, diare berat, dan pemulihan yang cepat serta tidak terdapat demam.⁶

Pada kasus yang sangat berat dapat terjadi sindroma syok toksik dengan gejala-gejala antara lain demam tinggi secara tiba-tiba, muntah, diare, mialgia,

scarlatina serta gejala hipotensi dengan gagal jantung dan gagal ginjal. Kumpulan gejala ini umumnya timbul dalam 5 hari setelah awitan menstruasi pada wanita muda yang menggunakan tampon, namun juga dapat terjadi pada laki-laki maupun anak-anak yang terinfeksi *Staphylococcus* melalui luka.⁶

2.3. Mekanisme Kerja Antibiotik

Antibiotik adalah senyawa yang dipakai untuk mencegah pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Mekanisme kerja antibiotik dapat dibagi menjadi empat kategori, yaitu inhibisi sintesis dinding sel, inhibisi fungsi membrane sel, inhibisi sintesis protein, dan inhibisi sintesis asam nukleat. Inhibisi sintesis dinding sel bekerja dengan cara melisiskan enzim dinding sel dan menghambat pembentukannya sehingga mengakibatkan lisis sel. Contoh obat yang bekerja dengan cara inhibisi sintesis dinding sel adalah penisilin, sefalosporin, vankomisin, dan analog glikopeptida lainnya. Gangguan pada keutuhan fungsional membran sitoplasma menyebabkan substansi seluler yaitu makromolekul dan ion akan bergerak keluar dari sel yang kemudian mengakibatkan kerusakan dan kematian sel. Contoh obat yang bekerja dengan cara mengganggu keutuhan fungsional membran sitoplasma adalah amfoterisin B, kolistin, dan imidazole.²⁶

Inhibisi sintesis protein bekerja dengan cara mengganggu dan menghambat proses sintesis protein pada ribosom bakteri. Contoh obat yang bekerja dengan mekanisme ini adalah golongan aminoglikosida, kloramfenikol, makrolid, dan streptogramin. Inhibisi sintesis asam nukleat bekerja dengan cara menghambat asam deoksiribonukleat (DNA) griaase yang merupakan enzim topoisomerase yang berfungsi dalam replikasi dan perbaikan DNA. Contoh obat yang bekerja dengan mekanisme ini adalah golongan kuinolon, rifampin, trimetoprim, dan trimetreksat.²⁶

2.4. Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

2.4.1. Deskripsi Daun Belimbing Wuluh

Belimbing wuluh termasuk salah satu tumbuhan yang banyak tumbuh di sekitar rumah dan tumbuh liar di ladang ataupun hutan. Tanaman ini berbatang keras dan dapat mencapai ketinggian 10 meter. Belimbing wuluh adalah tumbuhan

berupa pohon kecil dengan bidang yang tidak terlalu besar dan memiliki garis tengah dengan ukuran 30 cm.²⁶⁻²⁷

Daun belimbing wuluh memiliki bentuk yang kecil dan memanjang. Daun belimbing wuluh juga mempunyai bentuk menyirip, tangkai daun yang pendek, berbentuk runcing, pangkal membulat, bagian tepi rata, serta panjang daun sekitar 2-10 cm dan lebar daun sekitar 1-3 cm. Bagian atas daun memiliki warna hijau gelap disertai bulu halus sedangkan bagian bawah memiliki warna yang lebih terang.²⁶⁻²⁷

2.4.2. Taksonomi Belimbing Wuluh

Kingdom : *Plantae*

Subkingdom : *Viridiplantae*

Divisi : *Tracheophyta*

Subdivisi : *Spermatophytina*

Kelas : *Magnoliopsida*

Ordo : *Oxalidales*

Famili : *Oxalidaceae*

Genus : *Averrhoa* L.

Spesies : *Averrhoa bilimbi* L.¹⁹



Gambar 2.2. Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L)²⁹

2.4.3. Kandungan Kimia Daun Belimbing Wuluh

Daun belimbing wuluh memiliki kandungan senyawa flavonoid, fenol, alkaloid, steroid, tanin, dan kumarin.³⁰ Senyawa fenol, steroid, dan flavonoid yang terkandung dalam belimbing wuluh berfungsi sebagai antimikroba.² Flavonoid dapat berperan sebagai antioksidan. Tumbuhan belimbing wuluh juga mengandung saponin, tannin, glikosida, kalsium oksalat, vitamin C, dan peroksidase.²⁹

2.4.4. Manfaat Daun Belimbing Wuluh

Daun belimbing wuluh mempunyai daya besar sebagai obat konvensional, sudah banyak dimanfaatkan sebagai pengobatan tradisional yaitu sebagai anti radang, anti batuk, antihipertensi, antiinfeksi, serta penyembuhan luka. Daun belimbing wuluh juga memiliki senyawa tannin yang berfungsi untuk mencegah pertumbuhan tumor.²⁹

Daun belimbing wuluh memiliki senyawa flavonoid yang dapat bertindak sebagai antioksidan dalam melawan radikal bebas. Flavonoid sebagai antioksidan bekerja dengan cara memperlambat pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dengan mencegah kerja enzim terkait pembentukan ROS serta mengoptimalkan regulasi dan proteksi antioksidan.³¹

2.4.5. Mekanisme Daun Belimbing Wuluh Sebagai Antibakteri

Daun belimbing wuluh menjadi antimikroba akibat memiliki komponen kimia aktif yaitu senyawa flavonoid, fenol dan steroid yang mempunyai aktivitas antibakteri.² Fenol beraksi dengan cara mengalami penguraian yang diikuti dengan penetrasi kedalam sel yang akan mengakibatkan denaturasi protein sehingga akan menghambat proses pembentukan dinding sel bakteri dan ketika kadar fenol tinggi dapat mengakibatkan koagulasi protein sel dan lisis pada membran sitoplasma.²

Flavonoid beraksi sebagai antimikroba akibat potensinya membentuk senyawa kompleks bersama protein ekstraseluler dan terlarut sehingga bisa merusak membran sel bakteri. Mekanisme flavonoid dalam mencegah pertumbuhan bakteri juga dapat dengan cara menghambat lapisan biofilm bakteri. Steroid dapat berhubungan dengan membran fosfolipid sel yang memiliki sifat permeabel dengan senyawa-senyawa lipofilik sehingga mengakibatkan penurunan ketahanan membran serta perubahan bentuk membran sel yang mengakibatkan sel rapuh dan lisis.³²

2.5. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar

Tikus adalah hewan percobaan yang sering digunakan dalam penelitian ilmiah. Tikus telah sering dipakai untuk penelitian karena umurnya singkat, biaya pemeliharaan tidak mahal, dan tidak terlalu sulit perawatannya. Tikus yang umum dipakai adalah tikus putih. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) juga dikenal dengan nama *Norway Rat*. Tikus memiliki masa hidup berkisar 2–3 tahun. Tikus putih galur wistar merupakan tikus yang paling umum dipakai dalam penelitian. Berat badan normal tikus jantan berumur 3 bulan mencapai 240 gram sedangkan betina mencapai 200 gram.³³⁻³⁵

2.6. Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu cara yang dilakukan untuk mendapatkan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan ataupun hewan dengan menggunakan pelarut yang sesuai dalam standar prosedur ekstraksi. Proses ekstraksi akan berakhir saat keseimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dan simplisia. Setelah proses ekstraksi berakhir, ampas padat dan pelarut dipisahkan melalui penyaringan.³⁶

Prosedur ekstraksi memiliki tujuan untuk memperoleh senyawa yang diinginkan dan menghilangkan komponen yang tidak diperlukan dari kulit buah dan tanaman obat menggunakan pelarut yang selektif. Metode yang dipakai dalam ekstraksi kulit buah dan tanaman obat adalah dengan cara dingin atau dapat disebut dengan maserasi.³⁷

Maserasi adalah metode penyarian sederhana dan paling sering digunakan. Maserasi dikerjakan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan memasuki dinding sel hingga masuk ke dalam ruang sel yang memiliki zat aktif. Zat aktif akan larut akibat adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif dalam sel dan diluar sel, sehingga larutan dipaksa untuk keluar. Hal itu terjadi secara terus menerus hingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Setelah proses tersebut berakhir, cairan penyari dipisahkan dari sampel dengan penyaring.³⁶

2.7. Luka

Luka merupakan suatu gambaran dari kerusakan jaringan ataupun terputusnya kontinuitas bentuk anatomi jaringan tubuh mulai dari lapisan epitel kulit sampai lapisan yang lebih dalam meliputi jaringan subkutis, lemak, otot, tulang, bersama dengan struktur lainnya yaitu tendon, pembuluh darah dan syaraf yang disebabkan oleh trauma, ruda paksa, ataupun trauma dari eksternal. Luka juga dapat diakibatkan kontak dengan sumber panas seperti bahan kimia, air panas, api, radiasi, dan listrik, lalu akibat dari hasil tindakan medis ataupun perubahan keadaan fisiologis.^{38,39}

Berdasarkan waktu dan proses pemulihannya, luka dapat digolongkan menjadi akut dan kronik. Luka akut ialah cedera jaringan yang dapat sembuh kembali layaknya kondisi normal dengan bekas luka yang sedikit dalam rentang waktu 8-12 minggu. Luka kronik ialah luka dengan proses penyembuhan yang lama, dengan waktu pemulihan lebih dari 12 minggu dan adakalanya dapat mengakibatkan kecacatan.³⁹

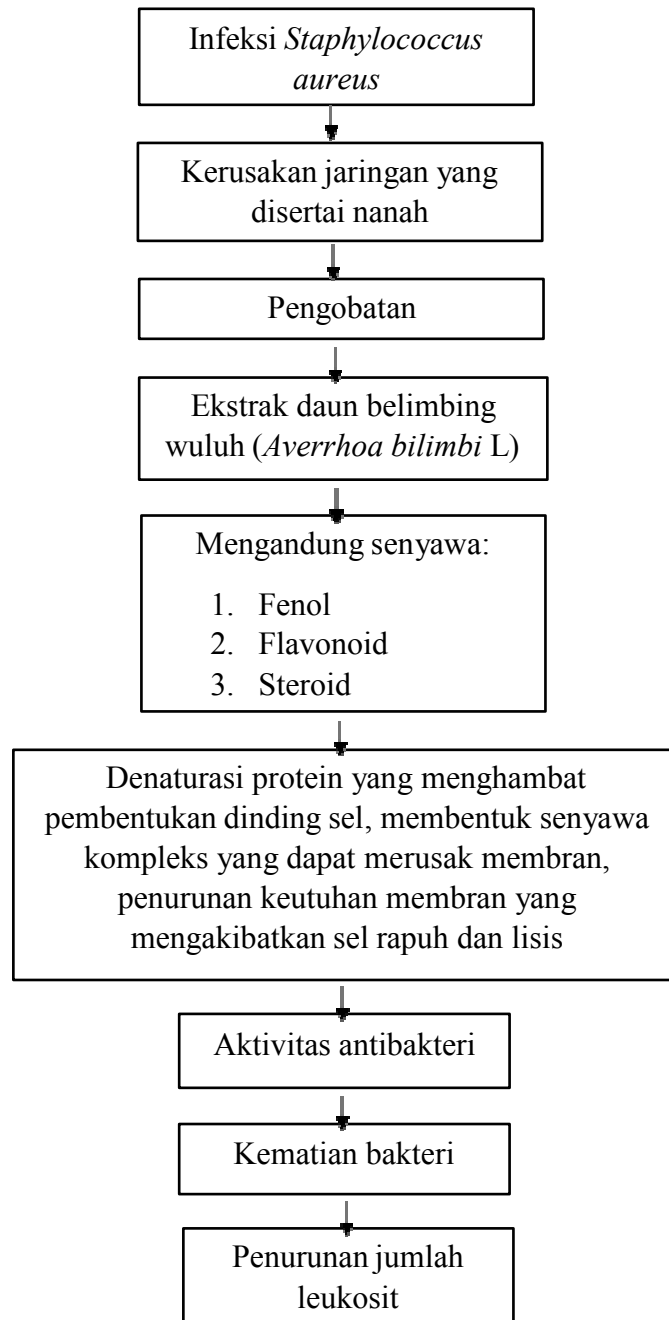
2.7.1. Pemulihan Luka

Pemulihan luka merupakan proses tubuh untuk memulihkan kerusakan dengan menciptakan struktur baru dan fungsional.¹⁰ Mekanisme penyembuhan luka dibagi menjadi lima tahap yaitu tahap hemostasis, tahap inflamasi, tahap migrasi, tahap proliferasi, dan tahap maturasi.^{38,40}

Tahap hemostasis merupakan langkah awal penyembuhan luka dengan pembebasan protein yang memiliki eksudat ke dalam luka yang mengakibatkan vasodilatasi dan pembebasan histamin dan serotonin. Pada fase ini trombosit dalam darah menciptakan bekuan serta fibrin yang ada dalam bekuan yang akan melekatkan kedua tepi luka. Selanjutnya, tahap inflamasi yang dimana terjadi edema, ekimosis, kemerahan, dan nyeri. Sel leukosit yang berada di sekitar luka akan memfagosit bakteri dan debris seluler sehingga merusak bekuan. Kemudian, masuk ke tahap migrasi dimana terjadi mobilitas sel epitel dan fibroblast pada tempat yang mengalami cedera untuk menggantikan jaringan yang rusak dan hilang.^{38,40}

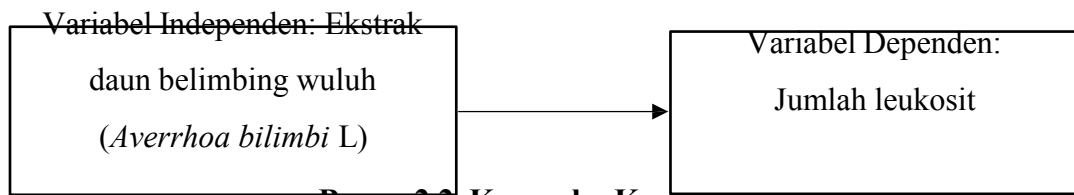
Tahap Proliferasi bersamaan dengan tahap migrasi dan proliferasi sel basal terjadi dalam waktu 2-3 hari. Pada tahap ini jaringan sehat yang berada di sekitar luka memberi darah, nutrisi, fibroblast, protein serta beberapa material lainnya untuk menciptakan jaringan granulasi yang lunak, memiliki warna merah muda, dan kaya vaskularisasi. Selanjutnya diakhiri dengan tahap maturasi dimana terjadi dalam waktu beberapa bulan sampai 2 tahun. Pada tahap ini fibroblast dalam jaringan granulasi menghasilkan kolagen yang akan menciptakan jaringan parut. Sel epitel yang berada di tepi luka akan memperbanyak diri dan bergerak ke daerah tengah luka untuk membentuk lapisan sel yang baru yang akan menggantikan lapisan yang telah dirusakkan.^{38,40}

2.8. Kerangka Teori



Bagan 2.1. Kerangka Teori

2.9. Kerangka Konsep



Bagan 2.2. Kerangka Konsep

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode rancangan *Post test with Control Group Design*.

$$X \rightarrow O_1$$

Keterangan:

X = Perlakuan

O₁ = Pengukuran setelah perlakuan

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1. Tempat Penelitian

Pembuatan ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dan pengambilan sampel darah hewan coba dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara. Pemeriksaan sampel darah hewan coba dilakukan di Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Sumatera Utara.

3.2.2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2022 sampai November 2022.

3.3. Populasi Penelitian

3.3.1. Populasi Target

Tikus putih wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang diperoleh dari Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.

3.3.2. Populasi Terjangkau

Tikus putih wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang diperoleh dari Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.

3.4. Sampel dan Penentuan Jumlah Sampel

3.4.1. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang memenuhi kriteria inklusi.

3.4.2. Penentuan Jumlah Sampel Tikus

Penentuan besar sampel dilakukan dengan penggunaan rumus *Federer*⁴¹:

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

Keterangan:

t = jumlah perlakuan yang akan diberikan

n = jumlah sampel per kelompok yang hendak dicari

Penelitian menggunakan 3 kelompok, maka jumlah sampel yang diperoleh dari perhitungan adalah sebagai berikut:

Rumus:

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

$$(3-1)(n-1) \geq 15$$

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

$$2n - 2 \geq 15$$

$$2n \geq 15 + 2$$

$$2n \geq 17$$

$$n \geq 17:2$$

$$n \geq 8,5 = 9$$

$$n \geq 9$$

Berdasarkan perhitungan diatas diperoleh bahwa masing-masing kelompok sampel menggunakan 9 ekor tikus putih wistar jantan (*Rattus norvegicus*). Jadi, jumlah sampel secara keseluruhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 27 ekor tikus putih wistar jantan (*Rattus norvegicus*).

3.5. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

3.5.1. Kriteria Inklusi

1. Tikus putih wistar jantan (*Rattus norvegicus*)
2. Tikus tampak sehat dan bergerak aktif
3. Usia tikus 2-3 bulan
4. Berat badan tikus putih wistar jantan 150-200 gram

3.5.2. Kriteria Eksklusi

1. Tikus memiliki kelainan anatomis
2. Tikus tampak sakit dan tampak tidak aktif
3. Tikus pernah digunakan sebagai hewan coba pada penelitian sebelumnya

3.6. Instrumen Penelitian

3.6.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: kandang hewan, oven pengering, blender, kertas aluminium foil, timbangan digital, pengaduk, kertas saring, gelas beaker, tabung erlenmeyer, sonde lambung, toples, masker, sarung tangan, kertas label, mikropipet, *rotary evaporator*, spuit, tabung sampel darah, tabung minum tikus, gunting bedah, *scalpel*, pisau cukur, dan pinset anatomis.

3.6.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: pakan dan minum tikus, ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), bakteri *Staphylococcus aureus*, aquabidest, etanol 70%, alkohol 70%, dan lidocaine 2%.

3.7. Prosedur Kerja Penelitian

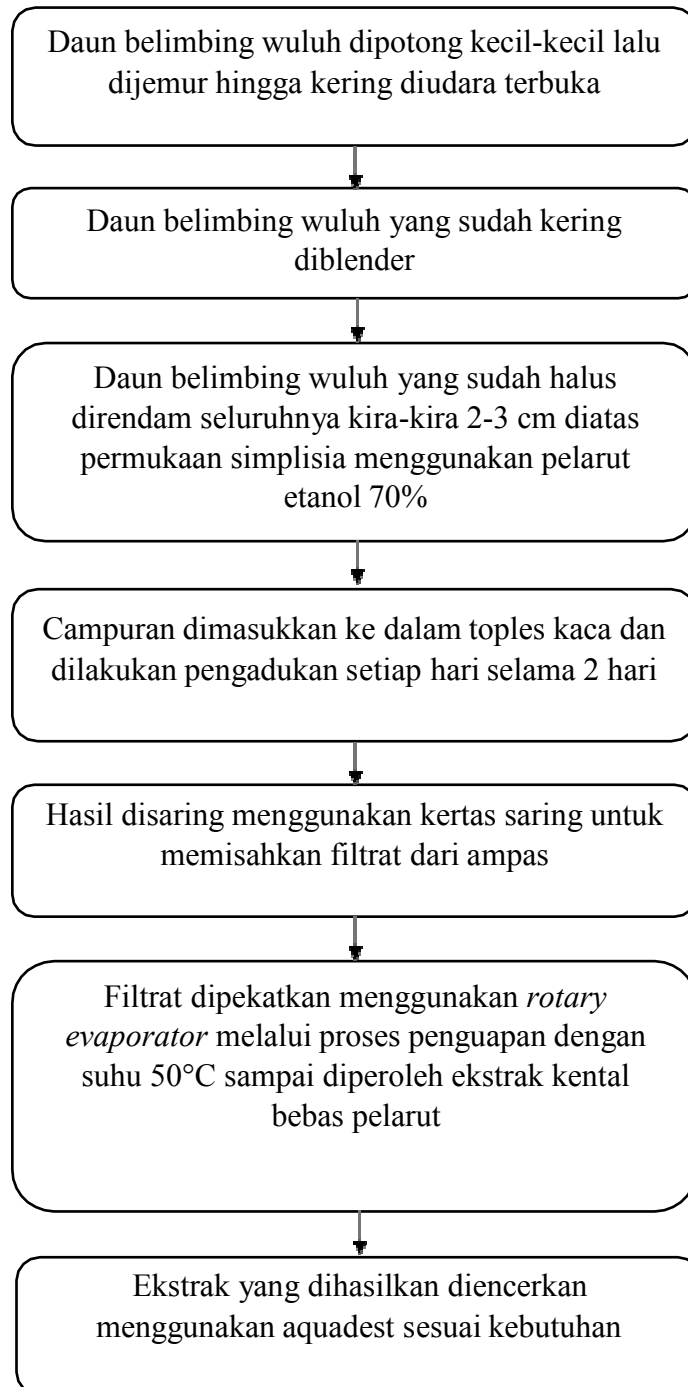
3.7.1. Persiapan dan Etik Penelitian

Peneliti meminta izin dengan menggunakan *ethical clearance* dan peneliti meminta izin permohonan pelaksanaan penelitian yang diajukan pada institusi Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen.

3.7.2. Persiapan Hewan Uji

Hewan uji diadaptasi terlebih dahulu selama 7 hari dan diberi pakan standar. Hewan uji yang dipakai sebanyak 27 ekor tikus dan tikus dikelompokkan menjadi 3 kelompok masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor. 2 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol. Setiap kelompok dipisahkan dalam kandang yang berbeda.

3.7.3. Diagram Pembuatan Ekstrak



3.7.4. Perhitungan dosis ekstrak daun belimbing wuluh (*Avverhoa bilimbi L*)

1. Dosis 100 mg/kgBB = $100 \text{ mg} \times 186 \text{ g (BB rata-rata tikus)} / 1000 \text{ g}$
 $= 18,6 \text{ mg/ekor} = 0,0186 \text{ g/ekor} \times 9$
 $= 0,1674 \text{ g/hari} + 18 \text{ ml aquabidest.}$
2. Dosis 150 mg/kgBB = $150 \text{ mg} \times 186 \text{ g (BB rata-rata tikus)} / 1000 \text{ g}$
 $= 27,9 \text{ mg/ekor} = 0,0279 \text{ g/ekor} \times 9$
 $= 0,2511 \text{ g/hari} + 18 \text{ ml aquabidest.}^2$

3.7.5. Pembuatan Luka Pada Tikus

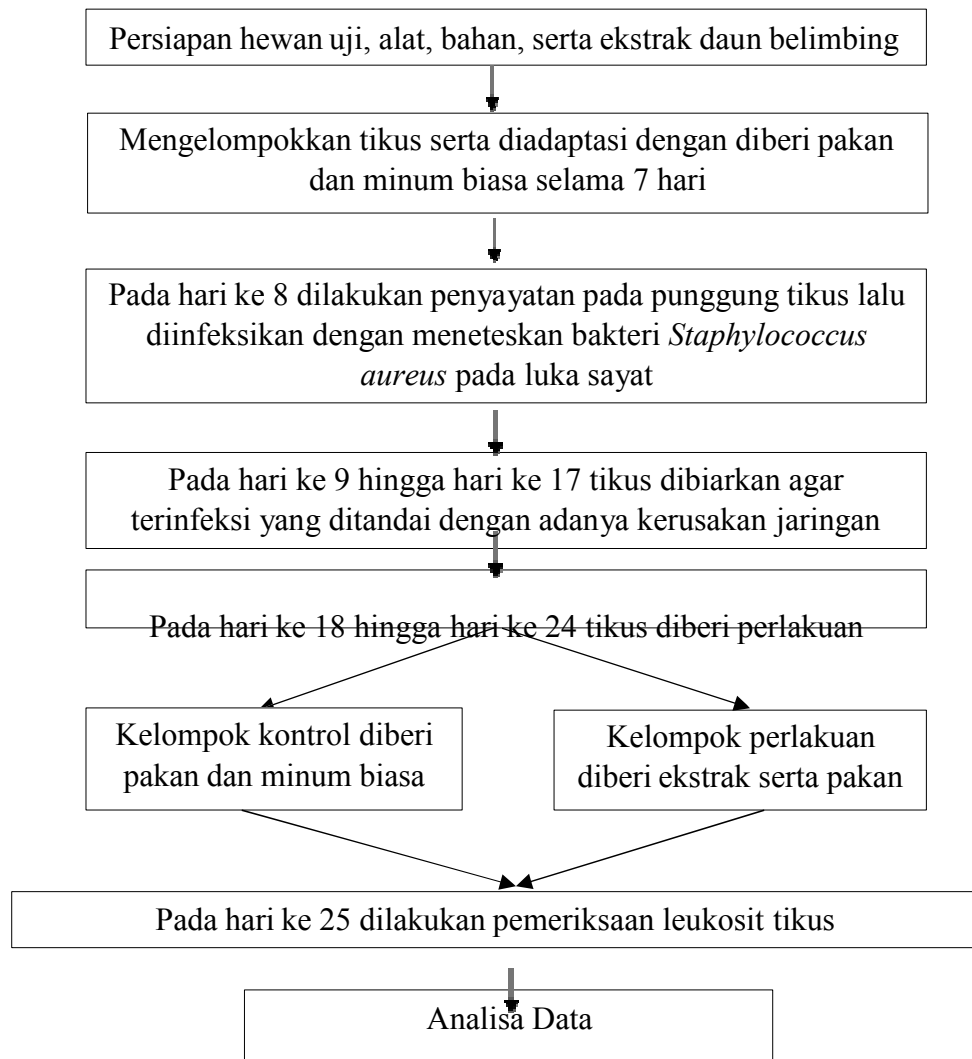
1. Bulu pada bagian punggung tikus dicukur dengan diameter $\pm 3 \text{ cm}$.
2. Bagian punggung dibersihkan menggunakan alkohol 70%.
3. Tikus dianastesi menggunakan lidocaine 0,1 mL melalui jalur intra muskular.
4. Dilakukan penyayatan dengan panjang 2 cm dan kedalaman sampai dermis menggunakan *scalpel* steril No.11.
5. Daerah luka dibersihkan dengan menggunakan NaCl 0,9%.
6. Tiap luka kemudian ditetesi dengan suspensi dengan menggunakan mikropipet bakteri sebanyak 0,1 mL.^{42,43}

3.7.6. Pelaksanaan Percobaan

1. Tikus putih *Rattus norvegicus* sejumlah 27 ekor dibagi menjadi 3 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor. Kelompok I merupakan kelompok kontrol yang hanya diberi pakan biasa, tanpa diberikan ekstrak daun belimbing wuluh. Kelompok II merupakan kelompok yang diberi ekstrak daun belimbing wuluh dengan dosis 100 mg/KgBB/hari. Kelompok III merupakan kelompok yang diberi ekstrak daun belimbing wuluh dengan dosis 150 mg/KgBB/hari.
2. Sebelum dilakukan percobaan, tikus diadaptasi dahulu selama 7 hari.
3. Pada hari ke-8, semua kelompok tikus diinfeksi dengan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan dibiarkan selama 9 hari agar mengalami infeksi.
4. Setelah 9 hari diinfeksi (pada hari ke-18 sampai hari ke-24), tikus diberi perlakuan sesuai kelompok, selama 7 hari.

5. Setelah 7 hari diberikan perlakuan sesuai kelompok (pada hari ke-25), dilakukan pengambilan darah tikus melalui jantung dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi.
6. Kemudian dilakukan pemeriksaan jumlah leukosit tikus di Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Sumatera Utara.

3.8. Diagram Alur Penelitian



3.9. Identifikasi Variabel

3.9.1. Variabel Independen

Variabel independen ialah ekstrak daun belimbing wuluh.

3.9.2. Variabel Dependen

Variabel dependen ialah jumlah leukosit tikus putih.

3.10. Definisi Operasional

Tabel 3.1. Definisi operasional

No	Variabel	Definisi	Alat	Hasil	Skala
			Ukur	Ukur	Ukur
1.	Ekstrak Daun Belimbing Wuluh	Ekstrak yang dihasilkan dari proses ekstraksi daun belimbing wuluh dengan metode maserasi.	Timbangan digital	Dosis ekstrak 100 mg/KgBB dan 150 mg/KgBB	Rasio
2.	Leukosit	Jumlah leukosit dalam sampel darah tikus yang diperoleh dari jantung.	Analisis hematologi otomatis (<i>automatic hematology analyzer</i>)	Nilai normal: 2000 - 10.000/m L. ⁴⁴	Rasio

3.11. Analisa Data

Data hasil penelitian ini diolah dengan beberapa tahap secara komputerisasi. Data dianalisa dengan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui bagaimana sebaran distribusi data dan dilanjutkan uji homogenitas untuk mengetahui data memiliki variansi yang sama. Pada uji normalitas dan homogenitas didapatkan data homogen dan berdistribusi normal maka data dilanjutkan dengan uji *one way ANOVA*.