

**PERBANDINGAN EFEKTIVITAS SALEP DAN GEL EKSTRAK BUNGA
CALENDULA OFFICINALIS TERHADAP KADAR IL-6
Studi Eksperimental pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar
dengan Luka Sayat**

Skripsi

Untuk memenuhi Sebagian persyaratan
mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Disusun Oleh :

Bilqis Safina Tunnaja Zahro
30102100040

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
2025**

SKRIPSI
PERBANDINGAN EFEKTIVITAS SALEP DAN GEL EKSTRAK BUNGA
CALENDULA OFFICINALIS TERHADAP KADAR IL-6
Studi Eksperimental pada Tikus Putih Jantan Galur wistar dengan Luka
Sayat

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :

Bilqis Safina Tunnaja Zahro

30102100040

Telah dipertahakan di Dewan Penguji
Pada tanggal 16 April 2025
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

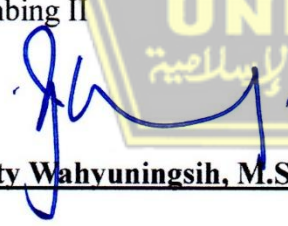
Pembimbing I

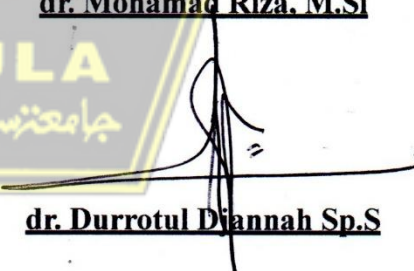
Anggota Tim Penguji


Dr. dr. Hadi Sarosa, M.Kes


dr. Mohamad Riza, M.Si

Pembimbing II


dr. Hesty Wahyuningsih, M.Si.Med


dr. Durrotul Diannah Sp.S

Semarang, 16 April 2025

Mengetahui,

Fakultas Kedokteran Universitas

Islam Sultan Agung

Dekan,



Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF..SH.

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama: Bilqis Safina Tunnaja Zahro

NIM: 30102100040

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

“PERBANDINGAN EFEKTIVITAS SALEP DAN GEL EKSTRAK BUNGA

***CALENDULA OFFICINALIS* TERHADAP KADAR IL-6 (Studi**

Eksperimental Terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar

Model Luka Sayat)”

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar skripsi orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.

Semarang, 16 April 2025

Yang Menyatakan,



Bilqis Safina Tunnaja Zahro

PRAKATA

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillahirrabbilalamin, puji syukur kehadiran Allah SWT atas semua anugerah dan Rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“PERBANDINGAN EFEKTIVITAS SALEP DAN GEL EKSTRAK BUNGA CALENDULA OFFICINALIS TERHADAP KADAR IL-6 Studi Eksperimental Terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar Model Luka Sayat”** ini dapat terselesaikan.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan banyak terima kasih kepada:

1. Dr .dr. Setyo Trisnadi, Sp.KF.,S.H., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Dr. dr. Hadi Sarosa, M.Kes dan dr. Hesty Wahyuningsih, M.Si.Med selaku dosen pembimbing I dan II yang telah dengan sabar meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis hingga terselesaikan skripsi ini.
3. dr. Mohamad Riza, M.Si dan dr. Durrotul Djannah Sp.S selaku dosen penguji yang telah dengan sabar meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis hingga terselesaikan skripsi ini.

4. Dr. dr. Susilorini, M.Si.Med Sp.PA selaku dosen penelitian yang telah meluangkan waktu dan membantu penulis sehingga dapat terselesaikan penelitian ini.
5. Ayah dan Ibunda penulis Burhanuddin dan Zulava Anis Suryanti terima kasih atas segala pengorbanan, dukungan, semangat, perhatian dan doa luar biasa yang tidak pernah tertandingi, mendidik dan membesarkan penulis dalam limpahan kasih sayang.
6. Kepada kakek dan nenek penulis terima kasih atas doa dan cinta kasihmu sudah mengantarkan penulis bisa menyelesaikan sarjana kedokteran sesuai dengan mimpi kalian.
7. Saudara kandung penulis Mutia Qurrota'aini Zahra dan Queensa Humaira Azzahra terimakasih sudah memberikan dukungan kepada penulis.
8. Teman penulis Farhan Husni Salim yang tak kalah penting kehadirannya terima kasih sudah memberikan dukungan, saran dan doa selama penyusunan skripsi ini.
9. Sahabat penulis selama perkuliahan Ridzwa Daimah, Nabila H. Chamila, Aulia Naifah, Fadiya Haya terima kasih telah menemani kegiatan penulis selama masa perkuliahan.

Sebagai akhir kata dari penulis, penulis hanya bisa berharap semoga Skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb

Semarang, 16 April 2025

Bilqis Safina Tunnaja Zahro

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR SINGKATAN	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1. Tujuan Umum.....	3
1.3.2. Tujuan Khusus.....	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1. Manfaat Ilmiah	4
1.4.2. Manfaat Praktis.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. <i>Interleukin-6</i>	5
2.1.1. Definisi	5
2.1.2. Fungsi Biologi	6
2.1.3. Hubungan dengan Inflamasi.....	7
2.1.4. Faktor yang mempengaruhi.....	8
2.2. Bunga <i>Calendula</i>	9
2.2.1. Definisi	9
2.2.2. Taksonomi	9
2.2.3. Morfologi.....	10

2.2.4. Kandungan Senyawa dan Efek Farmakologis	10
2.3. Obat Sediaan Topikal	11
2.3.1. Definisi	11
2.3.2. Salep	12
2.3.3. Gel	12
2.4. Luka.....	13
2.4.1. Definisi	13
2.4.2. Klasifikasi Luka.....	13
2.4.3. Fase Inflamasi pada Penyembuhan Luka	16
2.5. Hubungan Bunga <i>Calendula</i> terhadap kadar IL-6	17
2.6. Kerangka Teori	19
2.7. Kerangka Konsep	19
2.8. Hipotesis.....	19
BAB III METODE PENELITIAN.....	20
3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	20
3.2. Variabel dan Definisi Operasional.....	20
3.2.1. Variabel Penelitian.....	20
3.2.2. Definisi Operasional.....	20
3.3. Populasi dan Sampel Penelitian	21
3.3.1. Populasi Penelitian	21
3.3.2. Sampel Penelitian	22
3.4. Alat dan Bahan Penelitian	23
3.4.1. Alat Penelitian	23
3.4.2. Bahan.....	24
3.5. Cara Penelitian	24
3.5.1. Persiapan.....	24
3.5.2. Pembuatan Salep Ekstrak Bunga <i>Calendula</i>	24
3.5.3. Pembuatan Gel Ekstrak Bunga <i>Calendula</i>	25
3.5.4. Dosis Penelitian	25
3.5.5. Pemberian Luka Sayat.....	26
3.5.6. Pengambilan Jaringan Luka Sayat.....	26

3.5.7. Pembuatan Sediaan Histologi IHC	27
3.5.8. Prosedur Penelitian	29
3.5.9. Pemberian Perlakuan	29
3.6. Alur Penelitian.....	31
3.7. Tempat dan Waktu penelitian	32
3.8. Analisis Hasil	32
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	33
4.1. Hasil Penelitian	33
4.2. Hasil analisis kadar IL-6	34
4.3. Pembahasan.....	36
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	41
5.1. Kesimpulan.....	41
5.2. Saran.....	42
DAFTAR PUSTAKA.....	43
LAMPIRAN.....	46



DAFTAR SINGKATAN

<i>BSF-2</i>	= <i>B-cell Stimulatory Factor 2</i>
<i>CDC</i>	= <i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
<i>COX-2</i>	= <i>Cyclooxygenase-2</i>
<i>CRP – C</i>	= <i>Reactive Protein</i>
<i>EPMS</i>	= <i>etil p-metoksisinamat</i>
<i>IFN-γ</i>	= <i>Interferon-gamma</i>
<i>ICAM</i>	= <i>Intercellular Adhesion Molecule</i>
<i>IHC</i>	= <i>Immunohistochemistry</i>
<i>IL-1β</i>	= <i>Interleukin-1 beta</i>
<i>IL-6</i>	= <i>Interleukin-6</i>
<i>MCP-1</i>	= <i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i>
<i>NaCl</i>	= <i>Natrium Klorida</i>
<i>NF-κB</i>	= <i>Nuclear Factor-kappa Beta</i>
<i>SAA</i>	= <i>Serum Amyloid A</i>
<i>CD4+</i>	= <i>Cluster of Differentiation 4 T cell</i>
<i>TGF</i>	= <i>Transforming Growth Factor</i>
<i>Th17</i>	= <i>T helper 17</i>
<i>TNF-α</i>	= <i>Tumor Necrosis Factor-alpha</i>

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Bunga Calendula (<i>Calendula officinalis</i>)	10
Gambar 2.2.	Kerangka Teori	19
Gambar 2.3.	Kerangka Konsep	19
Gambar 3.1.	Alur Penelitian.....	31
Gambar 4.1.	Panah hijau menunjukkan Ekspresi IL-6 yang positif pada sitoplasma sel fibroblas, endotel, sel polimorfonuklear dan sel epitel. Ekspresi positif ditunjukkan oleh warna kecoklatan	34
Gambar 4.2.	Rerata kadar IL-6 antar kelompok.....	35



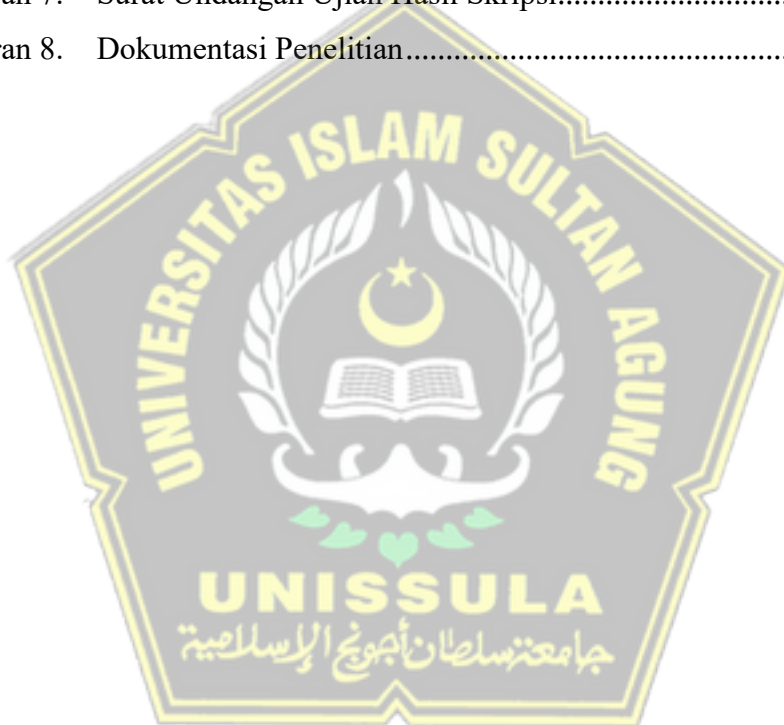
DAFTAR TABEL

Tabel 4.1.	Hasil uji normalitas, homogenitas, dan uji beda rerata kadar IL-6 antar kelompok	35
Tabel 4.2.	Hasil Uji <i>Post Hoc Tamhane's</i>	36



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Hasil Data Penelitian	46
Lampiran 2.	Hasil Analisis Rerata Kadar IL-6	48
Lampiran 3.	Hasil Analisis Normalitas, Homogenitas, dan <i>One Way Anova</i>	50
Lampiran 4.	Surat Ijin Penelitian	52
Lampiran 5.	<i>Ethical Clereance</i>	53
Lampiran 6.	Surat Bebas Laboratorium.....	54
Lampiran 7.	Surat Undangan Ujian Hasil Skripsi.....	56
Lampiran 8.	Dokumentasi Penelitian.....	58



INTISARI

Proses penyembuhan luka dapat dipengaruhi oleh tingkat peradangan. Salah satu mediator utama dalam proses peradangan adalah *Interleukin-6* (IL-6) yang berperan penting dalam respon imun terhadap cedera. Penanganan luka sayat umumnya dilakukan dengan penggunaan obat topikal karena dapat diaplikasikan langsung pada area luka dan memiliki efek samping yang lebih rendah karena minim penyerapan sistemik. Tujuan dari penelitian ini mengetahui perbedaan efektivitas antara pemberian salep ekstrak bunga *calendula* dan gel ekstrak bunga *calendula* terhadap kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar dengan luka sayat.

Jenis penelitian eksperimental dengan *rancangan post test only control group design* dengan sampel 25 ekor tikus jantan galur wistar, dibagi menjadi 5 kelompok secara acak. K1 (kelompok sehat), K2 (kelompok kontrol negatif diberi luka sayat), K3 (kelompok kontrol positif diberi hidrokortison 1%), K4 (kelompok perlakuan 1 diberi salep ekstrak *calendula* 10%), K5 (kelompok perlakuan 2 diberi gel ekstrak *calendula* 10%). Setelah itu dilakukan pengambilan sampel jaringan dan dilakukan pemeriksaan kadar IL-6 dengan preparat parafin pewarnaan IHC. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji normalitas, homogenitas, *One Way Anova*, dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tamhane's*.

Rerata kadar IL-6 pada K1 = $2,92 \pm 1,758$ pg/mL ; K2 = $38,2 \pm 12,34$ pg/mL ; K3 = $10,08 \pm 5,285$ pg/mL ; K4 = $28,6 \pm 9,206$ pg/mL ; K5 = $11,28 \pm 3,269$ pg/mL. Uji *One Way Anova* didapatkan perbedaan pada semua kelompok ($p < 0,001$; $p < 0,05$).

Pemberian gel ekstrak *calendula* 10% lebih efektif menurunkan kadar IL-6 dari pada salep ekstrak *calendula* 10%.

Kata kunci: Salep, Gel, *Calendula*, IL-6

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Luka adalah kerusakan kulit akibat hilangnya kontinuitas jaringan epitel dengan atau tanpa kerusakan jaringan lain seperti otot, tulang dan saraf (Wintoko & Yadika, 2020). Proses penyembuhan luka terdiri dari empat fase yaitu fase hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase maturasi (*remodeling*) (Primadina *et al.*, 2019). Proses penyembuhan luka dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, salah satunya adalah tingkat peradangan. Salah satu mediator utama dalam proses peradangan adalah *Interleukin-6* (IL-6) yang berperan penting dalam respon imun terhadap cedera (Tanaka *et al.*, 2014). Masalah peradangan yang berlarut larut akibat peningkatan IL-6 dapat memperlambat proses penyembuhan luka dan meningkatkan risiko komplikasi, seperti kerusakan sel dan jaringan dan memperburuk jaringan parut (Zhao *et al.*, 2016). Untuk mempercepat penyembuhan dan mengurangi risiko komplikasi, dibutuhkan terapi topikal yang tidak hanya bersifat protektif tetapi juga mampu menekan inflamasi secara efektif. Salah satu bahan alam yang bisa digunakan adalah ekstrak bunga *Calendula officinalis* yang memiliki sifat antiinflamasi dan regeneratif (Parente *et al.*, 2012). Namun demikian, efektivitas *Calendula officinalis* sangat bergantung pada bentuk sediaan yang digunakan dalam menurunkan kadar IL-6 pada luka sayat.

Calendula officinalis adalah spesies tumbuhan yang memiliki sifat anti-inflamasi karena terdapat suatu kandungan yang dinamakan Flavonoid. Flavonoid dikenal karena memiliki kandungan anti-inflamasi dan anti oksidan. *Calendula officinalis* dapat menghambat sitokin pro-inflamasi seperti IL-1 β , IL-6, TNF- α , and IFN- γ yang terlibat dalam respon inflamasi (Silva *et al.*, VVV2021). Penelitian lain memperlihatkan bahwa sediaan gel *Calendula officinalis* digunakan sebagai obat untuk menyembuhkan luka dan mengatasi peradangan dengan menunjukkan lebih sedikit jaringan nekrotik dengan lebih banyak fibroblast (Patil *et al.*, 2022). Penelitian lain menunjukkan bahwa salep *calendula* dengan konsentrasi 10% memberikan hasil yang lebih signifikan dalam mempercepat penyembuhan luka, yang ditandai dengan peningkatan kekuatan tarik luka dan percepatan epitelisasi (Khotimah *et al.*, 2023).

Efektivitas ekstrak *Calendula officinalis* sangat bergantung pada bentuk sediaan yang digunakan. Dua bentuk topical yang umum adalah salep dan gel, masing masing memiliki karakteristik fisik dan bioavailabilitas yang berbeda. Salep dengan basis lemak cenderung memberikan perlindungan lebih lama pada luka, penyerapan zat aktifnya lambat namun memberikan efek yang lebih tahan lama. Sementara gel dengan basis air menawarkan sensasi dingin, penyerapan zat aktif cepat sehingga efek lebih cepat muncul (Sry, 2015). Studi yang dilakukan oleh beberapa peneliti menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak bunga ini dalam berbagai sediaan dapat membantu mengurangi inflamasi dan meningkatkan regenerasi jaringan. Namun, studi

yang secara khusus membandingkan efektivitas antara salep dan gel yang mengandung ekstrak bunga *Calendula officinalis* dalam konteks penurunan kadar IL-6 pada luka sayat masih sangat jarang dilakukan.

Berdasarkan uraian berikut, perlu diketahui bentuk sediaan topical apa yang lebih efektif untuk penurunan IL- 6 pada luka sayat. Oleh karena itu, penelitian ini akan membandingkan efektivitas sediaan salep dan gel dari ekstrak bunga *Calendula officinalis* terhadap IL-6 dalam penyembuhan luka sayat pada tikus putih jantan galur wistar.

1.2. Rumusan Masalah

“Apakah terdapat perbedaan efektivitas antara pemberian salep ekstrak bunga *calendula* dan gel ekstrak bunga *calendula* terhadap kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar dengan luka sayat?”

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui perbandingan efektivitas salep dan gel yang mengandung ekstrak bunga *calendula* terhadap kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar dengan luka sayat.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mengetahui rerata kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar yang diberikan pakan standar.
2. Mengetahui rerata kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar dengan Luka Sayat yang diberikan pakan standar.

3. Mengetahui rerata kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar dengan Luka Sayat yang diberikan pakan standar dan salep Hidrokortison 1%.
4. Mengetahui rerata kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar dengan Luka Sayat yang diberikan pakan standar dan salep ekstrak bunga *Calendula officinalis* 10%.
5. Mengetahui rerata kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar dengan Luka Sayat yang diberikan pakan standar dan gel ekstrak bunga *Calendula officinalis* 10%.
6. Mengetahui perbandingan rerata kadar IL-6 pada masing masing kelompok.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Ilmiah

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang efektivitas bentuk sediaan topical terutama salep dan gel dari *Calendula officinalis*, khususnya dalam menurunkan IL-6.

1.4.2. Manfaat Praktis

Dapat memberikan informasi dan edukasi kepada masyarakat tentang efektivitas salep dan gel *Calendula officinalis* sebagai terapi bahan alam dan pilihan sediaan yang optimal dalam upaya penyembuhan luka sayat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Interleukin-6*

2.1.1. Definisi

Interleukin-6 merupakan salah satu famili interleukin yang terdiri dari rantai polipeptida sitokin dengan struktur 4 α -heliks dan memiliki berat molekul 21 hingga 28 kDa. IL-6 dilepaskan oleh sel T dan makrofag yang diaktifkan selama respon fase akut setelah cedera. Produksi IL-6 yang berlebihan dan berkepanjangan dikaitkan dengan berbagai penyakit inflamasi (Narazaki & Kishimoto, 2018).

IL-6 merupakan sitokin proinflamasi pleiotropic dengan berbagai aktivitas biologis dalam pengaturan kekebalan tubuh, inflamasi, respon imun dan hematopoiesis. Awalnya fungsi IL-6 dipelajari dan diberi nama yang berbeda-beda sesuai dengan aktivitas biologinya. Salah satu contoh yaitu nama faktor stimulasi sel B 2 (BSF-2) didasarkan pada kemampuan untuk menginduksi diferensiasi sel B yang diaktifkan menjadi sel penghasil antibodi (Ab). Namun, ketika cDNA BSF-2 berhasil di kloning pada tahun 1986, ditemukan bahwa molekul yang dipelajari dengan nama berbeda-beda ini identic serta menghasilkan nama tunggal yaitu IL-6. IL-6 menghubungkan reaksi sistemik terhadap stimulus inflamasi, yaitu demam, leukositosis, dan pelepasan protein fase akut hati seperti CRP, fibrinogen, dan ferritin (Tanaka *et al.*, 2014).

2.1.2. Fungsi Biologi

Fungsi IL-6 yaitu :

1. IL-6 menginduksi sintesis protein fase akut di hati seperti *C reaktif protein* (CRP), komplemen C3, fibrinogen, trombopoietin, serum amyloid A (SAA) dan hepsidin serta IL-6 menghambat produksi albumin.
2. IL-6 memainkan peran penting dalam respon imun yang didapat dengan merangsang produksi antibodi dan menginduksi diferensiasi sel T CD4⁺ menjadi sel T efektor.
3. IL-6 mengaktifkan sel endotel vaskular untuk menghasilkan mediator proinflamasi seperti IL-8, *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1), *intercellular adhesion molecule* (ICAM)-1, dan reseptor C5a untuk menginduksi pembongkaran kadherin endotel vaskular yang berpotensi meningkatkan peradangan.
4. Kombinasi IL-6 dengan TGF beta menghasilkan diferensiasi sel T helper (Th)17, juga IL-6 menghambat diferensiasi regulatory sel T yang diinduksi TGF beta. Menyebabkan peningkatan regulasi keseimbangan Th17 atau Treg yang dimana secara patologis terlibat dalam perkembangan penyakit autoimun dan inflamasi kronik.

Secara keseluruhan IL-6 memainkan peran penting dalam pengenalan respon terhadap inflamasi, infeksi, dan kerusakan

jaringan, menjadikannya biomarker penting untuk memantau dan mendiagnosis berbagai kondisi (Tanaka *et al.*, 2018).

2.1.3. Hubungan dengan Inflamasi

Inflamasi adalah respon protektif lokal yang dapat terjadi karena kerusakan jaringan. Terdapat 5 tanda dari inflamasi yaitu kalor (panas), dolor (nyeri), rubor (merah), tumor (pembengkakan) dan *function laesa* (penurunan fungsi). Inflamasi diinduksi mediator kimia yang dihasilkan oleh sel inang untuk respon terhadap rangsangan. Inflamasi dimulai ketika mikroorganisme menyerang jaringan tubuh dan terjadi kerusakan jaringan sehingga menyebabkan infeksi atau kerusakan jaringan. Hal ini akan dikenali oleh sel-sel residen seperti makrofag, sel dendritik, sel mast, dan sel-sel lain didalam jaringan. Sel-sel ini akan melepas mediator inflamasi yang memicu respon vaskular dan seluler. Mediator inflamasi yang dihasilkan dari protein plasma sebagai respon terhadap mikroorganisme dan jaringan yang rusak.

Setelah IL-6 disintesis dalam lesi local ditahap awal inflamasi, IL-6 bergerak ke hepar melalui aliran darah yang diikuti induksi dari protein fase akut seperti CRP, *serum amyloid A*, haptoglobin, *al-antichymotrypsin* dan fibrinogen. Disisi lain, IL-6 mengurangi produksi albumin, fibronectin dan transferrin. Mediator inflamasi ini akan menyebabkan vasodilatasi, peningkatan permeabilitas pembuluh darah, dan rekrutmen leukosit yang bersirkulasi ke lokasi inflamasi.

Ketika konsentrasi tingkat tinggi SAA bertahan untuk waktu yang lama, mengarah ke komplikasi beberapa inflamasi kronis penyakit melalui generasi amyloid A amyloidosis. Sebelumnya sudah disebutkan bahwa IL-6 menginduksi diferensiasi sel B yang diaktifkan menjadi sel plasma penghasil antibodi, sehingga oversintesis terus menerus dari IL-6 menghasilkan *hypergammaglobulinemia* dan produksi autoantibodi. IL-6 memberikan berbagai efek pada hepatosit dan limfosit dan sering terdeteksi pada penyakit inflamasi kronis. IL-6 merupakan sitokin kunci dalam perjalanan inflamasi. IL-6 di produksi sebagai respon terhadap kerusakan atau infeksi, berperan dalam memodulasi dan memperkuat respon inflamasi, serta membantu proses penyembuhan. Namun jika tidak diatur dengan baik, IL-6 dapat berkontribusi pada inflamasi kronis dan berbagai kondisi penyakit jangka panjang. (Tanaka *et al.*, 2014).

2.1.4. Faktor yang mempengaruhi

Kadar IL-6 dalam tubuh dapat meningkat atau menurun karena beberapa faktor, yaitu infeksi dan patogen, penyakit autoimun, kerusakan jaringan dan trauma (luka atau operasi), gaya hidup (obesitas), kondisi inflamasi kronis (penyakit jantung koroner, DM tipe 2, sindrom metabolik).

2.2. Bunga *Calendula*

2.2.1. Definisi

Bunga *Calendula* (*Calendula officinalis*) yang juga dikenal sebagai marigold, merupakan tanaman berasal dari daerah mediterania yang termasuk dalam famili Asteraceae. *Calendula* memiliki karakteristik bunga berwarna oranye cerah. Meskipun tanaman ini bukan asli Indonesia, bunga *calendula* dapat ditemukan tumbuh di beberapa daerah dengan iklim yang sejuk dan lembab, terutama di dataran tinggi. *Calendula* memiliki banyak nama lain yang mungkin berbeda di beberapa negara, misalnya *Marigold Afrika*, *Calendula* dan *Zergul* di India, *Butterblume* di Jerman, *Chin Chan Ts'ao* di Cina, *Galbinele* di Romania, dan *Ringblomma* di Swedia (Givol *et al.*, 2019).

2.2.2. Taksonomi

Taksonomi Bunga *calendula* (*Calendula officinalis*) menurut (Vaibhavi Jakheta 2021) adalah sebagai berikut :

<i>Kingdom</i>	: Plantae
<i>Divisi</i>	: Streptophyta
<i>Kelas</i>	: Equisetopsida
<i>Ordo</i>	: Asterales
<i>Famili</i>	: Asteraceae
<i>Genus</i>	: <i>Calendula</i>
<i>Spesies</i>	: <i>Calendula officinalis</i> L.

2.2.3. Morfologi

Bunga *calendula* (*Calendula officinalis*) mempunyai batang berbulu dan padat. Daunnya beraroma harum, berwarna hijau, berbentuk seperti tombak hingga lonjong, berukuran sekitar 10-20 cm dan lebar 1-4 cm. Venasi daun menyirip, tepi daun bergerigi (serrate) atau bergigi (toothed), ujung daun runcing (acute), tumpul (obtuse). Bunga *Calendula* seperti ester, dengan kepala bunga marginal berwarna kuning cerah hingga jingga tua. Mahkota (corolla) lonjong spatulate, mahkota bunga cakram membulat. Panjangnya 1,5-2,5 cm dengan diameter 4-7 mm (Vaibhavi Jakheta¹, 2021).



Gambar 2.1. Bunga Calendula (*Calendula officinalis*)

2.2.4. Kandungan Senyawa dan Efek Farmakologis

Menurut Ashwlayan *et al.*, (2018) Bunga *Calendula* mengandung beberapa senyawa kimia diantaranya triterpenoid, flavonoid, karotenoid, saponin, koumarins, quinones, volatile oil, dan

asam amino. Beberapa diantaranya juga dianggap memiliki aktivitas sebagai :

- a) Aktivita anti mikroba
- b) Aktivitas anti inflamasi
- c) Aktivitas Anti oksidan
- d) Aktivitas sitotoksik
- e) Penyembuhan luka dan aktivitas angiogenesis
- f) Aktivitas anti diabetic dan anti hyperlipidemic
- g) Aktivitas hepatoprotective

2.3. Obat Sediaan Topikal

2.3.1. Definisi

Bentuk obat dalam sediaan topikal digunakan pada permukaan tubuh luar yang sebagian besar diterapkan pada kulit. Tujuan dari terapi obat topikal yaitu mencapai penetrasi obat yang baik ke dalam lapisan kulit. Formulasi yang digunakan untuk membawa atau mengoleskan obat ke permukaan kulit sering disebut sebagai *vehicle*.

Contoh dari *vehicle* yang digunakan untuk mengoleskan obat ke kulit yaitu krim, salep, gel, pasta, lotion dan bubuk debu. Pemilihan *vehicle* bergantung pada sifat penyakit kulit yang diobati, Lokasi perawatan serta preferensi dari penggunaanya. Kemanjuran dari bentuk sediaan topikal tidak hanya bergantung pada pilihan obatnya, tetapi juga bergantung pada sediaan apa yang digunakan (Holmes. S., 2014).

2.3.2. Salep

Salep adalah sediaan emulsi semisolid yang mengandung <20% air dan volatil serta >50% hidrokarbon yang bersifat hidrofilik. Salep membentuk lapisan oklusif diatas permukaan kulit yang memberikan efek mengunci kelembapan dengan cara membentuk penghalang yang mencegah hilangnya air dari permukaan kulit. Efek ini bermanfaat terutama pada kondisi kulit kering atau rusak karena membantu mempertahankan hidrasi kulit dan memperbaiki fungsi lapisan pelindung. Salep tampak kental, memiliki tekstur yang lengket, serta tidak berevaporasi setelah dioleskan di kulit. Salep juga memiliki beberapa kekurangan yaitu tekstur lengket yang menyebabkan sulit dihilangkan pada kulit, rambut atau pakaian, penyebarannya minimal, dan tidak nyaman digunakan pada cuaca yang hangat (Mayba & Gooderham, 2018).

2.3.3. Gel

Gel merupakan sediaan yang terdiri dari air, aseton, alcohol yang mengandung makromolekul organik. Secara kasat mata, gel tampak transparan dan cepat mencair ketika berkontak langsung dengan kulit, tidak oklusif (tahan terhadap air) dan mudah dihilangkan dengan air sehingga tidak sesuai dengan kulit yang mudah berkeringat. Gel memiliki sensasi dingin akibat evaporasi sehingga mengurangi rasa nyeri dan gatal, juga memiliki waktu kontak yang lebih lama dibandingkan lotion. Namun gel juga memiliki kekurangan

yaitu kemampuan hidrasi gel lebih rendah dibandingkan krim dan salep sehingga absorpsi obat lebih rendah (Mayba & Gooderham, 2018).

2.4. Luka

2.4.1. Definisi

Luka adalah rusaknya struktur dan fungsi anatomis kulit normal akibat proses patologi baik dari internal maupun eksternal. Luka merupakan terputusnya kontinuitas jaringan yang disebabkan oleh fisik atau mekanik seperti trauma, benda tajam atau tumpul, perubahan suhu, zat kimia, gigitan hewan, dan lain lain. Luka dapat diklasifikasikan berdasarkan struktur anatomis, sifat, proses penyembuhan dan lama penyembuhan. Waktu penyembuhan luka yang berkepanjangan bisa menyebabkan risiko terinfeksi lebih besar (Kartika RW, 2019).

2.4.2. Klasifikasi Luka

Menurut *The Centers for Diseases Controls* (CDC), Luka diklasifikasikan berdasarkan Tingkat kontaminasinya :

- 1) Clean Wound (luka bersih) : Luka yang terjadi tanpa adanya infeksi dan tidak disertai reaksi inflamasi. Luka ini dapat menutup dengan cepat, jadi kemungkinan terjadinya infeksi luka sekitar 1-5%
- 2) Clean-contaminated Wounds (luka bersih terkontaminasi) : jenis luka yang melibatkan mikroorganisme ke dalam luka tetapi tanpa

ada tanda tanda infeksi yang nyata. Biasanya luka ini terjadi pada operasi tractus respiratorim, genitalia dan tractus urinarius yang Dimana bakteri biasanya ada, tetapi tanpa ada kontaminasi yang signifikan. Kemungkinan timbul infeksi luka sekitar 3-11%.

- 3) Contaminated wound (luka terkontaminasi) : luka yang terjadi ketika mengalami cedera kemudian terpapar oleh mikroorganisme dalam jumlah yang signifikan tetapi belum menunjukkan tanda tanda infeksi yang jelas. Apabila tidak segera ditangani, luka ini beresiko tinggi untuk berlanjut menjadi infeksi. Contohnya seperti luka terbuka, luka trauma atau kecelakaan misal laserasi jaringan, fraktur terbuka.
- 4) Dirty and infected wounds (luka kotor dan infeksi) : luka yang benar benar sudah terinfeksi oleh kuman. Contoh pada luka ini adalah abses dan perforasi organ.

Luka Berdasarkan kedalaman dan luas luka :

- 1) Luka *superfisial* : luka yang terbatas pada lapisan dermis atau kulit bagian atas. Luka ini biasanya tidak terlalu serius dan dapat sembuh dengan cepat tanpa berbekas.
- 2) Luka *partial thickness* : luka lebih dalam dari luka superficial dan melibatkan hilangnya jaringan kulit pada lapisan dermis dan lapisan bagian atas dermis. Penyebab luka partial thickness biasanya karna luka bakar atau luka sayat.

- 3) Luka *full thickness* : Luka yang melibatkan epidermis, dermis dan jaringan subcutan, bahkan bisa juga melibatkan otot, tendon dan tulang. Luka timbul secara klinis sebagai suatu lubang yang dalam dengan atau tanpa merusak jaringan disekitarnya (Baroroh, 2021).

Luka berdasarkan durasi penyembuhan luka :

- 1) Luka akut : Luka yang melibatkan kerusakan jaringan kulit atau terputusnya kontinuitas jaringan yang biasanya sembuh dalam waktu yang dapat diprediksi dan mengikuti proses penyembuhan normal. Penyebab luka akut bermacam macam, seperti trauma, luka gesekan, luka bakar, luka tusuk, luka operasi dan lain lain. Luka akut biasanya tidak memiliki komplikasi atau tidak menunjukkan penyembuhan dalam waktu yang lama sampai beberapa minggu. Tetapi waktu atau durasi penyembuhan luka akut juga berbeda beda tergantung lokasi, ukuran dan jenis luka.
- 2) Luka kronis : Luka yang tidak kunjung sembuh dalam waktu yang tidak dapat diprediksi dan tidak mengikuti proses penyembuhan luka normal. Banyak faktor yang menyebabkan luka menjadi kronis, contohnya seperti penyakit diabetes melitus, gangguan sirkulasi darah, tekanan, trauma, dan infeksi. Luka kronis biasanya tidak menunjukkan tanda penyembuhan dalam waktu beberapa minggu dan berlangsung dalam waktu yang lama. Luka kronis lebih membutuhkan perawatan intensif untuk bisa sembuh (Demidova-Rice *et al.*, 2012).

2.4.3. Fase Inflamasi pada Penyembuhan Luka

Menurut (Velnar *et al.*, 2009), proses penyembuhan luka merupakan respon fisiologis yang kompleks dan dinamis, Dimana melibatkan berbagai tahapan dan mekanisme untuk memulihkan jaringan yang rusak. Tahapan penyembuhan luka secara garis besar dapat dikategorikan menjadi empat fase: hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodeling. Reaksi inflamasi adalah respon fisiologis normal tubuh untuk mengatasi apabila didapatkan luka. Inflamasi dapat ditandai dengan rubor (kemerahan), tumor (pembengkakan), calor (hangat), dan dolor (nyeri). Fase inflamasi adalah tahap penting dalam proses penyembuhan luka. Inflamasi dimulai sejak adanya cedera atau luka dan berlangsung sekitar 5 hari (Suryadi *et al.*, 2013). Sel mast dalam jaringan ikat akan menghasilkan serotonin dan histamin yang akan meningkatkan permeabilitas kapiler sehingga terjadi pembentukan sel radang, disertai vasodilatasi local yang menyebabkan edem dan pembengkakan (Eming *et al.*, 2007).

Fase inflamasi penting untuk kesembuhan luka normal. Apabila proses inflamasi terjadi berkepanjangan, kemungkinan bisa terjadi komplikasi seperti luka kronis. Inflamasi adalah bagian dari fisiologis fase penyembuhan luka yang bertujuan untuk membersihkan luka dari sisa-sisa sel dan patogen. Neutrofil dan makrofag juga berfungsi untuk membersihkan luka dari bakteri. Setelah sisa-sisa sel dan pathogen hilang, neutrofil akan mengalami apoptosis tanpa merusak jaringan

atau mengganggu proses penyembuhan. Kemudian makrofag yang tersisa akan melepaskan growth factor aktif di keratinosit, fibroblast dan sel endotel. Apabila leukosit gagal untuk menginfiltrasi atau tidak dapat melakukan apoptosis, proses memasuki fase proliferasi pada penyembuhan luka akan terhambat. Luka akan dipertahankan dalam siklus inflamasi melalui rangasangan pro-inflamasi. Seringkali luka yang tidak diobati menimbulkan risiko inflamasi yang berkepanjangan, yang nantinya akan timbul penyembuhan luka yang tertunda (Luze *et al.*, 2020).

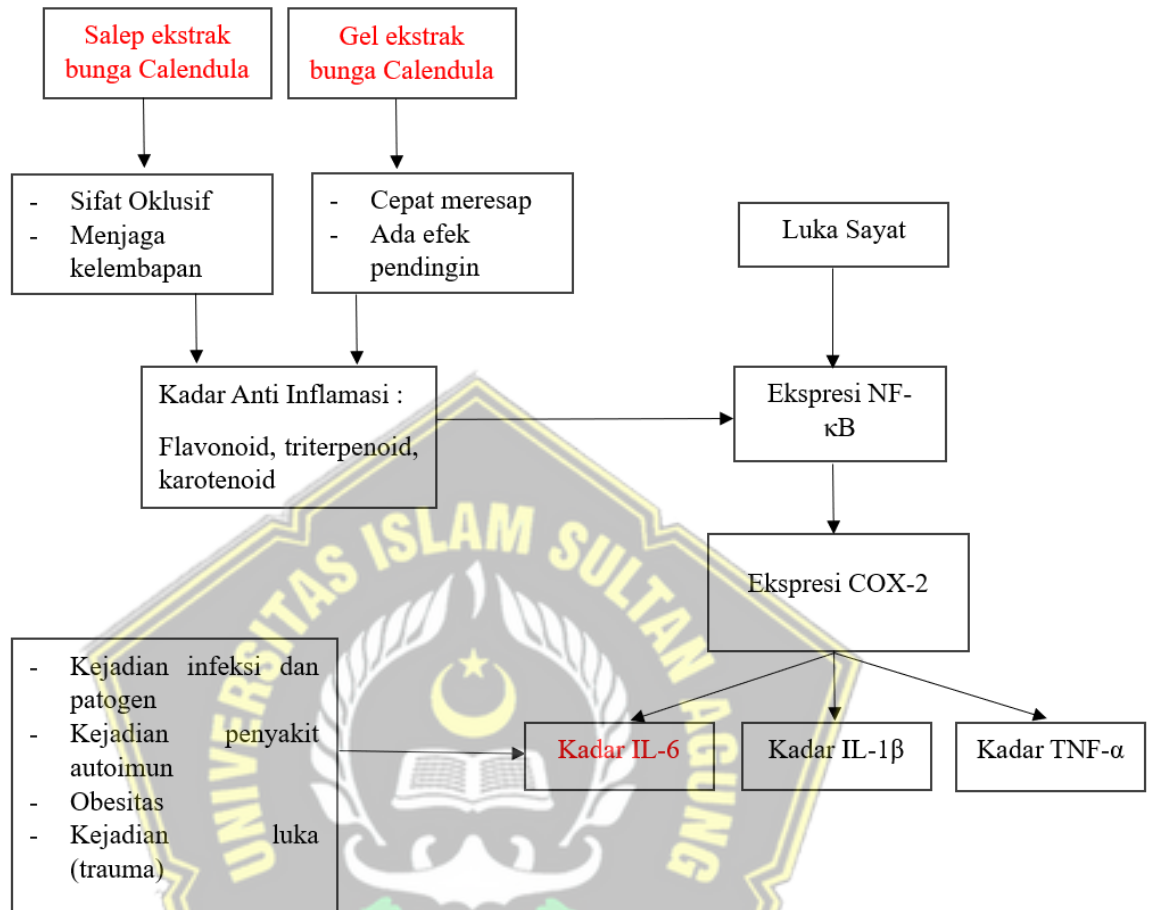
2.5. Hubungan Bunga *Calendula* terhadap kadar IL-6

Saat terjadi luka sayat, tubuh akan merespon dengan melakukan aktivasi berbagai jalur inflamasi untuk melindungi area yang terluka. Salah satu jalur yang diaktifkan adalah jalur Nuklear Faktor-Kappa B (NF- κ B) yang dapat memicu produksi sitokin pro-inflamasi. Pada kondisi luka sayat, NF- κ B akan diaktifkan oleh kerusakan sel di sekitar luka. Salep dan gel yang berasal dari ekstrak bunga *Calendula* mengandung banyak komponen anti-inflamasi, termasuk flavonoid, triterpenoid dan karotenoid. Flavonoid dapat menghambat NF- κ B yang merupakan faktor transkripsi yang berperan penting dalam regulasi ekspresi gen pro-inflamasi, termasuk IL-6. Flavonoid dalam *calendula* mampu menghambat aktivasi NF- κ B seperti mengganggu proses transduksi sinyal sehingga mencegah NF- κ B berpindah ke inti sel dan memulai ekspresi gen inflamasi (Norvegicus *et al.*, 2017). Dengan berkurangnya aktivitas NF- κ B, flavonoid juga akan menurunkan ekspresi

Cyclooxygenase-2 (COX-2) yang merupakan enzim yang memproduksi prostaglandin. Prostaglandin adalah mediator utama peradangan yang meningkatkan rasa sakit dan bengkak di area luka, apabila prostaglandin menurun maka akan mengurangi intensitas peradangan di luka (Pia Batmomolin *et al.*, 2023). Dengan menghambat jalur NF- κ B, flavonoid juga akan menurunkan produksi IL-6 di area luka yang dimana akan mengurangi tingkat peradangan dan membantu penyembuhan luka lebih cepat dan efisien.

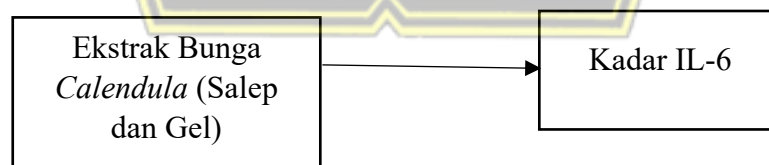


2.6. Kerangka Teori



Gambar 2.2. Kerangka Teori

2.7. Kerangka Konsep



Gambar 2.3. Kerangka Konsep

2.8. Hipotesis

Terdapat perbandingan efektivitas antara pemberian salep dan gel ekstrak bunga *Calendula* terhadap kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar dengan luka sayat.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan hewan coba dengan desain *Post Test Only Control Group Design* terhadap tikus jantan galur wistar.

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel Penelitian

3.2.1.1. Variabel Bebas

1. Salep ekstrak bunga *Calendula* (*Calendula officinalis*)
2. Gel ekstrak bunga *Calendula* (*Calendula officinalis*)

3.2.1.2. Variabel Tergantung

Kadar *Interleukin-6* (IL-6)

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1. Salep Ekstrak Bunga *Calendula*

Ekstraksi bunga *Calendula* dilakukan secara maserasi dengan pelarut etanol 90% lalu diformulasikan dalam bentuk salep dengan konsentrasi 10%. Dosis yang diberikan secukupnya dan diaplikasikan secara topikal di kulit tikus yang diberi perlakuan selama 3 hari.

Skala data : rasio

3.2.2.2. Gel Ekstrak Bunga *Calendula*

Ekstraksi bunga *Calendula* dilakukan secara maserasi dengan pelarut etanol 90% lalu diformulasikan dalam bentuk gel dengan konsentrasi 10%. Dosis yang diberikan secukupnya dan diaplikasikan secara topikal di kulit mencit yang diberi perlakuan selama 3 hari.

Skala data : rasio

3.2.2.3. Kadar IL-6

Kadar IL-6 mengacu pada produksi dan pelepasan sitokin proinflamasi IL-6 yang diekspresikan oleh berbagai jenis sel termasuk makrofag, fibroblas, endotel sel polimorfonuklear dan sel epitel. Diamati menggunakan metode imunohistokimia (IHC) yang ditampilkan dalam bentuk warna coklat.

Skala data : rasio

3.3. Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1. Populasi Penelitian

Populasi penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar yang diperoleh dari Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada.

3.3.2. Sampel Penelitian

3.3.2.1. Besar Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 25 ekor yang dipilih secara acak yang dibagi dalam 5 kelompok. Tiap kelompok perlakuan akan dihitung dengan Rumus Federer, sebagai berikut :

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

Keterangan :

t = jumlah kelompok

n = jumlah sampel tiap kelompok

Penelitian ini menggunakan 5 kelompok percobaan maka perhitungan sampel menjadi :

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq \frac{19}{4}$$

$$n \geq 4,75$$

Jadi, sampel yang digunakan pada tiap kelompok percobaan sebanyak 5 ekor ($n \geq 4,75$) dan ditambahkan 1 ekor untuk menghindari kemungkinan lost of follow, maka total tikus yang dibutuhkan 30 ekor tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok.

3.3.2.2. Kriteria Inklusi

a) Tikus berjenis kelamin jantan

- b) Berusia 8-10 minggu
- c) Berat badan $\pm$ 200-250 gram
- d) Tikus dalam keadaan sehat, tidak ada kelainan anatomis, aktif bergerak, makan dan minum normal.

3.3.2.3. Kriteria *Drop Out*

Tikus mati selama penelitian berlangsung.

3.4. Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut :

1. Kandang tikus beserta tempat makan
2. Mikroskop
3. *Objeck glass*
4. Masker dan sarung tangan
5. Timbangan tikus
6. Set alat bedah
7. Alat sterilisasi
8. *Sentrifuge*
9. *Spectrophotometer*
10. Piper mikropipet
11. Rak dan tabung reaksi
12. *Embedding Center*
13. *Water bath* dan *Cold plate*
14. Mikrotome

15. *Hot plate* dan staining jaringan

3.4.2. Bahan

1. Tikus Putih
2. *Aquades*
3. Pakan standar
4. Bunga *Calendula officinalis*
5. Antispetik
6. Anestesi
7. Larutan buffer
8. Salep Hidrokortison 1%
9. *IL-6 antibody*

3.5. Cara Penelitian

3.5.1. Persiapan

Pembuatan *ethical clearance* dan surat penelitian.

3.5.2. Pembuatan Salep Ekstrak Bunga *Calendula*

Bunga *calendula* kering yang di blender atau digiling menghasilkan serbuk yang akan di campur dengan minyak kelapa atau minyak zaitun. Biarkan campuran tersebut selama 2-3 minggu ditempat yang terlindungi dari sinar matahari langsung. Kemudian saring campuran menggunakan kain atau kertas saring untuk memisahkan ekstrak dari ampas bunga. Panaskan lanolin dan vaselin putih dalam cawan porselen diatas penangas air hingga melebur.

Tambahkan nipagin dan nipasol ke dalam basis salep yang sudah melebur, aduk hingga homogen. Angkat dari penangas air dan biarkan suhu turun menjadi sekitar 50°C. Masukkan ekstrak bunga *Calendula* ke dalam basis salep yang sudah agak dingin, aduk hingga ekstrak dan basis salep tercampur rata dan homogen. Tuang salep ke tempat yang steril dan simpan di tempat yang sejuk dan kering.

3.5.3. Pembuatan Gel Ekstrak Bunga *Calendula*

Pembuatan gel ekstrak bunga *Calendula* menggunakan basis carbomer 940 dengan konsentrasi ekstrak 10%. Carbomer 940 dimasukkan kedalam mortar ditambahkan *aqudest* yang sudah dipanaskan, diaduk hingga membentuk basis gel. TEA ditambahkan kedalam basis dan diaduk hingga homogen. Metilparaben dilarutkan dengan propilenglikol di cawan porselin. Sisa *Aquades* dimasukkan kedalam basis gel dan diaduk hingga homogen, lalu ditambahkan ekstrak bunga *calendula* (Agustin *et al.*, 2023).

3.5.4. Dosis Penelitian

3.5.4.1. Dosis Salep Hidrokortison

Pemberian dosis salep Hidrokortison (Kortikosteroid) dengan konsentrasi 1% diaplikasikan langsung pada luka atau daerah yang terinfeksi secukupnya.

3.5.4.2. Dosis Salep Ekstrak Bunga Calendula

Dilihat dari penelitian sebelumnya, Pemberian konsentrasi 10% ekstrak bunga *calendula* dapat mempersingkat lama penyembuhan luka sayat pada tikus sebanyak 3,5 hari lebih cepat (Khotimah *et al.*, 2023).

3.5.4.3. Dosis Gel Ekstrak Bunga *Calendula*

Pemberian konsentrasi 10% ekstrak bunga *calendula* dapat mempersingkat lama penyembuhan luka sayat pada tikus sebanyak 3,5 hari lebih cepat (Khotimah *et al.*, 2023).

3.5.5. Pemberian Luka Sayat

Tikus diadaptasi untuk beberapa hari sebelum eksperimen untuk mengurangi stress. Tikus yang digunakan harus sehat dan berumur sekitar 8-10 minggu. Cukur area kulit yang akan dibuat luka untuk memudahkan akses. Gunakan penanda ukuran untuk menandai lokasi dan ukuran luka sepanjang 1,5 cm pada bagian punggung kulit. Gunakan pisau untuk membuat luka dengan kedalaman *full thickness* yaitu memotong seluruh lapisan kulit mencapai fascia atau otot dibawahnya.

3.5.6. Pengambilan Jaringan Luka Sayat

Tikus diberi anastesi ketamin dan *xylazine* terlebih dahulu, pastikan sadar sepenuhnya sesuai prosedur mengurangi sakit, tikus diletakan terlentang di atas sterofom dalam bak plastik, selanjutnya

luka disayat menggunakan pisau bedah, jaringan diletakkan dalam larutan NaCl fisiologi sebelum jaringan diletakan di larutan fiksatif.

3.5.7. Pembuatan Sediaan Histologi IHC

1. *Dehidrasi*

Jaringan dimasukkan dalam alkohol konsentrasi bertingkat dari rendah ke tinggi. Jaringan akan dimasukkan ke dalam larutan alkohol masing masing selama 1 jam, dengan urutan mulai dari alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%. Dilanjutkan alkohol 100% dan diulang sebanyak 3 kali. Tahap ini bertujuan untuk menghilangkan air dalam jaringan (Rosida, 2020).

2. *Clearing* (Penjernihan)

Clearing adalah metode yang digunakan untuk mengeluarkan alcohol dari jaringan dan menggantikannya dengan suatu larutan yang berkaitan dengan parafin. Jaringan akan menjadi lebih transparan dan juga jernih Ketika jaringan dimasukkan ke dalam larutan *xylol* dengan pengulangan tiga kali perlakuan yakni 1 jam, 2 jam, 3 jam.

3. Impregnasi

Tahap infiltrasi parafin dilakukan dengan proses melebur di suhu 60°C. Potongan jaringan dimasukkan secara bertahap dalam parafin cair selama 2 x 2 jam.

4. *Embedding* (Penanaman)

Tahap penanaman jaringan ke parafin padat. Caranya yaitu siapkan alat pencetak lalu diolesi dengan gliserin agar mudah dipisahkan dengan blok parafin yang *setting*. Lalu siapkan parafin cair dalam dua wadah, yaitu untuk *embedding* dan untuk media penyesuaian suhu jaringan yang akan ditanam, keduanya pada suhu 60°C. Parafin cair untuk *embedding* dituangkan ke cetakan, lalu jaringan ditanamkan dan ditunggu hingga parafin *setting*. Setelah parafin *setting*, cetakan dilepas dan diberi label kemudian dilakukan pemotongan.

5. Pemotongan Jaringan

Blok parafin dipotong menggunakan mikrotom setebal 5 μm . Sayatan jaringan yang sudah dipotong diletakkan diatas *waterbath* bersuhu 40°C hingga mengembang. Sayatan jaringan yang telah mengembang diletakkan diatas *object glass* yang sudah diolesi *mayer egg albumin* dan diberi label. Sediaan jaringan dikeringkan dengan *hot plate* pada suhu 30-35°C selama minimal 12 jam dan preparat siap untuk diwarnai.

6. Pewarnaan preparate

Pewarnaan *Imunohistochemistry* (IHC) dilakukan untuk mendeteksi IL-6. Pewarnaan IHC secara khusus memvisualisasikan distribusi dan jumlah molekul tertentu dalam

jaringan menggunakan reaksi antigenantibodi spesifik (Kim *et al.*, 2016).

3.5.8. Prosedur Penelitian

Penelitian dilakukan selama 10 hari di Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada Yogyakarta dengan prosedur :

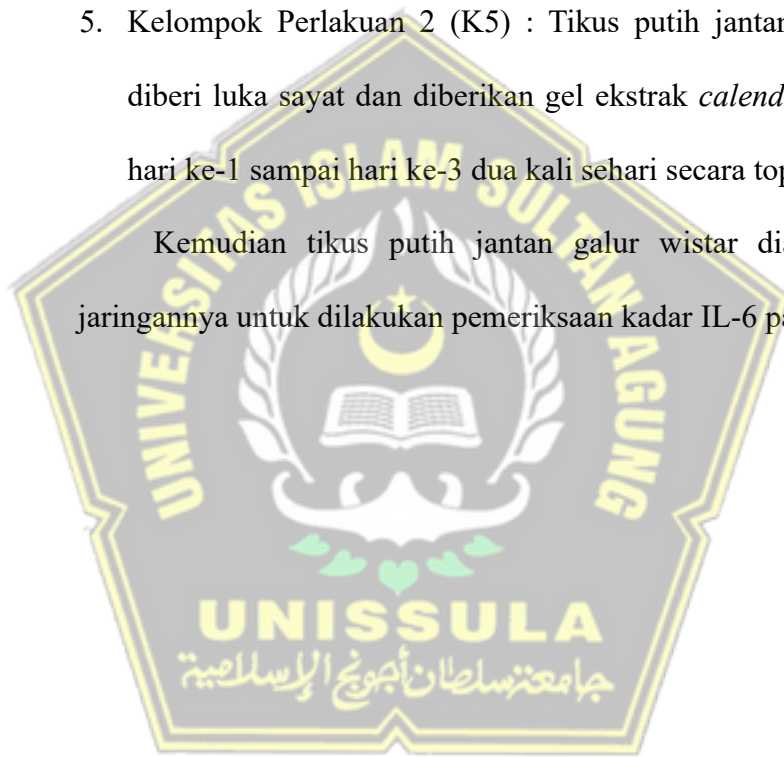
1. Tikus putih jantan galur wistar dipilih berusia 8 minggu dan memiliki bobot 200-250 g, tikus harus dalam keadaan sehat tanpa kelainan anatomis, diambil 25 ekor tikus dari seluruh populasi tikus di Universitas Gajah Mada.
2. Tikus putih jantan galur wistar diadaptasi dengan lingkungan selama 7 hari di Universitas Gajah Mada
3. Tikus dikelompokkan dengan metode *simple random sampling*, dimana tikus yang sudah diadaptasi selama 7 hari, diacak dan dibagi menjadi 5 kelompok, masing masing terdiri dari 5 ekor tikus untuk dijadikan sebagai sampel penelitian.

3.5.9. Pemberian Perlakuan

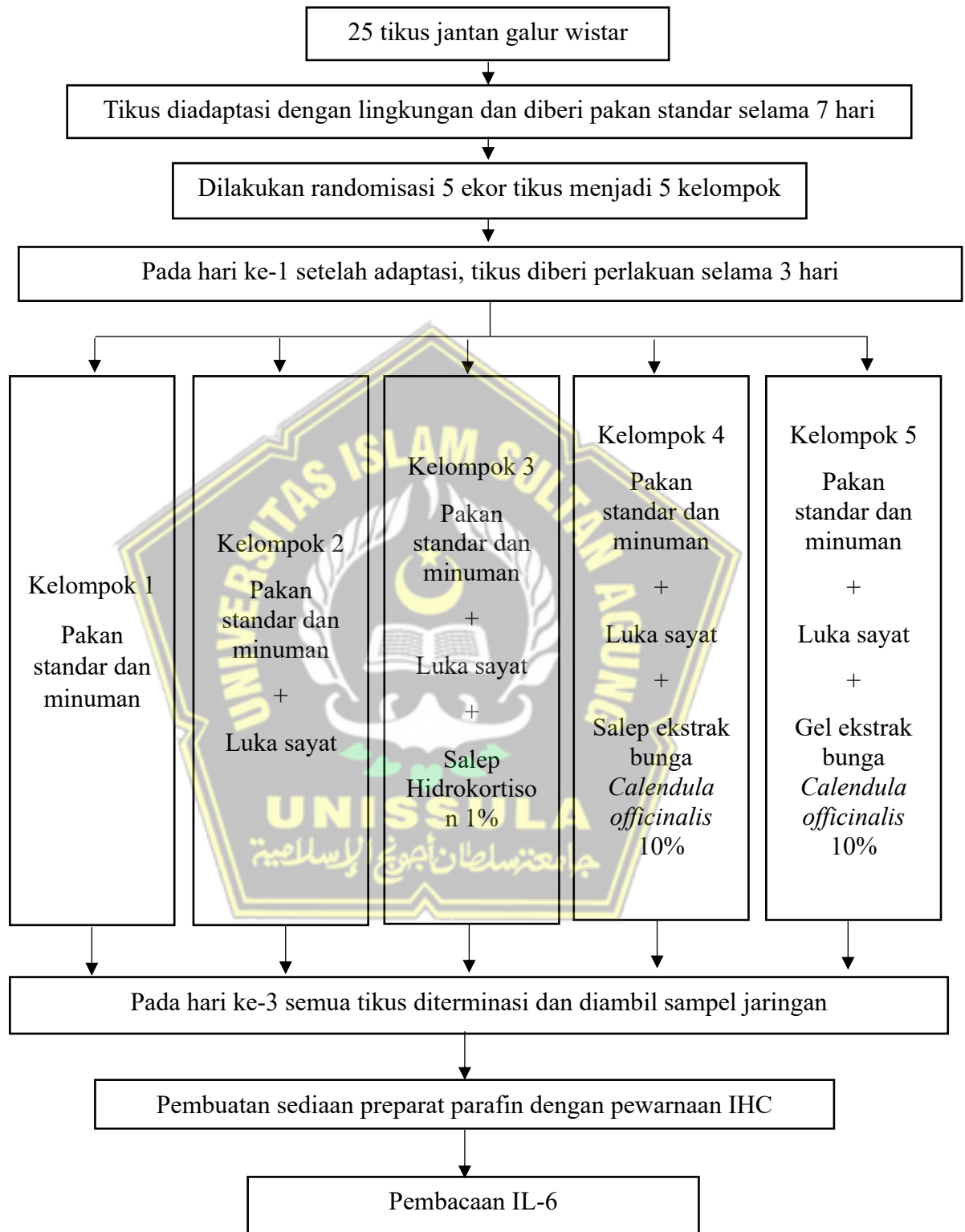
1. Kelompok normal (K1) : Tikus putih jantan galur wistar yang tidak diberi luka sayat
2. Kelompok control negatif (K2) : Tikus putih jantan galur wistar yang diberi luka sayat.

3. Kelompok control positif (K3) : Tikus putih jantan galur wistar diberikan luka sayat dan diberikan salep Hidrokortison 1% pada hari ke-1 sampai hari ke-3 dua kali sehari secara topikal.
4. Kelompok Perlakuan 1 (K4) : Tikus putih jantan galur wistar diberi luka sayat dan diberikan salep ekstrak *calendula* 10% pada hari ke-1 sampai hari ke-3 dua kali sehari secara topikal.
5. Kelompok Perlakuan 2 (K5) : Tikus putih jantan galur wistar diberi luka sayat dan diberikan gel ekstrak *calendula* 10% pada hari ke-1 sampai hari ke-3 dua kali sehari secara topikal.

Kemudian tikus putih jantan galur wistar diambil sampel jaringannya untuk dilakukan pemeriksaan kadar IL-6 pada hari ke-4.



3.6. Alur Penelitian



Gambar 3.1. Alur Penelitian

3.7. Tempat dan Waktu penelitian

1. Penelitian dilakukan selama 10 hari pada tanggal 26 Oktober 2024 – 6 desember 2024 dengan 7 hari masa adaptasi dan 3 hari setelahnya dilakukan perlakuan pada hewan coba yang dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
2. Pembuatan sediaan preparat parafin jaringan dilakukan di Laboratorium Riset Terpadu Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
3. Pewarnaan IHC dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi FKMKM Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
4. Pembacaan Preparat dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi FK UNISSULA oleh Dr. dr. Susilorini, Msi.Med, Sp.PA

3.8. Analisis Hasil

Data didapatkan dengan melakukan penghitungan kadar IL-6 pada setiap sampel pada kelompok penelitian yang kemudian diuji deskriptif untuk dilihat rerata dan standar deviasi. Selanjutnya dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui data terdistribusi normal dengan jumlah sampel <50 dan uji homogenitas varian setiap kelompok menggunakan uji *Levene Test*.

Data terdistribusi normal atau nilai $p > 0,05$ akan dianalisis dengan *One Way Anova* dan data mempunyai varian yang tidak homogen atau $p < 0,05$ maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tamhane* untuk mengetahui pasangan kelompok mana yang berbeda jika varian yang didapatkan tidak homogen.

BAB IV

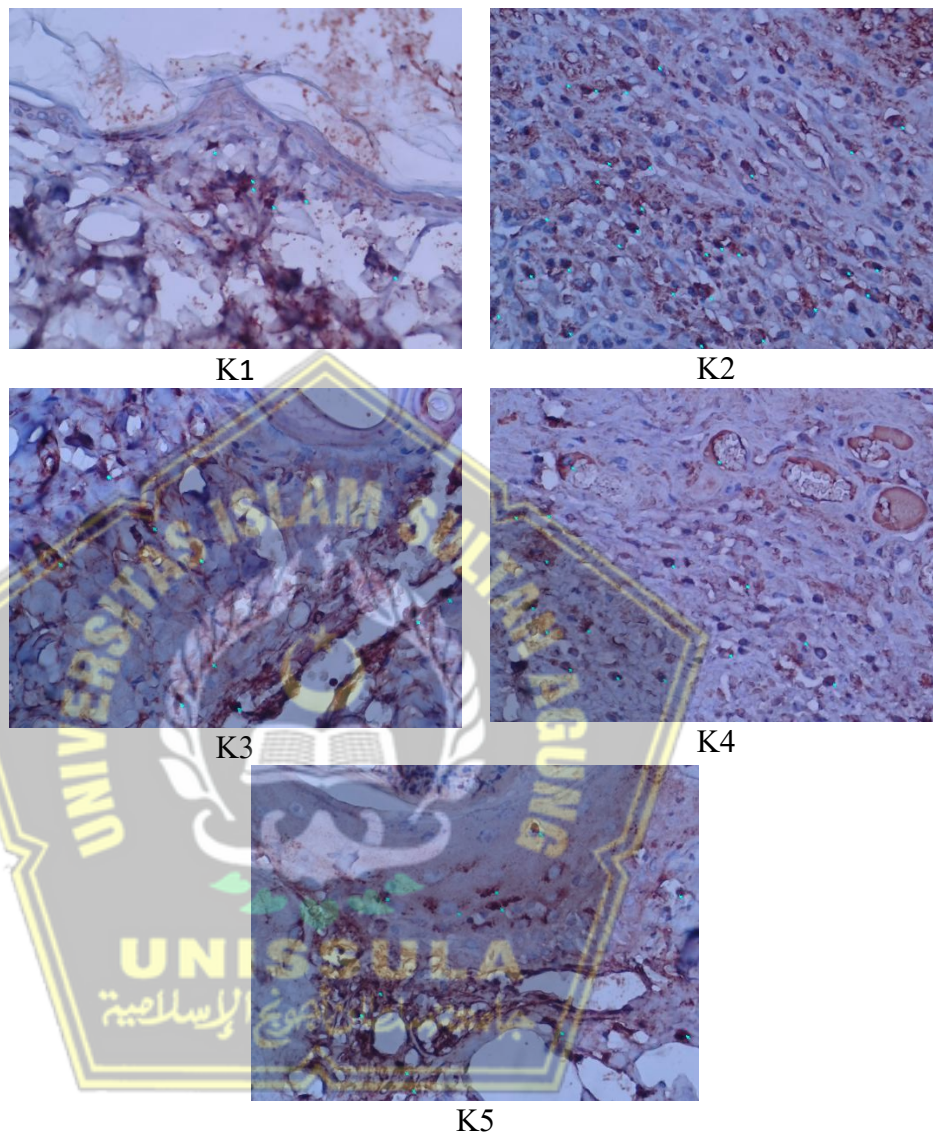
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

Penelitian *post-test only control group design* ini dilakukan selama 10 hari di Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan efektivitas antara pemberian salep ekstrak bunga *calendula* dan gel ekstrak bunga *calendula* terhadap kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar dengan luka sayat. Penelitian ini dilakukan menggunakan 25 ekor tikus jantan galur wistar yang didaptasi selama 7 hari lalu di randomisasi dan dibagi menjadi 5 kelompok masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus yaitu K1, K2, K3, K4 dan K5 dengan penjelasan sebagai berikut:

- K1: Kelompok normal yaitu tikus putih jantan galur wistar yang tidak diberi luka sayat.
- K2: Kelompok kontrol negative yaitu tikus putih jantan galur wistar yang diberi luka sayat.
- K3: Kelompok kontrol positif yaitu tikus putih jantan galur wistar diberikan luka sayat dan diberikan salep Hidrokortison 1% pada hari ke-1 sampai hari ke-3 dua kali sehari secara topical.
- K4: Kelompok perlakuan 1 yaitu tikus putih jantan galur wistar diberi luka sayat dan diberikan salep ekstrak *calendula* 10% pada hari ke-1 sampai hari ke-3 dua kali sehari secara topical.
- K5: Kelompok perlakuan 2 yaitu tikus putih jantan galur wistar diberi luka sayat dan diberikan gel ekstrak *calendula* 10% pada hari ke-1 sampai hari ke-3 dua kali sehari secara topical.

Hasil pengecatan dengan pewarnaan IHC dapat dilihat pada gambar 4.1



Gambar 4.1. Panah hijau menunjukkan Ekspresi IL-6 yang positif pada sitoplasma sel fibroblas, endotel, sel polimorfonuklear dan sel epitel. Ekspresi positif ditunjukkan oleh warna kecoklatan

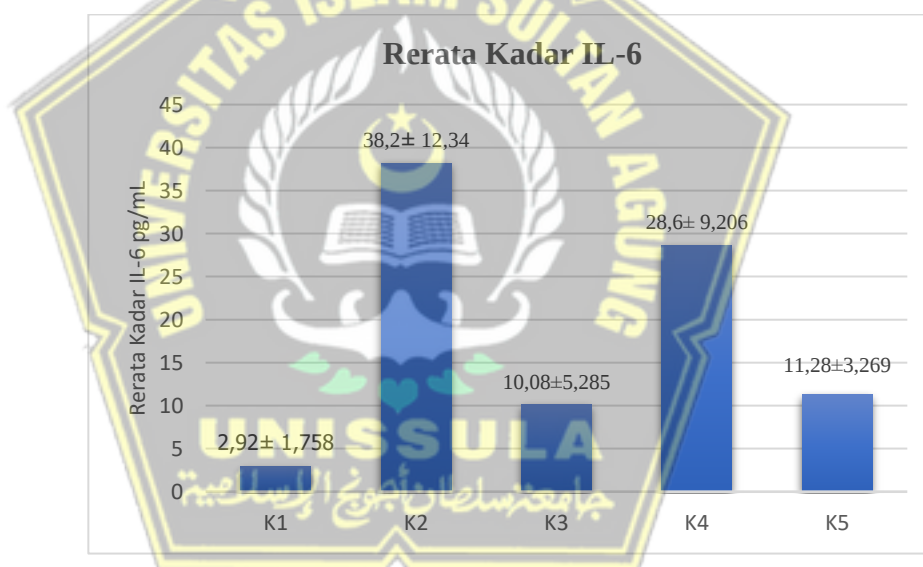
4.2. Hasil analisis kadar IL-6

Hasil analisis kadar IL-6 pada penelitian ini disajikan dalam Tabel 4.1 yang meliputi uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk*, uji homogenitas menggunakan *Levene test* dan uji beda menggunakan *One Way Anova*.

Tabel 4.1. Hasil uji normalitas, homogenitas, dan uji beda rerata kadar IL-6 antar kelompok

Variabel	Kelompok					P-Value
	K1	K2	K3	K4	K5	
Kadar IL-6 (pg/mL)	Mean ±	2,92±	38,2±	10,08±	28,6±	11,28±
	SD	1,758	12,34	5,285	9,206	3,269
	Shapiro-Wilk	0,963*	0,216*	0,820*	0,358*	0,824*
	Levene Test					0,011
	One Way Anova					0,001^

Keterangan: Tanda* menunjukkan hasil distribusi data normal ($p > 0,05$). Tanda⁺ menunjukkan data homogen dengan uji *Levene Test* ($p > 0,05$). Tanda ^ menunjukkan hasil signifikan untuk uji *One Way Anova* ($p < 0,05$).



Gambar 4.2. Rerata kadar IL-6 antar kelompok

Berdasarkan Tabel 4.1 dan Gambar 4.2 menunjukkan rerata kadar IL-6 tertinggi pada kelompok kontrol negatif (K2) dengan nilai $38,2 \pm 12,34$ pg/mL, sedangkan rerata terendah ditunjukkan pada kelompok normal (K1) sebesar $2,92 \pm 1,759$ pg/mL. Hasil uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa semua kelompok memiliki distribusi data yang normal ($p > 0,05$). Uji homogenitas menggunakan *Levene Test* didapatkan hasil $p =$

0,011, yang berarti varian data tidak homogen. Uji *One Way Anova* menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok dengan $p = 0,001$ ($p < 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji *post hoc Tamhane's* untuk mengetahui perbedaan antar masing-masing kelompok.

Tabel 4.2. Hasil Uji *Post Hoc Tamhane's*

	K1	K2	K3	K4	K5
K1		0,028*	0,306	0,028*	0,022*
K2			0,043*	0,898	0,065
K3				0,069	1,000
K4					0,102
K5					

Keterangan : * Terdapat perbedaan rerata kadar IL-6 yang signifikan ($p < 0,05$) pada semua pasangan kelompok

Berdasarkan Tabel 4.2 hasil uji *Post Hoc Tamhane's* dapat disimpulkan perbandingan antara kelompok K1 dengan K2, K4, dan K5 menunjukkan nilai ($p < 0,05$), yang berarti terdapat perbedaan signifikan antara kedua kelompok tersebut ($p < 0,05$). Selain itu, terdapat perbedaan signifikan antara K2 dan K3 dengan nilai $p = 0,043$. Perbandingan antara kelompok lainnya seperti K1 dengan K3, K2 dengan K4, K2 dengan K5, K3 dengan K4, K3 dengan K5, serta K4 dengan K5 tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan karena nilai $p > 0,05$.

4.3. Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan efektivitas antara pemberian salep ekstrak bunga *calendula* dan gel ekstrak bunga *calendula* terhadap kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar dengan luka sayat. Kadar IL-6 pada kelompok 2 (K2) lebih tinggi dari kelompok 1 (K1) dan terdapat perbedaan bermakna ($p=0,028$). Hal ini menunjukkan luka sayat

yang tidak diobati secara signifikan meningkatkan kadar IL-6 dibandingkan dengan kondisi sehat atau normal. Hasil penelitian ini sejalan dengan Sangkota, (2022) yang mengevaluasi pengaruh ekstrak kulit delima terhadap kadar IL-6 pada tikus dengan luka bakar derajat II menemukan bahwa kelompok kontrol tanpa pengobatan menunjukkan peningkatan kadar IL-6 yang signifikan dibandingkan dengan kelompok normal. Peningkatan kadar IL-6 ini mencerminkan respons inflamasi tubuh terhadap cedera jaringan.

Perbandingan antara kelompok kontrol negatif (K2) dan kelompok kontrol positif (K3) menunjukkan bahwa kadar IL-6 pada kelompok 3 (K3) lebih rendah dari kelompok 2 (K2), hasil juga menunjukkan terdapat perbedaan signifikan ($p=0,043$). Hal ini menunjukkan pemberian salep Hidrokortison 1% dapat menurunkan kadar IL-6 secara signifikan pada kondisi luka. Penelitian yang dilakukan oleh Guillon *et al.*, (2024) menunjukkan efek hidrokortison pada produksi interleukin-6 (IL-6) oleh sel mononuklear darah perifer manusia. Studi ini menunjukkan bahwa hidrokortison menghambat produksi IL-6 yang distimulasi oleh lipopolisakarida (LPS).

Perbandingan antara kelompok kontrol negatif (K2) dan kelompok perlakuan 1 (K4) dan kelompok perlakuan 2 (K5) menunjukkan bahwa kadar IL-6 lebih rendah pada K4 dan K5 daripada K2, hasil menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan antara K2 dengan K4 dan K5 ($p>0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian salep ekstrak *calendula* 10% dan gel ekstrak *calendula* 10% tidak secara signifikan menurunkan kadar IL-6. Penelitian

oleh Khotimah *et al.*, (2023) mengenai efek ekstrak *Calendula officinalis* terhadap waktu penyembuhan luka sayat pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) menunjukkan bahwa konsentrasi 10% ekstrak calendula dapat mempercepat waktu penyembuhan luka sayat pada tikus hingga 3,5 hari lebih cepat dibandingkan kelompok kontrol, namun berdasarkan uji statistik tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p=0,077$).

Penelitian oleh Preethi *et al.*, (2018) yang meneliti ekstrak bunga *Calendula officinalis* menunjukkan aktivitas antiinflamasi yang signifikan terhadap edema kaki akut yang diinduksi oleh karagenan dan dekstran pada hewan uji. Produksi TNF- α oleh kultur makrofag yang dirangsang dengan lipopolisakarida (LPS) ditemukan terhambat secara signifikan oleh ekstrak *Calendula*. Peningkatan kadar sitokin proinflamasi seperti IL-1 β , IL-6, TNF- α , dan IFN- γ , serta protein fase akut C-reactive protein (CRP) pada tikus yang diinduksi oleh injeksi LPS juga terhambat secara signifikan oleh perlakuan ekstrak tersebut. Hasil ini menunjukkan bahwa respons antiinflamasi yang kuat dari ekstrak *C. officinalis* mungkin dimediasi oleh penghambatan sitokin proinflamasi dan COX-2, serta sintesis prostaglandin berikutnya.

Perbandingan antara kelompok kontrol positif (K3) dengan K4 (salep ekstrak calendula 10%) dan K5 (gel ekstrak calendula 10%) tidak menunjukkan perbedaan signifikan ($p>0,05$), dengan rerata paling rendah pada kelompok kontrol positif (K3) yang diberikan salep hidrokortison 1%. Pada penelitian ini rerata kadar IL-6 K2 lebih rendah dari kelompok K4 dan K5, yang berarti pemberian hidrokortison 1% lebih efektif dari pada

pemberian salep/ gel ekstrak *calendula* 10%. Hasil ini diperkuat oleh studi Sihotang, (2021), yang menemukan bahwa ekstrak *Calendula officinalis* memiliki efek antiinflamasi dan penyembuhan luka yang setara dengan agen farmakologis standar.

Perbandingan antara kelompok perlakuan 1 (K4) dengan kelompok perlakuan 2 (K5), kadar IL-6 lebih rendah pada pemberian gel ekstrak calendula 10% (K5), hasil menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan ($p=0,102$). Perbedaan formulasi dan penetrasi bahan aktif juga dapat memengaruhi dalam penurunan kadar IL-6. Studi oleh Della Loggia *et al.* (2016) menyebutkan bahwa bentuk salep memungkinkan pelepasan zat aktif secara lebih bertahap dan perlindungan terhadap evaporasi air dari kulit, sehingga efek antiinflamasi berlangsung lebih lama dibandingkan gel. Penelitian oleh Sry, (2015) membandingkan sifat fisik sediaan krim, gel, dan salep yang mengandung etil p-metoksisinamat (EPMS) dari ekstrak rimpang kencur (*Kaempferia galanga* Linn.). Hasil penelitian menunjukkan bahwa sediaan gel yang mengandung EPMS merupakan bentuk sediaan yang paling stabil, sedangkan sediaan krim dan salep tidak stabil.

Pada kondisi luka sayat, NF- κ B akan diaktifkan oleh kerusakan sel di sekitar luka. Salep dan gel yang berasal dari ekstrak bunga *Calendula* mengandung banyak komponen anti-inflamasi, termasuk flavonoid, triterpenoid dan karotenoid. Flavonoid dapat menghambat NF- κ B yang merupakan faktor transkripsi yang berperan penting dalam regulasi ekspresi gen pro-inflamasi, termasuk IL-6. Flavonoid dalam *calendula* mampu

menghambat aktivasi NF- κ B seperti mengganggu proses transduksi sinyal sehingga mencegah NF- κ B berpindah ke inti sel dan memulai ekspresi gen inflamasi (Norvegicus *et al.*, 2017)..

Perbandingan antara kelompok perlakuan menunjukkan bahwa gel ekstrak calendula (K5) lebih efektif dalam menurunkan kadar IL-6 dibandingkan salep ekstrak calendula (K4). Secara keseluruhan, hasil penelitian ini mendukung penggunaan ekstrak bunga calendula secara topikal sebagai alternatif terapi alami untuk luka dengan mekanisme penurunan kadar IL-6 yang signifikan, terutama dalam bentuk gel. Formulasi gel cenderung lebih stabil dalam mempertahankan bioaktivitas senyawa aktif, hal ini disebabkan oleh lingkungan hidrofilik dalam gel yang mendukung kestabilan senyawa seperti flavonoid sehingga meningkatkan efektivitas terapeutik. Gel berbasis air (*water based*) memiliki kemampuan penetrasi yang lebih cepat ke dalam kulit dibandingkan salep yang berbasis minyak, hal ini memungkinkan senyawa aktif dalam Calendula mencapai jaringan target lebih efisien.

Keterbatasan dari penelitian ini adalah tidak adanya variasi kelompok perlakuan dengan dosis yang berbeda dari sediaan salep dan gel ekstrak bunga calendula sehingga tidak bisa mengetahui dosis yang paling efektif.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan mengenai perbedaan efektivitas antara pemberian salep ekstrak bunga *calendula* dan gel ekstrak bunga *calendula* terhadap kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar yang diberi luka sayat, dapat disimpulkan bahwa:

- 5.1.1. Gel mengandung ekstrak bunga *calendula* lebih efektif terhadap kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar dengan luka sayat dari salep mengandung ekstrak bunga *calendula*.
- 5.1.2. Rerata kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar yang diberikan pakan standar adalah 2,92 pg/ml.
- 5.1.3. Rerata kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar dengan Luka Sayat yang diberikan pakan standar adalah 38,2 pg/ml.
- 5.1.4. Rerata kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar dengan Luka Sayat yang diberikan pakan standar dan salep Hidrokortison 1% adalah 10,08 pg/ml.
- 5.1.5. Rerata kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar dengan Luka Sayat yang diberikan pakan standar dan salep ekstrak bunga *Calendula officinalis* 10% adalah 28,6 pg/ml.
- 5.1.6. Rerata kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar dengan Luka Sayat yang diberikan pakan standar dan gel ekstrak bunga *Calendula officinalis* 10% adalah 11,28 pg/ml.

5.1.7. Terdapat perbedaan rerata kadar IL-6 pada K1 dengan K2, K4, dan K5, dan K2 dengan K3. tidak terdapat perbedaan antara K1 dengan K3, K2 dengan K4 dan K5, K3 dengan K4, dan K5, serta K4 dengan K5.

5.2. Saran

Diperlukan penelitian tambahan dengan menambahkan kelompok dengan variasi dosis.



DAFTAR PUSTAKA

- Agustin, V., Ismiyati, N., & Sulistyawati, R. (2023). Formulasi Sediaan Gel Total Jerawat Ekstrak Bunga Melati (*Jasminum sambac* L). *Indonesian Journal on Medical Science*, 10(1), 31–36. <https://doi.org/10.55181/ijms.v10i1.413>
- Ashwlayan, V. D., Kumar, A., Verma, M., Garg, V. K., & Gupta, S. (2018). Therapeutic Potential of *Calendula officinalis*. *Pharmacy & Pharmacology International Journal*, 6(2), 149–155. <https://doi.org/10.15406/ppij.2018.06.00171>
- Baroroh, D. B. (2021). Konsep Luka Basic Nursing Departement. *Basic Nursing Department PSIK FIKES UMM 2021*, 2–3. http://s1-keperawatan.umm.ac.id/files/file/konsep_luka.pdf
- Demidova-Rice, T. N., Hamblin, M. R., & Herman, I. M. (2012). Acute and impaired wound healing: Pathophysiology and current methods for drug delivery, part 1: Normal and chronic wounds: Biology, causes, and approaches to care. *Advances in Skin and Wound Care*, 25(7), 304–314. <https://doi.org/10.1097/01.ASW.0000416006.55218.d0>
- Eming, S. A., Krieg, T., & Davidson, J. M. (2007). Inflammation in wound repair: Molecular and cellular mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(3), 514–525. <https://doi.org/10.1038/sj.jid.5700701>
- Givol, O., Kornhaber, R., Visentin, D., Cleary, M., Haik, J., & Harats, M. (2019). A systematic review of *Calendula officinalis* extract for wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, 27(5), 548–561. <https://doi.org/10.1111/wrr.12737>
- Guillon, A., Jouan, Y., Kassa-Sombo, A., Paget, C., & Dequin, P. F. (2024). Hydrocortisone rapidly and significantly reduces the IL-6 level in blood and lungs of patients with COVID-19-related ARDS. *Critical Care*, 28(1), 4–6. <https://doi.org/10.1186/s13054-024-04887-2>
- Holmes, S. (2014). *Choice of Vehicle for Topical Drug Therapy*. <http://www.utas.edu.au/health/engage/uni-view-school-of-medicine/open->
- Kartika RW. (2019). Chronic Wound Care with Modern Dressing. *Bagian Bedah Jantung Paru Dan Pembuluh Darah Wound Care/Diabetic Center, RS Gading Pluit*, 42(7), 546–550.
- Khotimah, H., Ariani, N., & Maimunah, L. (2023). Pengaruh Ekstrak *Calendula Officinalis* terhadap Lama Penyembuhan Luka Sayat pada Tikus Putih

- (Rattus Norvegicus). *Jurnal Penelitian Sains Dan Kesehatan Avicenna*, 2(3), 15–21.
- Kim, S. W., Roh, J., & Park, C. S. (2016). Immunohistochemistry for pathologists: Protocols, pitfalls, and tips. *Journal of Pathology and Translational Medicine*, 50(6), 411–418. <https://doi.org/10.4132/jptm.2016.08.08>
- Luze, H., Holzer, J., Kainz, S., Reisenegger, P., Holecek, C., Kotzbeck, P., Hofmann, E., Birngruber, T., Mautner, S., & Kamolz, L.-P. (2020). 646 Impact of Inflammation on Wound Healing. *Journal of Burn Care & Research*, 41(Supplement_1), S169–S169. <https://doi.org/10.1093/jbcr/iraa024.266>
- Mayba, J. N., & Gooderham, M. J. (2018). A guide to topical vehicle formulations. *Journal of Cutaneous Medicine and Surgery*, 22(2), 207–212. <https://doi.org/10.1177/1203475417743234>
- Narazaki, M., & Kishimoto, T. (2018). The two-faced cytokine IL-6 in host defense and diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11). <https://doi.org/10.3390/ijms19113528>
- Norvegicus, R., Diberi, Y., & Aterogenik, D. (2017). *Dafrosia Darmi Manggasa. Efek ekstrak etanol daging putih semangka dan Simvastatin Terhadap*.
- Parente, L. M. L., Lino Júnior, R. D. S., Tresvenzol, L. M. F., Vinaud, M. C., De Paula, J. R., & Paulo, N. M. (2012). Wound healing and anti-inflammatory effect in animal models of calendula officinalis L. growing in Brazil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/375671>
- Patil, K., Sanjay, C., Doggalli, N., Devi, K. R., & Harshitha, N. (2022). A Review of Calendula Officinalis Magic in Science. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 23–27. <https://doi.org/10.7860/jcdr/2022/52195.16024>
- Pia Batmomolin, Aulia Debby Pelu, & Astin Buton. (2023). Uji Farmakologi Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Waru Laut (Thespesia Populnea (L.) Soland) Pada Tikus Putih (Rattus Norvegicus). *Jurnal Pengabdian Ilmu Kesehatan*, 2(2), 70–77. <https://doi.org/10.55606/jpikes.v2i2.1276>
- Preethi, K. C., Kuttan, G., & Kuttan, R. (2018). Anti-inflammatory activity of flower extract of Calendula officinalis Linn. and its possible mechanism of action. *Indian Journal of Experimental Biology*, 47(2), 113–120.
- Primadina, N., Basori, A., & Perdanakusuma, D. S. (2019). Proses Penyembuhan Luka Ditinjau dari Aspek Mekanisme Seluler dan Molekuler. *Qanun Medika - Medical Journal Faculty of Medicine Muhammadiyah Surabaya*,

3(1), 31. <https://doi.org/10.30651/jqm.v3i1.2198>

Rosida, D. (2020). *PENGARUH PASTA TULANG IKAN GURAMI (Osphronemus gouramy)*.

Sangkota, R. (2022). *Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Delia Secara Oral Terhadap Kadar IL-6, VEGF, dan Jumlah Kolagen*. 1–86.

Sihotang, H. (2021). Penggunaan Calendula Officinalis sebagai Terapi Penyembuhan Luka di Kulit. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*, 3(3), 461–470. <https://doi.org/10.37287/jppp.v3i3.527>

Silva, D., Ferreira, M. S., Sousa-lobo, J. M., Cruz, M. T., & Almeida, I. F. (2021). *Anti-Inflammatory Activity of Calendula officinalis L. Flower Extract*. 1–7.

Sry, W. (2015). Perbandingan sifat fisik sediaan krim, gel, dan salep yang mengandung etil p- metoksisinamat dari ekstrak rimpang kencur (*kaempferia galanga linn.*). *Skripsi*, 20–25.

Suryadi, I. A., Asmarajaya, A., & Sri, M. (2013). Proses Penyembuhan dan Penanganan Luka. *E-Jurnal Medika Udayana*, 254–272.

Tanaka, T., Narazaki, M., & Kishimoto, T. (2014). *IL-6 in Inflammation, Immunity, and Disease*. 6(Kishimoto 1989).

Tanaka, T., Narazaki, M., & Kishimoto, T. (2018). *Interleukin (IL-6) Immunotherapy*.

Vaibhavi Jakhetia^{1*}, R. P. (2021). *Journal of Advanced Scientific Research*. ... of *Advanced Scientific* ..., 1(2), 19–23. http://www.sciensage.info/journal/1359303580JASR_3006121.pdf

Velnar, T., Bailey, T., & Smrkolj, V. (2009). The wound healing process: An overview of the cellular and molecular mechanisms. *Journal of International Medical Research*, 37(5), 1528–1542. <https://doi.org/10.1177/147323000903700531>

Wintoko, R., & Yadika, A. D. N. (2020). Manajemen terkini perawatan luka. *Jurnal Kedokteran Universitas Lampung*, 4(2), 183–189.

Zhao, R., Liang, H., Clarke, E., Jackson, C., & Xue, M. (2016). Inflammation in chronic wounds. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(12), 1–14. <https://doi.org/10.3390/ijms17122085>