

Gambaran Leukosit pada Proses Penyembuhan Patah Tulang Paha pada Tikus dengan Terapi Minyak Sasak Secara Topikal

(LEUKOCYTES PROFILE OF FEMORAL FRACTURE HEALING PROCESS IN RAT USING SASAK OIL THERAPY TOPICALLY)

Annita Vury Nurjunitar¹, Gunanti^{1,2}, Deni Noviana¹

¹Departemen Klinik Reproduksi dan Patologi,

²Rumah Sakit Hewan Pendidikan,

Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, Institut Pertanian Bogor,
Jl. Agatis, Kampus IPB Dramaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16680
+62 81321210382; Email: annitavurynurjunitar@apps.ipb.ac.id

ABSTRACT

Sasak oil is one of Indonesia traditional medicine products that can help the fracture healing. This study was aimed to analyze the leukocytes profile of femoral fracture healing process in rat using sasak oil therapy topically. This study used 28 male rats which were divided into four groups. All rats underwent closed fracture surgery of the mid-femoral diaphysis and intramedullary pin inserting. The group of P0 was control, P1 was given 0,1 mL of sasak oil twice a day, P2 was given 0,3 mL of sasak oil twice a day, and P3 was given 0,5 mL of sasak oil twice a day topically over the wound sutures for eight weeks. Blood sampling was conducted one day before surgery, the 2nd, 6th, and 8th week after surgery. Generally, leukocytes of the P3 group on the 2nd week after surgery decreased then increased on the 6th and 8th week, except neutrophils. On the 2nd week after surgery, neutrophils increased above normal significantly ($P < 0,05$) compared to the value before surgery. On the 6th week leukocytes, lymphocytes, and monocytes increased insignificantly ($P > 0,05$) compared to the 2nd week. Meanwhile, neutrophils decreased significantly ($P < 0,05$). The increasing and decreasing of those blood cells were still within the normal range and not different significantly ($P > 0,05$) with the 8th week. This study showed sasak oil at a dose of 0.5 mL (P3) given twice a day topically was more stable, and it could accelerate cell regeneration as well as it did not cause allergies.

Keywords: fracture; leukocytes; sasak oil; cell regeneration

ABSTRAK

Minyak sasak merupakan satu di antara produk obat tradisional Indonesia yang dapat membantu penyembuhan patah (fraktur) tulang. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis gambaran leukosit pada proses penyembuhan patah tulang paha pada tikus dengan terapi minyak sasak secara topikal. Penelitian ini menggunakan 28 ekor tikus jantan yang dibagi menjadi empat kelompok. Semua tikus menjalani operasi fraktur tertutup pada bagian tengah diafisis *os femur* dan pemasangan *pin intrameduler*. Kelompok P0 adalah kelompok kontrol, kelompok P1 diberi minyak sasak 0,1 mL dua kali per hari, kelompok P2 diberi minyak sasak 0,3 mL dua kali per hari, dan kelompok P3 diberi minyak sasak 0,5 mL dua kali per hari secara topikal di atas luka jahitan operasi selama delapan minggu. Pengambilan sampel darah dilakukan sehari sebelum operasi, minggu ke-2, 6, dan 8 setelah operasi. Secara umum, gambaran leukosit kelompok P3 pada minggu ke-2 setelah operasi jumlahnya mengalami penurunan kemudian meningkat pada minggu ke-6 dan ke-8, kecuali neutrofil. Pada minggu ke-2 setelah operasi, neutrofil mengalami peningkatan jumlah di atas nilai normal, dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan waktu sebelum operasi. Pada minggu ke-6 setelah operasi terjadi peningkatan jumlah leukosit, limfosit, dan monosit yang tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan minggu ke-2. Sementara neutrofil mengalami penurunan jumlah yang berbeda nyata

($P < 0,05$). Peningkatan dan penurunan jumlah sel darah putih tersebut masih berada dalam kisaran nilai normal dan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan minggu ke-8 setelah operasi. Penelitian ini menunjukkan pemberian minyak sasak dosis 0,5 mL (P3) dua kali per hari secara topical membuat kondisi menjadi lebih stabil, dapat mempercepat regenerasi sel-sel, dan tidak menyebabkan alergi.

Kata-kata kunci: fraktur; leukosit; minyak sasak; regenerasi sel

PENDAHULUAN

Patah tulang atau fraktur merupakan kasus yang sering terjadi pada hewan ditandai dengan rusaknya kontinuitas jaringan tulang (Bonafede *et al.*, 2013; Hak *et al.*, 2014; Rohmandhani *et al.*, 2019). Saat ini konsumsi ataupun produksi obat ditekan kepada pemanfaatan bahan alam karena dipercaya memiliki efek samping lebih sedikit dibanding obat kimia (Ubaidillah, 2017; Budiarti *et al.*, 2020).

Indonesia merupakan negara yang memiliki beragam jenis tumbuhan yang berpotensi sebagai bahan baku obat. Selain pengobatan medis, obat tradisional sering digunakan sebagai pengobatan alternatif untuk meningkatkan kesehatan (Yuliani *et al.*, 2020). Minyak sasak merupakan produk obat tradisional yang berasal dari Kota Denpasar, Provinsi Bali, Indonesia.

Minyak sasak adalah ramuan tradisional warisan leluhur yang diproduksi dengan cara yang modern sehingga menghasilkan produk yang sangat unggul untuk menjaga kesehatan dan kesegaran tubuh. Secara umum, minyak sasak digunakan oleh masyarakat sebagai minyak gosok untuk meredakan pegal linu, encok, dan nyeri pada persendian serta membantu meringankan bengkak/memar akibat terkilir atau terbentur. Khasiat minyak sasak ini bisa membuat rileks, mengatasi segala jenis penyakit tulang (rematik, nyeri sendi, tulang bergeser atau keseleo, sakit pinggang, dan lain-lain), mengatasi masalah otot (kram otot, otot kejang, otot tegang, leher tegang, otot bengkak), luka, gatal-gatal bekas gigitan serangga dan lain-lain. Bahan baku minyak sasak antara lain *Virgin Coconut Oil*, minyak cengkeh, kapulaga, minyak serai, kencur, minyak lawang, minyak kayu manis, jahe, dan cabai jawa (Saputro, 2019). Minyak sasak ini mengandung flavonoid, fenolik, vitamin C, alkaloid, terpenoid, dan asam lemak seperti asam miristat, asam stearat, asam laurat, asam palmitat, asam oleat (Singh *et al.*, 2012; Evizal, 2013; Purbowatiningrum *et al.*, 2013; Handrianto, 2016; Novilla *et al.*, 2017; Puspitasari dan Wulandari, 2017; Riski

dan Panjaitan, 2018; Djarot *et al.*, 2019). Kandungan tersebut memiliki efek farmakologis sebagai antimikrob, antioksidan, antiinflamasi, antifungi, dan analgesik yang dapat membantu proses penyembuhan fraktur (Saxena *et al.*, 2013; Ibrahim, 2015; Sohilit dan Kainama, 2016; Timung, 2016). Selain kaya akan zat aktif dan ekonomis, minyak sasak juga mudah didapatkan.

Kejadian fraktur sering ditangani di rumah sakit maupun klinik hewan. Selain pemeriksaan radiografi, gambaran darah merupakan indikator penting untuk melihat status kesehatan hewan (Yudaniyanti *et al.*, 2014; He *et al.*, 2017). Leukosit memiliki peranan penting dalam penyembuhan fraktur. Leukosit terdiri atas neutrofil, limfosit, monosit, basofil, dan eosinofil. Saat terjadi fraktur, pembuluh darah mengalami kerusakan sehingga terjadi pendarahan. Kerusakan pembuluh darah lokal dapat mengaktifasi sel-sel tersebut. Tahap inflamasi diperlukan untuk memastikan penyembuhan fraktur secara normal melalui angiogenesis, perbaikan jaringan yang rusak, dan *remodelling*. Respons inflamasi hanya berlangsung singkat. Rekrutmen dan aktivasi sel progenitor mesenkim bergantung pada respons inflamasi ini, dengan demikian, leukosit merupakan bagian integral dari penyembuhan fraktur (Baht *et al.*, 2018). Adanya gangguan metabolisme, penyakit, kerusakan struktur atau fungsi organ, pengaruh agen/obat, dan stres dapat diketahui dari perubahan gambaran darah (Iheidioha *et al.*, 2012).

Leukosit merupakan komponen darah yang berfungsi sebagai sel pertahanan tubuh terhadap agen infeksi dan benda asing dalam proses penyembuhan fraktur (Perren *et al.*, 2017; Erwin *et al.*, 2020). Neutrofil merupakan komponen leukosit terbanyak yang berfungsi untuk fagositosis, terutama bakteri (Harvey, 2012). Pada tahap inflamasi penyembuhan fraktur, neutrofil mensekresikan banyak sitokin seperti interleukin (IL)-1, IL-6, IL-10, *tumor necrosis factor alpha* (TNF- α), *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1), *chemokine motif ligand-1 α* (CXCL-1 α), dan *macrophage*

Tabel 1. Pemeriksaan darah (Data leukosit ($10^3/\mu\text{L}$)) sehari sebelum operasi, minggu ke-2, 6, dan 8 setelah operasi fraktur femur

Waktu	Kelompok			
	P0	P1	P2	P3
H-1	13.39±1.78 ^{a1}	13.16±5.34 ^{a4}	13.78±4.60 ^{a6}	13.42±3.61 ^{a7}
M+2	6.53±1.56 ^{b2}	8.06±1.86 ^{b5}	11.38±3.07 ^{c6}	12.81±2.20 ^{c7}
M+6	12.23±0.35 ^{d13}	10.93±0.67 ^{d45}	12.49±3.32 ^{d6}	12.00±3.35 ^{d7}
M+8	11.39±1.83 ^{e3}	10.77±1.24 ^{e45}	12.57±1.95 ^{e6}	12.82±5.66 ^{e7}

Keterangan: Data disajikan dalam bentuk rata-rata dengan standar deviasi ($x \pm \text{SD}$). Huruf *superscript* (a, b, c, d, e) yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata antar kelompok perlakuan dan angka *superscript* (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7) yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata antar waktu pengamatan ($P < 0,05$). H-1= sehari sebelum operasi; M+2= minggu ke-2 setelah operasi; M+6= minggu ke-6 setelah operasi; M+8= minggu ke-8 setelah operasi.

inflammatory protein-1 (MIP-1) untuk menarik monosit yang kemudian berdiferensiasi menjadi makrofag. Neutrofil juga berkontribusi dalam pembentukan fibrin trombus. Limfosit bertanggung jawab untuk sistem imun adaptif. Limfosit T dapat memproduksi IL-17 untuk menginduksi antiinflamasi, diferensiasi dan aktivasi osteogenik serta membantu pematangan osteoblas. Pada tahap pembentukan kalus, limfosit berperan menghasilkan sitokin dan protein *receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand* (RANKL) untuk rekrutmen, diferensiasi, dan aktivasi osteoklas yang kemungkinan berkontribusi dalam menghilangkan fibrin trombus untuk digantikan menjadi kalus. Pada tahap *remodelling*, IL-17 berperan meningkatkan sekresi RANKL untuk peningkatan proliferasi dan aktivasi osteoklas (Baht *et al.*, 2018). Monosit umum dijumpai pada fase peradangan akut menuju kronis (Harvey, 2012). Monosit dapat berdiferensiasi menjadi makrofag pada jaringan yang berfungsi dalam proses proinflamasi dan antiinflamasi, produksi sitokin untuk merekrut

fibroblas, *mesenchymal stem cells* (MSCs), sel osteoprogenitor, menginduksi diferensiasi *osteokondral*, dan angiogenesis. Pada awal proses penyembuhan fraktur, makrofag menginduksi inflamasi dengan mensekresikan IL-1, IL-6, TNF- α , MCP-1, dan MIP-1 untuk fagositosis sel nekrosis dan fibrin trombus. Pada tahap pembentukan kalus, makrofag berfungsi sebagai antiinflamasi dengan mensekresikan sinyal perbaikan jaringan (IL-10, *transforming growth factor- β* (TGF- β), BMP-2, an *vascular endothelial growth factor* (VEGF), merekrut sel progenitor mesenkimal, menginduksi diferensiasi *osteokondral*, dan angiogenesis (Juban dan Chazaud, 2017; Mescher, 2017; Baht *et al.*, 2018; Lee *et al.*, 2018). Basofil berfungsi memberikan perlindungan terhadap alergen, cacing, dan ektoparasit dengan membangkitkan reaksi hipersensitivitas dengan sekresi mediator radang yang bersifat vasoaktif. Eosinofil berfungsi mengatur reaksi hipersensitivitas tipe 1 dan proses peradangan serta menangani infeksi cacing dalam tubuh (Harvey, 2012).

Tabel 2. Pemeriksaan darah (Data neutrofil ($10^3/\mu\text{L}$)) sehari sebelum operasi, minggu ke-2, 6, dan 8 setelah operasi fraktur femur

Waktu	Kelompok			
	P0	P1	P2	P3
H-1	2.66±0.58 ^{a1}	2.32±1.03 ^{a2}	2.58±1.06 ^{a3}	2.27±0.41 ^{a4}
M+2	1.67±0.57 ^{d1}	2.39±1.00 ^{bd2}	3.70±1.67 ^{bc3}	4.38±1.27 ^{e5}
M+6	2.53±1.09 ^{f1}	1.69±0.34 ^{e2}	2.56±0.42 ^{f3}	1.91±0.67 ^{ef4}
M+8	2.63±1.38 ^{g1}	1.97±0.28 ^{g2}	2.87±0.82 ^{g3}	2.76±1.36 ^{g4}

Keterangan: Data disajikan dalam bentuk rata-rata dengan standar deviasi ($x \pm \text{SD}$). Huruf *superscript* (a, b, c, d, e, f, g) yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata antar kelompok perlakuan dan angka *superscript* (1, 2, 3, 4, 5) yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata antar waktu pengamatan ($P < 0,05$). H-1= sehari sebelum operasi; M+2= minggu ke-2 setelah operasi; M+6= minggu ke-6 setelah operasi; M+8= minggu ke-8 setelah operasi.

Tabel 3. Pemeriksaan darah (Data limfosit ($10^3/\mu\text{L}$) sehari sebelum operasi, minggu ke-2, 6, dan 8 setelah operasi fraktur *femur*)

Waktu	Kelompok			
	P0	P1	P2	P3
H-1	9.85±1,26 ^{a1}	9.94±4.41 ^{a4}	10.24±3.63 ^{a6}	10.11±3.47 ^{a8}
M+2	4.38±1,05 ^{b2}	5.15±0.82 ^{b5}	7.05±2.26 ^{c7}	7.70±1.79 ^{c8}
M+6	8.96±1,10 ^{d13}	8.47±0.19 ^{d4}	9.08±3.15 ^{d67}	9.20±3.07 ^{d8}
M+8	7.92±0,16 ^{e3}	8.00±1.19 ^{e4}	8.85±1.91 ^{e67}	9.17±4.36 ^{e8}

Keterangan: Data disajikan dalam bentuk rata-rata dengan standar deviasi ($x \pm \text{SD}$). Huruf *superscript* (a, b, c, d, e) yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata antar kelompok perlakuan dan angka *superscript* (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8) yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata antar waktu pengamatan ($P < 0,05$). H-1= sehari sebelum operasi; M+2= minggu ke-2 setelah operasi; M+6= minggu ke-6 setelah operasi; M+8= minggu ke-8 setelah operasi.

Penelitian mengenai penyembuhan fraktur sudah banyak dilakukan, tetapi pemanfaatan sediaan minyak sasak untuk kesembuhan fraktur belum banyak dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis gambaran leukosit pada proses penyembuhan fraktur *os femur* pada tikus dengan terapi minyak sasak secara topikal.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari-Maret 2022 di Laboratorium Penelitian Hewan Coba, *Makassar Pet Clinic*. Semua prosedur penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komite Etik Penelitian Kesehatan, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin dengan nomor 782/UN4.6.4.5.31/PP36/2021.

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Tikus jantan galur *Sprague Dawley* sebanyak 28 ekor yang berumur 12

minggu dengan bobot badan 250-300 g dibagi secara acak ke dalam empat kelompok masing-masing berjumlah tujuh ekor tikus. Kelompok P0 adalah kelompok kontrol hewan coba fraktur, kelompok P1 hewan coba fraktur diberi minyak sasak 0,1 mL dua kali per hari, kelompok P2 hewan coba fraktur diberi minyak sasak 0,3 mL dua kali per hari, dan kelompok P3 hewan coba fraktur diberi minyak sasak 0,5 mL dua kali per hari selama delapan minggu, diberi minyak sasak (Sasak Herbal Oil[®], CV Sehat Nusantara, Denpasar, Indonesia) secara topikal.

Aklimatisasi

Aklimatisasi hewan dilakukan selama dua minggu (Noviana *et al.*, 2016a). Tikus dipelihara dalam kandang bak plastic beralaskan sekam padi dan berpenutup kawat ayam, masing-masing kandang berisi dua ekor. Saat aklimatisasi, tikus diberikan antelmintik *albendazole* (Kalbazen=C[®], PT Kalbe Farma, Bekasi, Indonesia) 30 mg/kg BB secara per oral satu kali per hari pada hari ke-3 dan ke-9, antibiotik *amoxicillin* (Amoxsan[®], PT Sanbe

Tabel 4. Pemeriksaan darah (Data monosit ($10^3/\mu\text{L}$) sehari sebelum operasi, minggu ke-2, 6, dan 8 setelah operasi fraktur *femur*)

Waktu	Kelompok			
	P0	P1	P2	P3
H-1	0.79±0.41 ^{a1}	0.80±0.31 ^{a3}	0.82±0.54 ^{a5}	0.89±0.18 ^{a6}
M+2	0.47±0.15 ^{b2}	0.52±0.16 ^{b4}	0.64±0.27 ^{b5}	0.73±0.40 ^{b6}
M+6	0.57±0.30 ^{c12}	0.61±0.13 ^{c34}	0.70±0.22 ^{c5}	0.76±0.08 ^{c6}
M+8	0.67±0.18 ^{d12}	0.70±0.12 ^{d34}	0.77±0.17 ^{d5}	0.82±0.42 ^{d6}

Keterangan: Data disajikan dalam bentuk rata-rata dengan standar deviasi ($x \pm \text{SD}$). Huruf *superscript* (a, b, c, d) yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata antar kelompok perlakuan dan angka *superscript* (1, 2, 3, 4, 5, 6) yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata antar waktu pengamatan ($P < 0,05$). H-1= sehari sebelum operasi; M+2= minggu ke-2 setelah operasi; M+6= minggu ke-6 setelah operasi; M+8= minggu ke-8 setelah operasi.

Tabel 5. Pemeriksaan darah (Data basofil ($10^3/\mu\text{L}$)) sehari sebelum operasi, minggu ke-2, 6, dan 8 setelah operasi fraktur *femur*

Waktu	Kelompok			
	P0	P1	P2	P3
H-1	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
M+2	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
M+6	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
M+8	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00

Farma [PT Caprifarmindo Laboratories], Bandung, Indonesia) 15 mg/kg BB secara per oral dua kali per hari selama lima hari yaitu mulai hari ke-4 sampai ke-8, dan antiprotozoa *benzoyl metronidazole* (Flagyl[®], PT Guardian Pharmatama, Bogor, Indonesia [PT Aventis Pharma], Jakarta, Indonesia) 20 mg/kg BB per oral dua kali per hari pada hari ke-10 sampai ke-12 (Noviana *et al.*, 2016b; Plumb, 2018).

Pemasangan Pin Intramedular

Anestesi dilakukan menggunakan kombinasi *ketamine* (Ket-A-100[®], Agrovat Market Animal Health, Lima, Peru) dan *xylazine* (Xyla[®], Interchemie werken "De Adelaar" B.V., Venray, Belanda) dengan dosis masing-masing 40 mg/kg BB dan 5 mg/kg BB secara *intraperitoneal* (Plumb, 2018). Pemasangan *pin* dilakukan pada *os femoral* kaki kanan melalui operasi steril dan aseptis. Insisi kulit dan jaringan subkutan bagian *cranio lateral* tulang paha yang segaris dari *trochanter mayor* ke *patella* (Erwin *et al.*, 2018). Preparasi otot-otot paha dilakukan pada daerah *femur* hingga permukaan *os femur* dapat terlihat (Libardoni *et al.*, 2018). Bagian tengah diafisis *os femur* dipotong menggunakan *bone saw*. Jenis fraktur yang dilakukan merupakan fraktur transversal. Tahap selanjutnya dilakukan pengukuran panjang *pin* diameter 1,3 mm yang digunakan dan disesuaikan dengan panjang *os femur*. Diameter *pin* harus disesuaikan, yaitu 70-80% dari diameter kanalis medularis (Syafuruddin *et al.*, 2004). *Pin* (Kirchner Wire, diameter 1,3 mm) selanjutnya dimasukkan ke dalam kanalis medularis *os femur* melalui ujung fragmen tulang yang patah bagian distal dan didorong hingga tidak dapat digerakkan lagi. Fragmen tulang bagian proksimal diambil dan didorong ujung atas *pin* yang sudah terpasang dalam kanalis medularis fragmen tulang bagian distal tadi ke dalam kanalis medularis fragmen tulang proksimal sampai tulang tersambung secara sempurna. Setelah pemasangan *pin* selesai, dilakukan penutupan otot-otot paha

dengan cara penjahitan metode menerus. Penutupan subkutan dan kulit dilakukan dengan penjahitan metode terputus sederhana. Benang yang digunakan adalah benang *polyglactin* 910 ukuran 5-0 (Vicryl[™], Ethicon, Edinburg, Skotlandia) dan luka ditutup dengan kasa steril dan plester kedap air (Leukoplast[®], BSN Medical, Taggerang, Indonesia) (Noviana *et al.*, 2016b; Rohmandhani *et al.*, 2019). Pelepasan jahitan dilakukan pada hari ke-7 setelah operasi.

Terapi

Pengobatan setelah operasi dilakukan pemberian antibiotik yang mengandung *amoxicillin* dan *clavulanic acid* (Claneksi[®], PT Sanbe Farma, Bandung, Indonesia) secara per oral dengan dosis 15 mg/kg BB dua kali/hari selama 10 hari, serta analgesik *flunixin meglumine* (Fortis[®], Dong Bang Co., Ltd, Suwon-si, Korea Selatan) secara subkutan dengan dosis 2,5 mg/kg BB dua kali/hari (Plumb, 2018) selama lima hari pada semua kelompok perlakuan. Kelompok P0 tidak diberi obat topikal, kelompok P1 diberi minyak sask 0,1 mL dua kali per hari, kelompok P2 0,3 mL dua kali per hari, dan kelompok P3 0,5 mL dua kali per hari secara topikal di atas luka jahitan yaitu pada pagi dan malam hari selama delapan minggu.

Pengambilan Sampel Darah

Pemeriksaan darah dilakukan sehari sebelum operasi, minggu ke-2, 6, dan 8 setelah operasi fraktur *femur*. Sebelum dilakukan pemeriksaan darah semua tikus dianestesi lebih dahulu dengan menggunakan kombinasi *ketamine* (25 mg/kg BB) dan *xylazine* (8 mg/kg BB). Pengambilan darah dilakukan melalui ekor (*vena coccygea*). Pada akhir penelitian, pengambilan darah dilakukan langsung dari jantung dengan menggunakan *syringe* 3 mL. Sampel darah diambil minimal 0,25 mL dimasukkan ke dalam *micro tube* berwarna ungu yang berisi *ethylenediaminetetraacetic*

Tabel 6. Pemeriksaan darah (Data eosinofil ($10^3/\mu\text{L}$) sehari sebelum operasi, minggu ke-2, 6, dan 8 setelah operasi fraktur *femur*

Waktu	Kelompok			
	P0	P1	P2	P3
H-1	0.09±0.06 ^{a12}	0.10±0.10 ^{a3}	0.13±0.03 ^{a68}	0.15±0.09 ^{a9}
M+2	0.00±0.01 ^{b1}	0.00±0.01 ^{b4}	0.00±0.01 ^{b7}	0.00±0.00 ^{b10}
M+6	0.17±0.04 ^{c2}	0.16±0.03 ^{c5}	0.15±0.04 ^{c6}	0.13±0.10 ^{c9}
M+8	0.18±0.21 ^{d2}	0.10±0.04 ^{d3}	0.08±0.10 ^{d8}	0.06±0.09 ^{d910}

Keterangan: Data disajikan dalam bentuk rata-rata dengan standar deviasi ($x \pm \text{SD}$). Huruf *superscript* (a, b, c, d) yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata antar kelompok perlakuan dan angka *superscript* (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata antar waktu pengamatan ($P < 0,05$). H-1= sehari sebelum operasi; M+2= minggu ke-2 setelah operasi; M+6= minggu ke-6 setelah operasi; M+8= minggu ke-8 setelah operasi.

acid (EDTA). Darah yang telah dikoleksi kemudian dianalisis dengan alat pemeriksaan darah (Abaxis VetScan HM5). Pemeriksaan darah meliputi jumlah leukosit (total, neutrofil, limfosit, monosit, basofil, dan eosinofil). Gambaran darah secara langsung dapat menunjukkan kondisi hewan secara sistemik.

Analisis Data

Data dianalisis menggunakan *software* R 4.1.3 *for windows*. Pengamatan perbedaan leukosit antar kelompok perlakuan dan waktu pengamatan dianalisis secara statistika dengan *one way repeated measures analysis of variance*. Jika hasil diperoleh nilai $P < 0,05$ (berbeda nyata), dilanjutkan dengan uji *Bonferroni*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyembuhan fraktur merupakan proses kompleks yang melibatkan berbagai komponen biologis dan seluler di dalam tubuh. Penyembuhan tulang diklasifikasi menjadi empat tahap, yaitu tahap hematoma dan inflamasi (0-5 hari), pembentukan kalus lunak (5-10 hari), pembentukan kalus keras (16-21 hari), dan *remodelling* (21-35 hari) (Einhorn dan Gerstenfeld, 2014). Menurut Iwamoto *et al.* (2010), penyembuhan lengkap fraktur tulang umumnya terlihat pada minggu ke-6 sampai ke-8 setelah operasi. Pemberian minyak sarak berperan sebagai antioksidan yang dapat menekan stres oksidatif pada tubuh sehingga meningkatkan jumlah osteoblas. Stres oksidatif menstimulasi peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) sehingga terjadi peroksidasi lipid yang menghambat regenerasi sel (Nugroho *et al.*, 2019).

Leukosit

Penelitian ini menunjukkan adanya fluktuasi leukosit pada minggu ke-2, 6, dan 8 setelah operasi (Tabel 1). Nilai normal leukosit pada tikus penelitian ini adalah $9,60-17,27 \times 10^3/\mu\text{L}$. Menurut Delwatta *et al.* (2018), nilai normal leukosit tikus *Sprague Dawley* jantan adalah $6,37-11,91 \times 10^3/\mu\text{L}$. Gambaran leukosit pada minggu ke-2 setelah operasi menunjukkan kelompok P0 dan P1 mengalami leukopenia yang berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan waktu sebelum operasi. Pada kelompok P2 dan P3 mengalami penurunan jumlah leukosit yang tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan waktu sebelum operasi dan masih berada di kisaran nilai normal. Kelompok P0 mengalami penurunan leukosit paling besar sedangkan kelompok P3 mengalami penurunan jumlah leukosit paling kecil dibandingkan kelompok lain. Semakin tinggi dosis minyak sarak yang diberikan, semakin rendah penurunan jumlah leukosit.

Penurunan jumlah leukosit menunjukkan respons tubuh tikus sangat aktif terhadap perlakuan karena adanya peningkatan migrasi leukosit dari sirkulasi darah ke dalam jaringan sebagai respons terhadap jaringan yang rusak (Wulandari dan Puspitasari, 2019). Penurunan jumlah leukosit yang kecil pada kelompok yang diberi minyak sarak diduga akibat adanya kandungan flavonoid, *fenolik*, alkaloid, vitamin C, dan asam laurat yang berfungsi sebagai antiinflamasi, antioksidan, antimikrob, antifungi, dan analgesik yang dapat membantu proses penyembuhan fraktur (Evizal, 2013; Purbowatiningrum *et al.*, 2013; Tanaka dan Takahashi, 2013; Saxena *et al.*, 2013; Ibrahim, 2015; Handrianto, 2016; Novilla *et al.*, 2017; Puspitasari dan Wulandari, 2017).

Pada minggu ke-6 setelah operasi, semua kelompok mengalami peningkatan jumlah leukosit hampir menyamai jumlah leukosit sebelum operasi. Analisis statistika menunjukkan bahwa jumlah leukosit pada minggu ke-6 dan ke-8 tidak ada perbedaan nyata ($P>0,05$) antar kelompok dan waktu pengamatan.

Neutrofil

Gambaran neutrofil pada minggu ke-2 setelah operasi menunjukkan adanya peningkatan jumlah neutrofil pada kelompok P1, P2, dan P3 sedangkan P0 mengalami penurunan jumlah neutrofil di bawah nilai normal (Tabel 2). Nilai normal neutrofil pada tikus penelitian ini adalah $1,69-3,23 \times 10^3/\mu\text{L}$. Menurut Delwatta *et al.* (2018), nilai normal neutrofil tikus adalah $1,03-3,46 \times 10^3/\mu\text{L}$. Jumlah neutrofil pada kelompok P1 masih berada dalam kisaran nilai normal sedangkan pada kelompok P2 dan P3 berada di atas nilai normal. Kelompok P3 mengalami peningkatan jumlah neutrofil paling besar di atas nilai normal yang berbeda nyata ($P<0,05$) dengan waktu sebelum operasi. Semakin tinggi dosis minyak sarak yang diberikan, semakin tinggi peningkatan jumlah neutrofil. Pada minggu ke-6 setelah operasi, kelompok P1, P2, dan P3 telah mengalami penurunan jumlah neutrofil pada kisaran nilai normal. Pada kelompok P0 baru mengalami peningkatan neutrofil pada kisaran nilai normal hingga minggu ke-8.

Neutrofilia yang teramati pada minggu ke-2 yakni pada tahap pembentukan kalus diduga karena perpanjangan proses biologis yang dilakukan oleh neutrofil, seperti *debridement*, rekrutmen monosit, dan induksi pembentukan fibrin (Kolaczowska dan Kubes; 2013; Baht *et al.*, 2018; Yang dan Liu, 2021). Hal ini menunjukkan respons tubuh tikus sangat aktif untuk melakukan perbaikan jaringan disebabkan oleh pemberian minyak sarak yang berfungsi sebagai antioksidan untuk menekan stres oksidatif sehingga mempercepat regenerasi sel. Sementara *neutropenia* pada kelompok P0 diduga karena tidak adanya pemberian minyak sarak sehingga terjadi permintaan peningkatan migrasi neutrofil yang lebih banyak ke jaringan yang rusak (Wulandari dan Puspitasari, 2019).

Limfosit

Nilai normal limfosit pada tikus penelitian ini adalah $6,84-13,23 \times 10^3/\mu\text{L}$. Menurut Delwatta *et al.* (2018), nilai normal

limfosit tikus adalah $4,37-9,74 \times 10^3/\mu\text{L}$. Gambaran limfosit pada minggu ke-2 setelah operasi menunjukkan kelompok P0 dan P1 mengalami limfositopenia yang berbeda nyata ($P<0,05$) dengan waktu sebelum operasi. Pada kelompok P2 dan P3 mengalami penurunan jumlah limfosit yang masih berada dalam kisaran nilai normal (Tabel 3). Kelompok P0 mengalami penurunan limfosit paling besar sedangkan kelompok P3 mengalami penurunan jumlah limfosit paling kecil dibandingkan kelompok lain dan tidak berbeda nyata ($P>0,05$) dengan waktu sebelum operasi. Penurunan jumlah limfosit disebabkan oleh imunosupresi setelah operasi akibat peningkatan migrasi limfosit ke jaringan yang rusak untuk pertahanan tubuh (Wulandari dan Puspitasari, 2019). Nilai yang lebih tinggi pada kelompok P3 mengindikasikan adanya proses rekrutmen limfosit yang lebih tinggi pada jaringan yang diberikan minyak sarak. Hal ini diduga karena adanya perpanjangan fungsi limfosit dalam penyembuhan fraktur tulang.

Pada minggu ke-6 setelah operasi, semua kelompok mengalami peningkatan jumlah limfosit hampir menyamai jumlah limfosit sebelum operasi dan tidak ada perbedaan nyata ($P>0,05$) antar kelompok dan waktu pengamatan pada minggu ke-8. Hal ini menunjukkan jumlah limfosit pada kelompok P3 lebih stabil.

Monosit

Gambaran monosit pada minggu ke-2 setelah operasi menunjukkan adanya penurunan jumlah monosit tapi masih dalam kisaran nilai normal pada semua kelompok. Nilai normal monosit pada tikus penelitian ini adalah $0,47-1,19 \times 10^3/\mu\text{L}$. Menurut Delwatta *et al.* (2018), nilai normal monosit tikus adalah $0,01-0,07 \times 10^3/\mu\text{L}$. Penurunan jumlah monosit dapat disebabkan oleh peningkatan fagositosis sehingga membuat monosit menuju jaringan untuk membentuk makrofag (Satyaningtjas *et al.*, 2014). Pada penelitian ini, pengamatan pada tahap pembentukan kalus menunjukkan kemungkinan fungsi monosit sudah berada pada tahap perbaikan jaringan, seperti rekrutmen sel progenitor mesenkimal, menginduksi diferensiasi *osteokondral*, dan angiogenesis. Pada minggu ke-6 dan ke-8 setelah operasi, semua kelompok mengalami peningkatan jumlah monosit, namun masih berada dalam kisaran nilai normal dan tidak ada perbedaan nyata ($P>0,05$) antar kelompok dan waktu pengamatan (Tabel 4).

Basofil

Nilai normal basofil pada tikus penelitian ini adalah $0,00-0,00 \times 10^3/\mu\text{L}$. Menurut Delwatta *et al.* (2018), nilai normal basofil tikus adalah $0,02-0,09 \times 10^3/\mu\text{L}$. Pada penelitian ini, uji sidik ragam tidak dapat dilakukan pada basofil karena nilainya terlalu kecil dengan nilai rata-rata nol (Tabel 5). Jumlah basofil masih berada dalam kisaran nilai normal. Hal ini menunjukkan bahwa minyak sasak yang diuji tidak membangkitkan reaksi alergi.

Eosinofil

Gambaran eosinofil pada minggu ke-2 setelah operasi menunjukkan adanya penurunan jumlah eosinofil pada semua kelompok perlakuan dan nilainya berada di bawah kisaran nilai normal (Tabel 6). Nilai normal eosinofil pada tikus penelitian ini adalah $0,05-0,18 \times 10^3/\mu\text{L}$. Menurut Delwatta *et al.* (2018), nilai normal eosinofil tikus adalah $0,04-0,44 \times 10^3/\mu\text{L}$. Menurut Luhulima *et al.* (2013), penurunan jumlah eosinofil yang bersirkulasi dalam tubuh disebabkan oleh peningkatan jumlah eosinofil di sekitar jaringan.

Pada minggu ke-6 setelah operasi, semua kelompok mengalami peningkatan jumlah eosinofil tapi masih berada dalam kisaran nilai normal. Peningkatan eosinofil yang rendah pada kelompok perlakuan yang diberikan minyak sasak diduga akibat kandungan flavonoid dan vitamin C berfungsi sebagai antiinflamasi maupun antihistamin (Tanaka dan Takahashi, 2013; Yang *et al.*, 2013; Asha *et al.*, 2015). Flavonoid dapat menghambat enzim *lipooksigenase* dan degranulasi sel *mast* melalui mekanisme penghambatan pelepasan kalsium (Ca) intraseluler. Enzim *lipooksigenase* dan degranulasi sel *mast* yang dihambat menyebabkan mediator yang menstimulasi perekrutan eosinofil ke jaringan, seperti *histamin*, *leukotrien*, dan *prostaglandin* tidak terbentuk (Tanaka dan Takahashi, 2013; Yang *et al.*, 2013). Hal ini menunjukkan bahwa minyak sasak dapat menekan reaksi inflamasi maupun alergi.

SIMPULAN

Gambaran leukosit pada proses penyembuhan fraktur *os femur* lebih stabil pada kelompok P3 dengan dosis minyak sasak 0,5 mL dua kali per hari. Minyak sasak dapat mempercepat regenerasi sel dan tidak menyebabkan alergi. Pemberian minyak sasak secara topical dapat memengaruhi proses

penyembuhan fraktur *os femur* pada tikus menjadi lebih cepat.

SARAN

Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan terhadap analisis kadar mineral darah dan pemeriksaan histopatologi untuk mendukung hasil pemeriksaan darah sehingga efektivitas minyak sasak dapat disimpulkan secara komprehensif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada *Makassar Pet Clinic* yang telah membantu menyediakan fasilitas dan CV Sehat Nusantara yang telah menyediakan minyak sasak dalam penelitian. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Dr. Andhika Yudha Prawira, M.Si dari Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) yang telah memberi dukungan.

DAFTAR PUSTAKA

- Asha S, Thirunavukkarasu P, Mohamad SA. 2015. Phytochemical screening of *Euphorbia hirtalinn* leaf extracts. *World J Pharm Sci* 3(6): 1104-1112.
- Baht GS, Vi L, Alman BA. 2018. The role of the immune cells in fracture healing. *Curr Osteoporos Rep* 16(2): 138-145.
- Bonafede M, Espindle D, Bower AG. 2013. The direct and indirect costs of long bone fractures in a working age US population. *J Med Econ* 16(1): 169-178.
- Budiarti M, Maruzy A, Mujahid R, Sari AN, Jokopriyambodo W, Widayat T, Wahyono S. 2020. The use of antimalarial plants as traditional treatment in Papua Island, Indonesia. *Heliyon* 6(12): 1-10.
- Delwatta SL, Gunatilake M, Baumans V, Senebiratne MD, Dissanayaka MLB, Batagoda SS, Udagedara AH, Walpola PB. 2018. Reference values for selected hematological, biomedical and physiological of *Sparague-Dawley* rats at the animal house, faculty of medicine, university of Colombo, Sri Lanka. *Animal Model Exp Med* 1: 250-254.
- Djarot P, Moerfiah, Ambarwati D. 2019. Lilin aromatik minyak atsiri kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) sebagai repelen lalat rumah (*Musca domestica*). *Ekologia* 19(2): 55-64.
- Einhorn TA, Gerstenfeld LC. 2014. Fracture healing: mechanism and interventions. *Nat Rev Rheumatol* 11(1): 45-54.

- Erwin, Rusli, Etriwati, Imanda DR, Fadli H. 2018. Fiksasi fraktur kominutif os femur menggunakan intramedullary pin dan wire pada kucing domestik (*Felis domestica*). *Asosiasi Rumah Sakit Hewan Indonesia Veterinary Letters* 2(4): 73-74.
- Erwin, Rusli, Jones FD. 2020. Profil Darah pada Kucing Selama Proses Kesembuhan Luka Melalui Teknik *Skin Flaps* Rotasi yang Dirawat dengan *Dry Dressing* dan *Moist Dressing*. *Jurnal Ilmu Peternakan dan Veteriner Tropis* 10(1): 37-44.
- Evizal R. 2013. *Tanaman Rempah dan Fitofarmaka*. Bandar Lampung. Lembaga Penelitian Universitas Lampung.
- Hak DJ, Fitzpatrick D, Bishop JA, Marsh JL, Tilp S, Schnettler R, Simpson H, Alt V. 2014. Delayed union and nonunions: Epidemiology, clinical issues, and financial aspects. *Int J Care Injured* 45(Supl 2): S3-S7.
- Handrianto P. 2016. Uji antibakteri ekstrak jahe merah *Zingiber officinale var. Rubrum* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J Res Technol* 2(1): 1-4.
- Harvey JW. 2012. *Veterinary Hematology, A Diagnostic Guide and Color Atlas*. Missouri (US). Elsevier.
- He Q, Su G, Liu K, Zhang F, Jiang Y, Gao J, Liu L, Jiang Z, Jin M, Xie H. 2017. Sex-specific reference intervals of hematological and biochemical analytes in *Sparague-Dawley* rats using the nonparametric rank percentile method. *PLoS One* 12(12): 1-18.
- Ibrahim. 2015. Pengaruh suhu dan lama waktu ekstraksi terhadap sifat kimia dan fisik pada pembuatan minuman sari jahe merah dengan kombinasi madu sebagai pemanis. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 3(2): 530-541.
- Ihedioha JI, Ugwuja JI, Noel-Uneke OA, Udeani IJ, Daniel-Igwe G. 2012. Reference values for the haematology profile of conventional grade outbred albino mice (*Mus musculus*) in Nsukka, Eastern Nigeria. *Animal Research International* 9(2): 1601-1612.
- Iwamoto J, Seki A, Sato Y, Matsumoto, Takeda, T, Yeh JK. 2010. Vitamin K2 promotes bone healing in a rat femoral osteotomy model with or without glucocorticoid treatment. *Calcif Tissue Int* 86(3): 234-241.
- Juban G, Chazaud B. 2017. Metabolic regulation of macrophages during tissue repair: insights from skeletal muscle regeneration. *Federation of European Biochemical Societies (FEBS) Lett* 591(19): 3007-3021.
- Kolaczowska E, Kubes P. 2013. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol* 13: 159-175.
- Lee J, Byun H, Perikamana SKM, Lee S, Shin H. 2019. Current Advances in Immunomodulatory Biomaterials for Bone Regeneration. *Adv Healthc Mater* 8(4): e1801106.
- Libardoni RN, Costa D, Menezes FB, Cavalli LG, Pedrotti LF, Kohlrausch PR, Minto BW, Silva MAM. 2018. Classification, fixation techniques, complications and outcomes of femur fractures in dogs and cats: 61 cases (2015-2016). *Cienc Rural* 48(6): 1-6.
- Luhulima D, Hidayati W, Rejeki IGAAPS, Permatasari R. 2013. Eosinopenia dan procalcitonin dalam sepsis. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory* 19(2): 119-125.
- Mescher AL. 2017. Macrophages and fibroblasts during inflammation and tissue repair in models of organ regeneration. *Regeneration* 4(2): 39-53.
- Noviana D, Estuningsih S, Ulum MF. 2016a. Animal study and pre-clinical trials of biomaterials. Di dalam: Mahyudin F, Hermawan H (Eds). *Biomaterials and Medical Devices*. Switzerland. Springer International Publishing. Hlm. 67-101.
- Noviana D, Paramitha D, Ulum MF, Hermawan H. 2016b. The effect of hydrogen gas evolution of magnesium implant on the postimplantation mortality of rats. *J Orthop Translat* 5: 9-15.
- Novilla A, Nursidika P, Mahargyani W. 2017. Komposisi asam lemak minyak kelapa murni (*Virgin Coconut Oil*) yang berpotensi sebagai anti kandidiasis. *EduChemia* 2(2): 161-173.
- Nugroho F, Prasetyo A, Hasan M. 2019. Analisis jumlah sel osteoblas pada fraktur femur tikus wistar jantan yang diberi ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*). *Journal of Agromedicine and Medical Sciences* 5(1): 45-49.

- Perren SM, Regazzoni P, Fernandez AA. 2017. How to choose between the implant materials steel and titanium in orthopedic trauma surgery: Part 2-biological aspects. *Acta Chir Orthop Traumatol Cech* 84(2): 85-90.
- Plumb DC. 2018. *Plumb's Veterinary Drug Handbook*. 9th ed. Hoboken (US). Wiley Blackwell.
- Purbowatiningrum RS, Ngadiwiyana, Basid N. 2013. Sintesis 3,4-Metilendioksibenzaldehid dari safrol pada minyak lawang (*Cinnamomum cullilawan*, BI) sebagai senyawa antibakteri. *Jurnal Sains dan Matematika* 21(4): 92-97.
- Puspitasari AD, Wulandari RL. 2017. Antioxidant activity, determination of total phenolic and flavonoid content of *Muntingia calabura* L. extracts. *Pharmaciana* 7(2): 147-158.
- Riski SM, Panjaitan RS. 2018. Efektivitas antifungi dari minyak atsiri kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanni*) terhadap *Candida albicans*. *EduChemia* 3(2): 172-183.
- Rohmandhani R, Wirata IW, Dada IKA, Sudimartini LM. 2019. Studi kasus: Fraktur diafisis tulang femur kanan pada kucing Persia. *Indonesia Medicus Veterinus* 8(1): 62-71.
- Saputro HW. 2019. Distributor minyak sasak. <https://www.sasakoil.com/>. [15 Agustus 2021].
- Satyaningtjas AS, Nastiti K, Mohammad MF, Purnomo. 2014. Profil leukosit, diferensial leukosit, dan indeks stres luwak Jawa (*Paradoxurus hermaphroditus*). *Jurnal Veteriner* 15(4): 487-493.
- Saxena M, Saxena J, Nema R, Singh D, Gupta A. 2013. Phytochemistry of medical plants. *J Pharmacogn Phytochem* 1(6): 168-182.
- Singh J, Baghotia A, Goel SP. 2012. *Eugenia caryophyllata Thunberg* (Family Myrtaceae): A Review. *Int J Res Pharm Biomed Sci* 3(4): 1469-1475.
- Sohilait HJ, Kainama H. 2016. GC/GC-MS analysis, isolation and identification of bark essential oil components from *Cinnamomum culilawan*, Blume. *Am J Appl Chem* 4(4): 157-160.
- Syafruddin, Santoso AB, Untoro M. 2004. Gambaran radiografi patah tulang paha setelah pemakaian pin intrameduler pada anjing (*Canis familiaris*). *J Sain Vet* 22(1): 64-67.
- Tanaka T, Takahashi R. 2013. Flavonoids and asthma. *Nutrients* 5(6): 2128-2143.
- Timung R, Barik CR, Purohit S, Goud VV. 2016. Composition and anti-bacterial activity analysis of citronella oil obtained by hydrodistillation: Process optimization study. *Ind Crops Prod* 94: 178-188.
- Ubaidillah. 2017. Penggunaan kata jamu dan herbal dan sistem pengetahuan Indonesia: Sebuah kajian linguistik antropologis teks politik Indonesia. *Metalingua* 15(2): 205-212.
- Wulandari R, Puspitasari P. 2019. Pengaruh infusa rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe) terhadap jumlah leukosit dan differential counting (*Diffcount*) pada kesembuhan luka laparatomi pascabedah. *Medicra* 2(1): 22-27.
- Yang N, Liu Y. 2021. The role of the immune microenvironment in bone regeneration. *Int J Med Sci* 18(16): 3697-3707.
- Yang Y, Oh JM, Heo P, Shin JY, Kong B, Shin J, Lee JC, Oh JS, Park KW, Lee CH, Shin YK, Kweon DH. 2013. Polyphenols differentially inhibit degranulation of distinct subsets of vesicles in mast cells by specific interaction with granule-type-dependent SNARE complexes. *Biochem J* 450(3): 537-546.
- Yudaniyanti IS, Bambang SL, Djoko G. 2014. Gambaran radiografi proses kesembuhan patah tulang femur pada tikus putih jantan dengan terapi ekstrak tikel balung (*Cissus quadrangularis*). *Media Kedokteran Hewan* 30(1): 25-36.
- Yuliani E, Maryuni S, Martini M. 2020. Hubungan Faktor Ekonomi Terhadap Pemilihan Pengobatan pasien Fraktur. *Jurnal Ilmu Keperawatan Indonesia* 1(2): 20-27.