



**EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL BIJI EDAMAME (*Glycine max* L. Merril) TERHADAP KADAR HIDROKSIPROLIN  
PADA PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DERAJAT II**

**SKRIPSI**

Oleh  
**Fa'izah Ramadhani Sudarko**  
**142010101056**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**2018**



**EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL BIJI EDAMAME (*Glycine max* L. Merrill) TERHADAP KADAR HIDROKSIPROLIN  
PADA PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DERAJAT II**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Pendidikan Dokter (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh:  
**Fa'izah Ramadhani Sudarko**  
**142010101056**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**2018**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq, dan hidayah-Nya kepada saya serta Nabi Muhammad SAW yang menjadi panutan dalam setiap tindakan;
2. Ayahanda Sudarko, Ibunda Alimah Hidayati, adik saya tercinta Fauziatun Nabila, serta keluarga besar tercinta yang selalu memberikan dukungan, motivasi, nasihat, dan kasih sayang serta doa dalam setiap hal;
3. Guru-guru saya yang telah mendidik saya dengan penuh kesabaran mulai dari Taman Kanak-kanak hingga Perguruan Tinggi;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

## MOTO

Barang siapa bertakwa kepada Allah maka Dia akan menjadikan jalan keluar baginya, dan memberinya rizki dari jalan yang tidak ia sangka, dan barang siapa yang bertawakkal kepada Allah maka cukuplah Allah baginya, sesungguhnya Allah melaksanakan kehendak-Nya, Dia telah menjadikan untuk setiap sesuatu kadarnya.

*(terjemahan Surat At-Talaq ayat 2-3)<sup>\*)</sup>*

---

<sup>\*)</sup> Departemen Agama Republik Indonesia. 2007. Al-Qur'an Al-Karim dan Terjemahan Makna ke Dalam Bahasa Indonesia. Bogor: Sygma.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Fa'izah Ramadhani Sudarko

NIM : 142010101056

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Efektivitas Ekstrak Etanol Biji Edamame (*Glycine max* L. Merril) terhadap Kadar Hidroksiprolin pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat II” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali dalam pengutipan substansi yang sudah disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 8 Januari 2018

Yang menyatakan,

Fa'izah Ramadhani S.  
NIM 142010101056

**SKRIPSI**

**EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL BIJI EDAMAME (*Glycine max L. Merrill*) TERHADAP KADAR HIDROKSIPROLIN PADA PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DERAJAT II**

Oleh  
Fa'izah Ramadhani Sudarko  
NIM 142010101056

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : dr. Ika Rahmawati Sutejo, M.Biotech.  
Dosen Pembimbing Anggota : dr. Dini Agustina, M, Biomed.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Efektivitas Ekstrak Etanol Biji Edamame (*Glycine max* L. Merrill) terhadap Kadar Hidroksiprolin pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat II” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Senin, 8 Januari 2018

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Anggota I,

dr. Elly Nurus Sakinah, M. Si  
NIP 198409162008012003

dr. Al Munawir, M. Kes, Ph. D  
NIP 196909011999031003

Anggota II,

Anggota III,

dr. Ika Rahmawati, M. Biotech  
NIP 198408192009122003

dr. Dini Agustina, M. Biomed  
NIP 198308012008122003

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Enny Suswati, M.Kes  
NIP 197002141999032001

## RINGKASAN

**Efektivitas Ekstrak Etanol Biji Edamame (*Glycine max* L. Merrill) terhadap Kadar Hidroksiprolin pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat II; Fa'izah Ramadhani Sudarko, 142010101056; 2018; 88 halaman; Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.**

Luka bakar merupakan kerusakan pada kulit yang disebabkan oleh panas berlebih atau bahan kimia yang bersifat kaustik. Luka bakar saat ini menjadi masalah kesehatan global yang menyebabkan sekitar 180.000 kematian di dunia setiap tahunnya. Mayoritas kasus luka bakar terjadi di negara berpenghasilan rendah dan menengah. Hampir dua pertiga kasusnya terjadi di wilayah Afrika dan Asia Tenggara. Prevalensi luka bakar yang sering terjadi adalah luka bakar derajat II sebesar 73%

Penanganan luka bakar dapat menggunakan berbagai macam obat luka bakar seperti *bioplacenton* dan *silver sulfadiazine*. Namun, obat-obatan tersebut tergolong mempunyai harga yang relatif mahal, sehingga masyarakat lebih tertarik dengan obat-obatan yang berasal dari alam. Hal tersebut sejalan dengan tatalaksana luka bakar yang sedang dikembangkan, yakni pemberian secara topikal dikombinasi ekstrak herbal. Oleh karena itu, dibutuhkan obat-obatan dari alam yang mungkin dapat menjadi alternatif pengobatan luka bakar yaitu edamame.

Edamame mengandung senyawa isoflavon dan saponin yang bersifat antioksidan, antiinflamasi, dan antimikroba. Selain itu, edamame juga mengandung vitamin A, C, dan E yang dapat meningkatkan proses penyembuhan luka. Salah satu parameter dari proses penyembuhan luka bakar yaitu mengukur kadar hidroksiprolin pada kulit. Semakin tinggi kadar hidroksiprolin dapat diartikan adanya peningkatan sintesis kolagen yang berhubungan erat dengan kecepatan proses penyembuhan luka. Oleh karena itu, peneliti ingin melakukan penelitian untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max* L. Merrill) terhadap penyembuhan luka bakar derajat II, dengan parameter kadar hidroksiprolin yang terbentuk.

Jenis penelitian yang digunakan adalah *true experimental laboratories*, dengan rancangan *posttest only control group design*. Sampel yang digunakan adalah tikus galur *wistar* jantan berusia 2-3 bulan dengan berat 150-250 gram yang sehat dan normal, serta memiliki kulit yang normal. Tikus sebanyak 24 ekor terbagi menjadi 6 kelompok. Kelompok kontrol negatif (K-) diberi Na-CMC 0,5%, kelompok kontrol positif (K+) diberi *silver sulfadiazine*, kelompok perlakuan P1, P2, P3, dan P4 diberi ekstrak etanol biji edamame dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80%. Pembuatan luka bakar derajat II dengan menempelkan uang logam yang telah dipanaskan selama 5 menit pada punggung tikus selama 5 detik. Apabila luka bakar telah terbentuk, maka dilakukan perawatan luka sesuai kelompok perlakuan selama 15 hari. Pada hari ke-16, semua kelompok perlakuan diterminasi dan diambil jaringan kulitnya untuk dianalisis kadar hidroksiprolinnya. Kadar hidroksiprolin diukur serapannya pada

panjang gelombang 557 nm menggunakan spektrofotometer. Jumlah hidroksiprolin dalam sampel dihitung terhadap kurva standar l- hidroksiprolin.

Data yang didapat berupa kadar hidroksiprolin dengan satuan  $\mu\text{g}/100 \text{ mg}$ . Hasil pengukuran rata-rata kadar hidroksiprolin dan standar deviasi tiap kelompok perlakuan adalah K-  $2193 \pm 992,53$ ; K+  $970,5 \pm 473,10$ ; P1  $3210,5 \pm 419,63$ ; P2  $1708 \pm 794,83$ ; P3  $1820,5 \pm 721,54$ ; P4  $648 \pm 375,45$ . Hasil pengukuran kadar hidroksiprolin pada kulit dianalisis dengan *One Way ANOVA* dan dilanjut uji *Post Hoc multiple comparisons* dengan tes LSD (*Least Significant Difference*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max L. merril*) efektif dalam mempengaruhi kadar hidroksiprolin pada proses penyembuhan luka bakar derajat II ( $p < 0,05$ ). Hasil analisis data kelompok perlakuan dengan uji korelasi *Pearson* menunjukkan angka korelasi *Pearson* sebesar  $-0,806$  atau negatif sangat kuat dan korelasi antara kedua variabel bersifat terbalik, yaitu semakin tinggi dosis yang diberikan akan semakin rendah kadar hidroksiprolin yang terbentuk. Dari analisis uji statistik regresi didapatkan dosis efektif ekstrak etanol biji edamame sebesar  $75,3\%$ .

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efektivitas Ekstrak Etanol Biji Edamame (*Glycine max* L. merril) terhadap Kadar Hidroksiprolin pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat II.” Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Enny Suswati, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas segala fasilitas dan kesempatan yang diberikan selama menempuh pendidikan kedokteran di Universitas Jember;
3. dr. Ika Rahmawati, M. Biotech selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Dini Agustina, M.Biomed selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam penulisan tugas akhir ini;
4. dr. Elly Nurus Sakinah, M. Si selaku Dosen Penguji Utama dan dr. Al Munawir, M. Kes, Ph. D selaku Dosen Penguji Anggota yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. Ayahanda Sudarko dan Ibunda Alimah, orang tua tercinta terimakasih atas semua bantuan moril dan materiil yang telah diberikan serta doa dan kasih sayang yang tak terbatas kepada penulis;
6. Fauziatun Nabila, saudariku yang selalu memberikan semangat kepada penulis;
7. Mbak Nurul Istinaroh selaku analis Laboratorium Biokimia dan Mas Agus selaku analis Laboratorium Biomedik Dasar yang telah memberikan bantuan dalam penelitian ini;

8. Rekan kerjaku, Arifah Nur Hasanah yang telah membantu dan selalu memberikan bantuan, dorongan, serta semangat selama penelitian;
9. Kedua sahabatku Avisena Ilma dan Yuanita Aisyah yang selalu mendukung selama penelitian;
10. Sahabat-sahabatku Muhammad Iqbal Hermawan, Ainindya Pasca Rachmadiani, Nurlaila Ayu, Faradila Praginta, dan Mardhiyyah Nurul yang telah membantu dan memberikan semangat selama penelitian;
11. Teman-temanku Ain Yuanita Insani, Mega Citra, Dwi Novanda Sari, Muhammad Aulia Bagaskara, Amalia Nur Zahra yang telah membantu selama penelitian;
12. Teman-teman angkatan 2014 tercinta yang telah berjuang bersama-sama demi sebuah gelar Sarjana Kedokteran;
13. Semua pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis mengharap kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan karya tulis ilmiah ini. Semoga karya tulis ini dapat bermanfaat.

Jember, 8 Januari 2018

Penulis

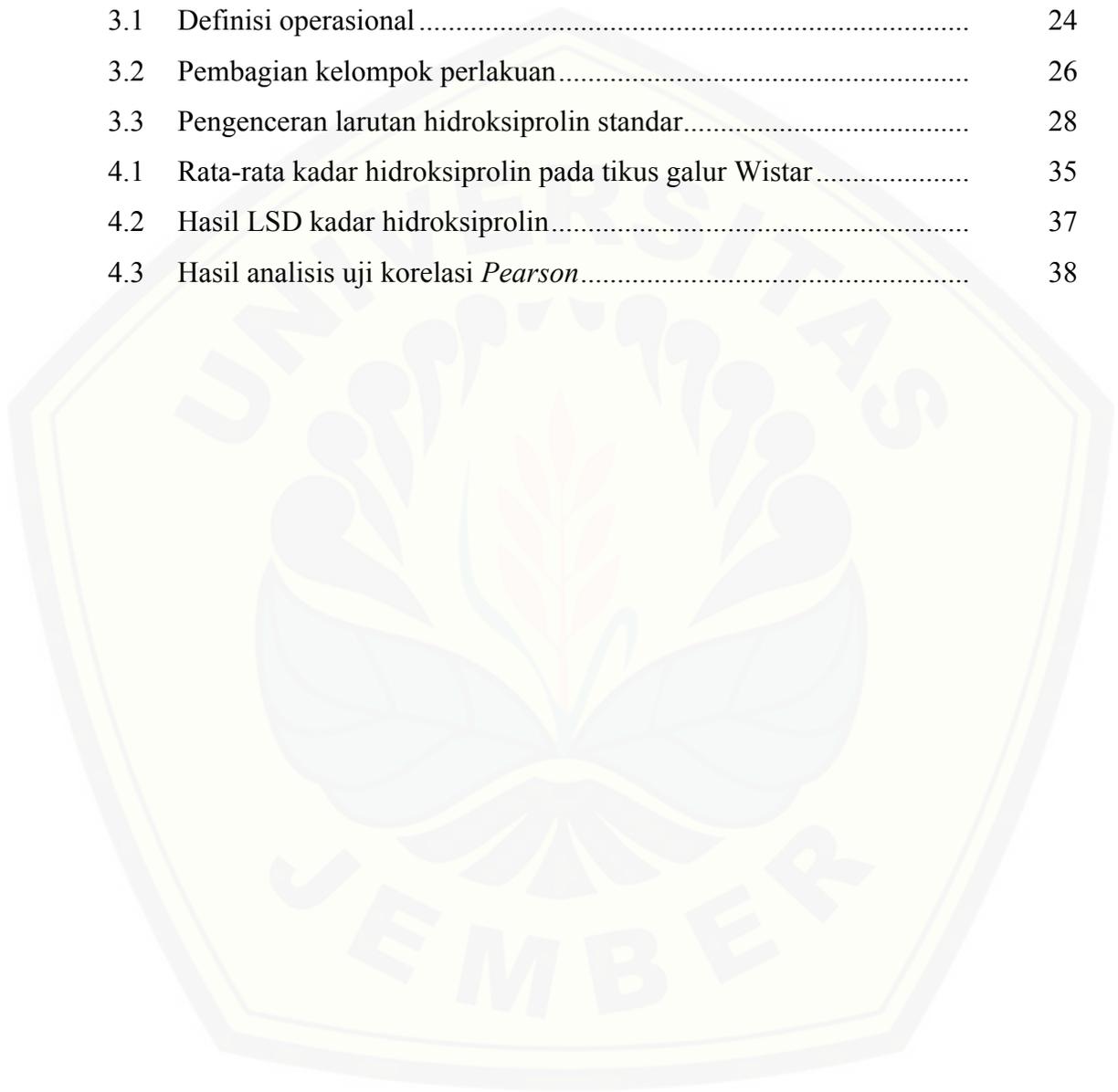
DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvi
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan</b> .....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
<b>1.4 Manfaat</b> .....	4
1.4.1 Manfaat Ilmiah.....	4
1.4.2 Manfaat Aplikatif.....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
<b>2.1 Luka Bakar</b> .....	5
2.1.1 Definisi dan Klasifikasi.....	5
2.1.2 Patofisiologi Luka Bakar.....	7
2.1.3 Proses Penyembuhan Luka Bakar.....	9
2.1.4 Penatalaksanaan Luka Bakar.....	12
<b>2.2 Edamame</b> .....	14
2.2.1 Taksonomi.....	14
2.2.2 Morfologi.....	15
2.2.3 Kandungan Edamame ( <i>Glycine max</i> L. Merril).....	16
<b>2.3 Hidroksiprolin</b> .....	17
<b>2.4 Ekstraksi</b> .....	18
<b>2.5 Kerangka Konseptual</b> .....	19
<b>2.6 Hipotesis</b> .....	20
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	21
<b>3.1 Jenis Penelitian</b> .....	21
<b>3.2 Rancangan Penelitian</b> .....	21
<b>3.3 Populasi dan Sampel Penelitian</b> .....	22

3.3.1 Populasi.....	22
3.3.2 Sampel.....	22
3.3.3 Besar Sampel Penelitian .....	22
<b>3.4 Tempat dan Waktu Penelitian .....</b>	<b>23</b>
<b>3.5 Variabel Penelitian.....</b>	<b>23</b>
3.5.1 Variabel Bebas .....	23
3.5.2 Variabel Terikat .....	23
3.5.3 Variabel Terkendali .....	23
<b>3.6 Definisi Operasional.....</b>	<b>24</b>
<b>3.7 Alat dan Bahan.....</b>	<b>24</b>
3.7.1 Alat.....	24
3.7.2 Bahan .....	25
<b>3.8 Prosedur Penelitian.....</b>	<b>25</b>
3.8.1 Pemilihan Sampel Tikus .....	25
3.8.2 Persiapan Sampel Tikus.....	25
3.8.3 Pembagian Kelompok Perlakuan.....	26
3.8.4 Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Edamame ( <i>Glycine max L.</i> Merril) .....	26
3.8.5 Pembuatan Sediaan Larutan Na CMC 0,5% dan Persiapan Larutan Ekstrak Etanol Biji Edamame ( <i>Glycine max L.</i> Merril) .....	26
3.8.6 Persiapan Bahan Baku dan Pereaksi.....	27
3.8.7 Tahap Perlakuan .....	28
3.8.8 Pengambilan dan Pengolahan Jaringan Kulit .....	29
3.8.9 Pengamatan Uji Histokimia dengan Mengukur Kadar Hidroksiprolin.....	29
<b>3.9 Uji Kelayakan Etik .....</b>	<b>30</b>
<b>3.10 Analisis Data.....</b>	<b>31</b>
<b>3.11 Alur Penelitian .....</b>	<b>32</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>34</b>
<b>4.1 Hasil Penelitian.....</b>	<b>34</b>
4.1.1 Hasil Ekstrak Etanol Biji Edamame ( <i>Glycine max L.</i> Merril) .....	34
4.1.2 Hasil Pelarutan Ekstrak Etanol Biji Edamame ( <i>Glycine</i> <i>max L. Merril</i> ) dalam Na-CMC 0,5% .....	34
4.1.3 Luka Bakar pada Tikus .....	34
4.1.4 Hasil Ukur Kadar Hidroksiprolin.....	35
<b>4.2 Analisis Data.....</b>	<b>36</b>
<b>4.3 Pembahasan.....</b>	<b>39</b>
<b>BAB 5. PENUTUP.....</b>	<b>46</b>
<b>5.1 Kesimpulan.....</b>	<b>46</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>46</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>47</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>54</b>

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Kandungan gizi dalam 100 gram edamame.....	16
3.1 Definisi operasional .....	24
3.2 Pembagian kelompok perlakuan.....	26
3.3 Pengenceran larutan hidroksiprolin standar.....	28
4.1 Rata-rata kadar hidroksiprolin pada tikus galur Wistar .....	35
4.2 Hasil LSD kadar hidroksiprolin.....	37
4.3 Hasil analisis uji korelasi <i>Pearson</i> .....	38



**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Kedalaman luka bakar .....	5
2.2 Luas luka bakar .....	7
2.3 Morfologi edamame.....	15
2.4 Kerangka konseptual penelitian.....	19
3.1 Skema rancangan penelitian .....	21
3.2 Alur pembuatan ekstrak.....	32
3.3 Alur perlakuan hewan coba .....	33
4.1 Luka bakar derajat II.....	35
4.2 Proses penyembuhan luka pada kelompok perlakuan .....	35
4.3 Histogram rata-rata kadar hidroksiprolin.....	37

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
3.1 Deteminasi tanaman edamame .....	54
3.2 Etik penelitian .....	56
4.1 Ekstraksi edamame .....	58
4.2 Pelarutan ekstrak edamame dalam Na-CMC 0,5% .....	59
4.3 Kurva standar hidroksiprolin .....	60
4.4 Data kadar hidroksiprolin .....	61
4.5 Hasil analisis statistik .....	62
4.6 Dokumentasi penelitian .....	71

## BAB I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Luka bakar merupakan kerusakan pada kulit yang disebabkan oleh panas berlebih atau bahan kimia yang bersifat kaustik (Bhatia *et al.*, 2014). Variasi luka bisa bermacam-macam dan mempunyai penanganan yang berbeda tergantung dari jenis jaringan yang mengalami luka bakar, tingkat kerusakan, dan komplikasi yang terjadi akibat dari luka tersebut. Luka bakar dapat menyerang tak hanya kulit, namun juga hingga jaringan otot, tulang, ataupun pembuluh darah. Komplikasi luka bakar dapat menyebabkan syok, infeksi, terganggunya keseimbangan elektrolit, dan distress pernafasan (Rismana *et al.*, 2013).

Luka bakar saat ini menjadi masalah kesehatan global yang menyebabkan sekitar 180.000 kematian di dunia setiap tahunnya. Mayoritas kasus luka bakar terjadi di negara berpenghasilan rendah dan menengah. Hampir dua pertiga kasusnya terjadi di wilayah Afrika dan Asia Tenggara (Ghebreyesus, 2017). Prevalensi kejadian luka bakar di Indonesia sebesar 0,7%, dengan kasus tertinggi terjadi di Papua sebesar 2,0% (Siswanto, 2013). Prevalensi luka bakar yang sering terjadi adalah luka bakar derajat II sebesar 73% (Sarabahi, 2010).

Pada umumnya, penanganan luka bakar dapat menggunakan berbagai macam bentuk obat untuk membantu proses penyembuhan luka bakar seperti *hydrogel* dan *hydrocolloids* sebagai *absorptive dressings* atau *mafenide acetate*, *bioplacenton*, *silver sulfadiazine*, dan *bacitracin* sebagai agen antimikroba. Namun, obat-obatan tersebut tergolong mempunyai harga yang relatif mahal, sehingga masyarakat lebih tertarik dengan obat-obatan yang berasal dari alam (Wibawani *et al.*, 2015). Hal tersebut sejalan dengan tatalaksana luka bakar yang saat ini sedang dikembangkan, yakni pemberian secara topikal dikombinasi ekstrak herbal (Isrofah *et al.*, 2015). Salah satu contoh obat-obatan dari alam yang mungkin dapat menjadi alternatif pengobatan luka bakar adalah edamame.

Edamame (*Glycine max* L. Merrill) merupakan komoditas unggulan Kabupaten Jember dengan berbagai kelebihan dibandingkan kedelai lainnya, yaitu produktivitas tinggi, kandungan protein lebih tinggi, panen lebih cepat, dan pasar

ekspor masih terbuka luas dengan harga tinggi (Firmansyah dan Dhuha, 2014). Dalam 100 g edamame terdapat kandungan gizi yang terdiri dari karbohidrat 11 g; protein 12,4 g; kalsium 145 mg; dan fosfor 158 mg. Edamame termasuk bahan pangan yang rendah kolesterol dan kaya serat (Amar dan Lutfiati, 2013). Edamame mengandung isoflavon, saponin, vitamin A, C, dan E (Widati dan Hidayat, 2012; Kanchana *et al.*, 2015).

Kandungan vitamin dalam edamame berperan dalam mengurangi dan mencegah kerusakan oksidatif, serta dapat meningkatkan proses penyembuhan luka (Widati dan Hidayat, 2012; Acton, 2013; Kanchana *et al.*, 2015). Isoflavon dan saponin pada edamame bersifat antioksidan, antiinflamasi, dan antimikroba yang berperan penting dalam penyembuhan luka (Kong, 2014; Moses *et al.*, 2014). Penelitian yang dilakukan Siddiq *et al.*, (2016) membuktikan bahwa ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max* L. Merril) memiliki aktivitas antioksidan dengan IC50 sebesar 177,2 ppm. Menurut penelitian Zhao *et al.*, (2006) diketahui bahwa jenis dari isoflavon yaitu genistein dan genistin berperan dalam menekan proses inflamasi yang diinduksi lipopolisakarida (LPS) yang terjadi pada hati tikus. Rodrigues *et al.*, (2005) melakukan penelitian pada tikus yang diberi saponin didapatkan aktivitas antioksidan. Pada penelitian yang dilakukan Kang *et al.*, (2005), saponin dapat menghambat produksi mediator proinflamasi pada makrofag peritoneal yang diinduksi oleh lipopolisakarida (LPS) yang berarti saponin bersifat sebagai antiinflamasi. Proses penyembuhan luka bakar terbagi menjadi tiga fase, yakni fase inflamasi, proliferasi, dan maturasi (Sinno dan Prakash, 2013). Dengan adanya kandungan edamame yang telah disebutkan, maka fase inflamasi akan berlangsung cepat sehingga akan cepat memasuki fase proliferasi (Ni'mah, 2009).

Salah satu parameter dari proses penyembuhan luka bakar adalah dengan pengamatan secara biokimia terhadap jaringan kulit yaitu mengukur kadar hidroksiprolin. Kadar hidroksiprolin dalam jaringan dapat digunakan sebagai indeks pengganti parameter kadar kolagen dalam kulit. Kolagen merupakan indeks terbentuknya jaringan/kulit yang tersusun atas dua jenis yaitu hidroksilisin dan hidroksiprolin. Semakin tinggi kadar hidroksiprolin dapat diartikan adanya

peningkatan sintesis kolagen yang berhubungan erat dengan kecepatan proses penyembuhan luka (Rismana *et al.*, 2013). Peneliti lebih memilih mengukur kadar hidroksiprolin daripada kepadatan kolagen karena kepadatan kolagen dari cara pengambilan kulit membutuhkan ketelitian yang tinggi dengan ukuran tertentu, pembuatan preparat cukup mahal, dan membutuhkan waktu yang lebih lama dalam pengamatan.

Pada penelitian ini, pengobatan luka bakar menggunakan biji edamame yang diubah menjadi bentuk ekstrak dengan pelarut etanol 96% (Siddiq *et al.*, 2016). Hal ini dikarenakan pelarut yang pekat akan menarik zat aktif dari bahan sehingga dapat menghasilkan hasil ekstrak yang lebih banyak (Kurniawati *et al.*, 2016). Selain itu, pelarut etanol bersifat universal, sehingga dapat melarutkan hampir semua zat, baik yang bersifat polar, semi polar dan non polar (Arifin *et al.*, 2006). Berdasarkan latar belakang tersebut, maka peneliti ingin melakukan penelitian untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max* L. Merrill) terhadap penyembuhan luka bakar derajat II, dengan parameter kadar hidroksiprolin yang terbentuk.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, didapatkan rumusan masalah penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Apakah ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max* L. Merrill) efektif dalam meningkatkan kadar hidroksiprolin pada penyembuhan luka bakar derajat II?
- b. Berapa dosis efektif ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max* L. Merrill) yang dapat meningkatkan kadar hidroksiprolin pada penyembuhan luka bakar derajat II?

## 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian adalah sebagai berikut.

### 1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol biji

edamame (*Glycine max* L. Merrill) dalam penyembuhan luka bakar derajat II.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Untuk membuktikan efektivitas ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max* L. Merrill) dalam meningkatkan kadar hidroksiprolin pada penyembuhan luka bakar derajat II.
- b. Untuk mengetahui dosis efektif ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max* L. Merrill) yang dapat meningkatkan kadar hidroksiprolin pada penyembuhan luka bakar derajat II.

## 1.4 Manfaat

### 1.4.1 Manfaat Ilmiah

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai efektivitas dari ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max* L. Merrill) secara topikal terhadap penyembuhan luka bakar derajat II.

### 1.4.2 Manfaat Aplikatif

Penelitian ini diharapkan dapat membantu dalam penanganan kasus luka bakar menggunakan ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max* L. Merrill) sebagai alternatif di masa mendatang.

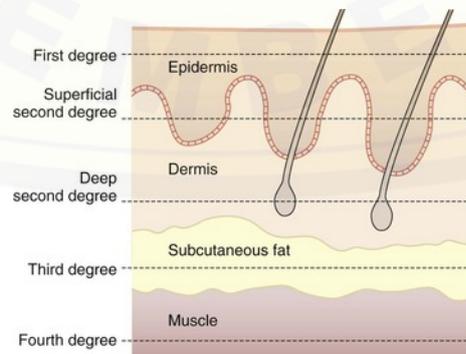
## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Luka Bakar

#### 2.1.1 Definisi dan Klasifikasi

Luka bakar adalah kerusakan pada kulit yang disebabkan oleh panas berlebihan atau bahan kimia kaustik. Luka bakar ditandai dengan jenis peradangan di bawah stratum korneum kulit, yang dapat mengarah pada penyembuhan langsung atau dapat memburuk pada nekrosis lebih lanjut, tergantung pada penatalaksanaan (Bhatia *et al.*, 2014). Lebih dari 75% kasus luka bakar termasuk kasus yang berakhir dengan kematian dapat dicegah. Luka bakar diklasifikasikan berdasarkan etiologi, kedalaman, dan luasnya luka bakar. Terdapat empat etiologi dari luka bakar, yaitu luka bakar thermal, bahan kimia, listrik, dan gesekan. Luka bakar thermal merupakan penyebab yang sering terjadi, seperti kecelakaan lalu lintas, baju yang terbakar, penanganan petasan dan bensin yang tidak tepat, kecelakaan dapur, bermain dengan korek api, kebakaran, dan lain-lain (Williams *et al.*, 2011).

Kedalaman luka diklasifikasikan berdasarkan derajat cedera pada bagian epidermis, dermis, lemak subkutan, dan struktur dasar kulit dapat dilihat pada Gambar 2.1. Kerusakan pada luka bakar derajat I hanya mengenai epidermis. Pasien akan merasakan nyeri, eritema, dan kulit akan memerah saat disentuh dengan *barrier* epidermis utuh. Contoh luka bakar derajat I adalah kulit terbakar sinar matahari atau luka bakar akibat kecelakaan dapur (Townsend *et al.*, 2012).

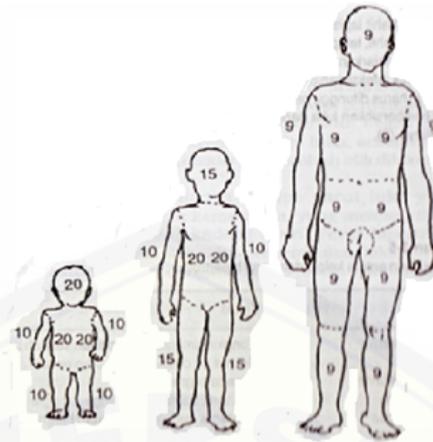


Gambar 2.1 Kedalaman luka bakar (Sumber: Townsend *et al.*, 2012)

Luka bakar derajat II terbagi menjadi dua tipe yaitu dangkal dan dalam. Ciri dari luka bakar derajat II dangkal adalah eritema, nyeri, kemerahan saat disentuh, dan sering melepuh. Contohnya adalah cedera luka bakar dari air yang terlalu panas dan terbakar api. Luka ini secara spontan reepitelisasi dari mempertahankan struktur epidermis pada *rete ridges*, folikel rambut, dan kelenjar keringat dalam 1-2 minggu. Setelah proses penyembuhan, luka mungkin akan mengalami sedikit perubahan warna kulit dalam jangka panjang. Luka bakar derajat II dalam mengenai dermis retikular, timbul lebih pucat dan berbintik, tidak kemerahan saat disentuh, akan tetapi tetap terasa nyeri saat dilakukan tes *pinprick*. Luka ini sembuh dalam 2-5 minggu dengan reepitelisasi dari folikel rambut dan keratinosit kelenjar keringat, diikuti dengan jaringan parut sebagai hasil dari hilangnya dermis (Townsend *et al.*, 2012).

Luka bakar derajat III meliputi seluruh lapisan kulit dengan ciri-ciri keras, jaringan parut yang tidak nyeri dan berwarna hitam, putih, atau merah. Tidak ada lapisan epidermis atau dermis yang tersisa, sehingga luka dapat sembuh dengan reepitelisasi dari tepi luka. Luka bakar derajat II dalam dan derajat III membutuhkan eksisi dengan *skin grafting* dari pasien guna penyembuhan luka. Luka bakar derajat IV mengenai organ lain di bawah kulit seperti otot, tulang, dan otak. Penentuan kedalaman luka merupakan hal yang penting terkait penyembuhan luka, karena luka yang akan sembuh dengan pengobatan lokal diperlakukan berbeda dari luka yang membutuhkan tindakan operasi (Townsend *et al.*, 2012).

Penentuan luas luka bakar dinyatakan dalam persen terhadap luas seluruh permukaan tubuh seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.2 pada halaman 7. Pada orang dewasa, cara menghitung luas luka bakar menggunakan “rumus 9” yaitu setiap luas kepala dan leher, dada, punggung, perut, pinggang dan pantat, ekstremitas atas kanan, ekstremitas atas kiri, paha kanan, paha kiri, tungkai dan kaki kanan, serta tungkai dan kaki kiri ternilai 9%, sisa 1% daerah genitalia. Terdapat perbedaan dalam perbandingan luas permukaan bagian tubuh anak kecil sehingga digunakan “rumus 10” untuk bayi dan “rumus 10-15-20” untuk anak (Sjamsuhidajat dan William de jong, 2011).



Gambar 2.2 Luas luka bakar (Sumber: Sjamsuhidajat dan William de jong, 2011)

### 2.1.2 Patofisiologi Luka Bakar

Berdasarkan tingkat kerusakan jaringan dan perubahan aliran darah, luka bakar terbagi menjadi tiga zona. Bagian tengah luka terkena panas paling tinggi dan sering mengalami banyak kerusakan, dikenal sebagai zona koagulasi. Protein mengalami denaturasi pada suhu di atas 41 °C (106 °F), sehingga panas berlebih di daerah luka menyebabkan denaturasi protein menjadi berlebihan, degradasi, dan koagulasi protein yang luas, yang mengarah pada nekrosis jaringan. Sekitar bagian tengah dari zona koagulasi adalah zona stasis atau zona iskemia, ditandai dengan penurunan perfusi dan jaringan yang kemungkinan dapat bertahan. Pada zona ini, hipoksia dan iskemia dapat menimbulkan nekrosis jaringan dalam waktu 48 jam cedera tanpa gangguan dari luar. Daerah paling luar luka bakar adalah zona hiperemia yang mendapat peningkatan aliran darah melalui vasodilatasi inflamasi dan mungkin akan pulih, kecuali ada infeksi atau cedera lainnya (Rowan *et al.*, 2015).

Banyak perubahan terjadi akibat luka bakar, berdampak pada hampir semua organ tubuh seperti jantung, pernapasan, saluran cerna, kulit, imun, hematologi, dan ginjal. Adapun dampak dari luka bakar adalah sebagai berikut (Williams *et al.*, 2011).

a. Sistem sirkulasi

Luka bakar dapat menyebabkan pergeseran cairan atau terjadi cedera secara langsung pada jantung dan pembuluh darah, menyebabkan sirkulasi terganggu. Respon inflamasi membuat permeabilitas kapiler meningkat. Sehingga, cairan intravaskuler mengalami pergeseran ke ruang interstisial, mengakibatkan edema, penurunan volume cairan yang bersirkulasi, dan peningkatan viskositas darah.

b. Sistem respirasi

Luka bakar pada leher atau pembengkakan akibat panas dan paparan asap atau cedera kimiawi pada bagian mukosa dari saluran respirasi dapat menimbulkan gangguan pernapasan. Menghirup asap atau zat kaustik lainnya dapat menyebabkan cedera pada paru seperti bronkitis. Hipoksia berasal dari penurunan kadar oksigen yang bersirkulasi melalui darah, mungkin disebabkan oleh terhirupnya karbon monoksida atau produk sampingan dari pembakaran yang menggantikan oksigen dari molekul hemoglobin.

c. Sistem pencernaan

Peristaltik akan melambat bahkan sampai hilang ketika darah dialirkan menjauhi daerah abdomen dan saluran cerna. Kemungkinan terjadi peningkatan risiko aspirasi akibat pelebaran gaster dan muntah.

d. Sistem integumen

Gangguan struktur kulit meningkatkan risiko infeksi dan menyebabkan hipotermia dan hilangnya cairan secara cepat. Pembentukan skar hipertrofik dapat menyebabkan kontraktur dan gangguan *range-of-motion* pada ekstremitas. Edema yang berhubungan dengan bagian luar luka bakar mempersempit pembuluh darah, jaringan dan otot yang ada di bawahnya, mengganggu sirkulasi pada ekstremitas.

e. Sistem imun dan hematologi

Suatu teori menyatakan bahwa sel pada luka bakar melepaskan toksin yang dapat mengganggu kemampuan sistem imun untuk melakukan fungsinya dengan baik. Luka bakar mayor dapat menghasilkan immunosupresi.

f. Sistem Ekskresi

Hemokonsentrasi dan penurunan volume intravaskuler menyebabkan penurunan perfusi ginjal dan urin output. Penurunan perfusi ginjal yang terus menerus terjadi dapat menyebabkan nekrosis tubular akut dan gagal ginjal.

### 2.1.3 Proses Penyembuhan Luka Bakar

Proses penyembuhan luka normal merupakan berbagai tahapan dinamis yang melibatkan interaksi sel darah, protein, protease, faktor pertumbuhan, dan komponen matriks ekstraselular yang terkoordinasi. Proses penyembuhan luka dapat dibagi menjadi tiga fase. Adapun penjelasan dari masing-masing fase sebagai berikut.

a. Fase inflamasi

Fase inflamasi ditandai dengan hemostasis dan pembengkakan. Hemostasis diawali dengan pemaparan kolagen selama pembentukan luka yang mengaktifkan kaskade koagulasi intrinsik dan ekstrinsik. Selain itu, luka pada jaringan menimbulkan terjadinya pelepasan tromboksan A<sub>2</sub> dan prostaglandin 2-alfa menuju dasar luka yang menyebabkan respons kuat dari vasokonstriktor. Kemudian, ekstrasvasi komponen darah mempersiapkan pembentukan bekuan darah yang memberi kekuatan pada *hemostatic plug*. Respons awal ini membantu dalam membatasi perdarahan yang terjadi dan menyediakan matriks ekstraselular awal untuk migrasi sel (Sinno dan Prakash, 2013).

Salah satu sel dari respon pertama yang berperan penting dalam pembentukan *hemostatic plug* adalah trombosit. Trombosit mensekresi beberapa kemokin yaitu *epidermal growth factor* (EGF), fibronektin, fibrinogen, histamin, *platelet-derived growth factor* (PDGF), serotonin, dan faktor von Willebrand. Kemokin-kemokin tersebut turut membantu dalam menstabilkan luka melalui pembentukan gumpalan, dan juga menarik, serta mengaktifkan makrofag dan fibroblas. Kemokin-kemokin juga berfungsi dalam mengendalikan pendarahan dan membatasi tingkat cedera. Degranulasi trombosit mengaktifkan kaskade komplemen, khususnya C<sub>5</sub>, protein kemotaktik neutrofil yang poten. Mediator vasoaktif dan kemokin dilepaskan oleh kaskade koagulasi yang diaktifkan, jalur

komplemen, dan sel parenkim yang berperan penting dalam pengarahannya leukosit inflamasi pada kulit yang terluka (Sinno dan Prakash, 2013).

Setelah hemostasis tercapai, terjadi vasodilatasi kapiler dan kebocoran sekunder akibat pelepasan histamin lokal oleh kaskade komplemen yang diaktifkan. Peningkatan aliran darah dan perubahan permeabilitas vaskular memungkinkan migrasi sel-sel inflamasi menuju dasar luka. Adanya organisme asing semakin merangsang pengaktifan jalur komplemen pengganti. Aktivasi komplemen C3 menghasilkan kaskade pembelahan protein nonenzimatik dan interaksi yang pada akhirnya merangsang sel inflamasi dan lisis bakteri (Sinno dan Prakash, 2013).

Sel dari respon kedua yang bermigrasi menuju luka setelah pengaktifan komplemen dan pengarahannya trombosit adalah neutrofil. Sel ini bertanggung jawab dalam membersihkan debris, opsonisasi yang dimediasi komplemen dan lisis organisme asing, serta penghancuran bakteri melalui mekanisme ledakan oksidatif. Neutrofil membunuh bakteri dan mendesinfeksi luka dari kotoran asing. Kotoran ini nantinya dibuang melalui eskarotomi atau difagositosis oleh makrofag (Sinno dan Prakash, 2013). Pada saat sel imun mensekresi sitokin pro-inflamasi, sel inflamasi khususnya neutrofil menghasilkan sejumlah besar spesies oksigen reaktif (ROS) yang dibutuhkan untuk melindungi tubuh dari infeksi. Namun, apabila ROS yang dihasilkan terlalu banyak, maka dapat merusak jaringan sekitarnya secara bersamaan (Kurahashi dan Fujii, 2015).

Makrofag adalah sel fagosit penting yang berperan dalam penyembuhan luka. Makrofag terbentuk dari monosit yang distimulasi oleh fragmen protein matriks ekstraselular, *transforming growth factor*  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), dan *monocyte chemoattractant protein*. Selain fagositosis bakteri dan bahan asing secara langsung, makrofag mensekresikan banyak enzim dan sitokin; *collagenases* yang melakukan *debride* pada luka; interleukin dan *tumor necrosis factor* (TNF) yang merangsang fibroblas dan meningkatkan angiogenesis; dan *transforming growth factor* (TGF) yang merangsang keratinosit. Makrofag juga mensekresi PDGF dan *vascular endothelial growth factor* (VEGF) yang mengawali pembentukan

jaringan granulasi dan dengan demikian memulai transisi menuju fase proliferasi dan regenerasi jaringan (Sinno dan Prakash, 2013).

b. Fase Proliferasi

Fase proliferasi ditandai dengan epitelisasi, angiogenesis, pembentukan jaringan granulasi, dan deposisi kolagen. Epitelisasi terjadi beberapa jam setelah cedera dalam perbaikan luka. Dengan membran dasar yang utuh, sel epitel bermigrasi ke atas dalam pola normal seperti yang terjadi pada luka bakar tingkat pertama dimana sel progenitor epitel tetap utuh di bawah luka dan lapisan epidermis normal sembuh dalam 2-3 hari. Jika membran basal telah rusak, serupa dengan luka bakar yang lebih dalam, maka sel epidermis normal dari pelengkap kulit (folikel rambut, kelenjar keringat) dan tepi luka akan melakukan reepitelisasi pada luka tersebut (Sinno dan Prakash, 2013).

Neovaskularisasi dibutuhkan dalam mengantarkan nutrisi ke luka dan membantu menjaga dasar dari jaringan granulasi. Angiogenesis telah dikaitkan dengan banyak molekul termasuk faktor pertumbuhan fibroblas, VEGF, TGF- $\beta$ , angiogenin, angiotropin, angiopoietin, TNF- $\alpha$ , dan thrombospondin. Fase proliferasi berakhir dengan pembentukan jaringan granulasi. Stroma baru ini mulai menginvasi daerah luka hingga empat hari setelah cedera. Pembuluh darah yang baru telah menyediakan jalur masuk sel-sel seperti makrofag dan fibroblas ke dalam luka. Makrofag terus menyediakan faktor pertumbuhan yang merangsang angiogenesis dan fibroplasia lebih lanjut. Sekresi dari PDGF dan TGF- $\beta$  bersama dengan molekul matriks ekstraselular merangsang diferensiasi fibroblas untuk menghasilkan zat dasar dan kolagen. Fibroblas merupakan sel utama dalam sintesis, pengendapan, dan remodeling matriks ekstraselular yang memberi kekuatan dan substansi pada luka (Sinno dan Prakash, 2013).

c. Fase maturasi

Tahap terakhir dalam proses penyembuhan luka adalah fase maturasi. Fase ini ditandai dengan transisi dari jaringan granulasi ke pembentukan parut. Hampir dua minggu setelah cedera, luka mengalami kontraksi, akhirnya menghasilkan jumlah jaringan bekas luka yang lebih sedikit. Pengendapan kolagen oleh fibroblas berlanjut dalam waktu lama dengan peningkatan bersih pada deposisi

kolagen yang dicapai setelah tiga minggu akibat cedera jaringan. Seluruh proses adalah rangkaian kesatuan yang dinamis diatur oleh banyak faktor pertumbuhan dan sel yang saling melengkapi dari tiga fase penyembuhan luka untuk memberikan remodeling lanjutan (Sinno dan Prakash, 2013).

#### 2.1.4 Penatalaksanaan Luka Bakar

Hal pertama yang dilakukan saat terbakar adalah mematikan api pada tubuh, seperti menyelimuti dan menutup bagian yang terbakar untuk menghentikan pasokan oksigen pada api yang menyala. Setelah sumber panas dihentikan, dilanjutkan dengan merendam daerah luka bakar dalam air atau menyiramnya dengan air mengalir selama kurang lebih 15 menit. Upaya pendinginan ini akan menghentikan proses koagulasi protein sel pada jaringan yang terpapar suhu tinggi, namun hal ini akan terus berlangsung meskipun api telah dimatikan sehingga kerusakan tetap terjadi (Sjamsuhidajat dan William de jong, 2011).

Resusitasi cairan merupakan tatalaksana utama dalam penanganan luka bakar. Rumus yang digunakan untuk menghitung kebutuhan cairan pada luka bakar adalah rumus Baxter yaitu luas luka bakar dalam persen  $\times$  berat badan dalam kg  $\times$  4 mL larutan Ringer. Separuh dari jumlah cairan ini diberikan dalam 8 jam pertama dan sisanya diberikan dalam 16 jam. Larutan ringer laktat (kristaloid) diberikan pada hari pertama, sedangkan hari kedua diberikan setengah cairan hari pertama. Apabila penderita dalam keadaan syok atau diuresis kurang dapat diberikan tambahan cairan. Pengawasan yang ketat perlu dilakukan karena fluktuasi perubahan keadaan sangat cepat terutama pada fase awal luka bakar. Selain itu, status hidrasi juga perlu diperhatikan. Pemberian cairan dinyatakan berhasil apabila diuresis normal yaitu minimal 1000-1500 mL/24 jam atau 1 mL/kgBB/jam dan 3 mL/kgBB/ jam pada pasien anak. Hal yang juga perlu diawasi adalah sirkulasi, apakah normal atau tidak (Sjamsuhidajat dan William de jong, 2011).

Untuk mencegah infeksi, pasien luka bakar perlu diberikan antibiotik sistemik spektrum luas. Golongan obat yang sering digunakan adalah aminoglikosida. Apabila terdapat infeksi, pemberian antibiotik berdasarkan hasil

biakan dan uji kepekaan kuman. Pemberian nutrisi juga harus cukup untuk memenuhi kebutuhan kalori dan keseimbangan nitrogen negatif pada fase katabolisme yaitu sebanyak 2.500-3.000 kalori sehari dengan kadar protein tinggi (Sjamsuhidajat dan William de jong, 2011).

a. Penanganan lokal

Pada luka bakar derajat satu dan dua menyisakan epitel berupa kelenjar sebacea, kelenjar keringat, atau pangkal rambut, biasanya akan sembuh sendiri selama dijaga agar elemen epitel tersebut tidak hancur atau rusak karena infeksi. Pada luka lebih dalam diupayakan sesegera mungkin membuang jaringan kulit yang mati dan memberi obat topikal dengan daya tembus tinggi hingga mencapai dasar jaringan mati. Perawatan setempat dapat diterapkan secara terbuka atau tertutup (Sjamsuhidajat dan William de jong, 2011).

Beberapa jenis obat yang dianjurkan yaitu golongan *silver sulfadiazine* dan yang terbaru MEBO (*Moist Exposure Burn Ointment*). Namun, masih banyak kontroversi dalam pemakaian obat topikal, akan tetapi fungsi dari obat-obatan tersebut lebih penting yaitu mencegah infeksi, mengatasi rasa nyeri, dapat menembus eskar dan mempercepat epitelisasi. Obat topikal yang dipakai dapat berupa larutan, salep, atau krim. Antibiotik dapat diberikan dalam bentuk sediaan kasa (*tulle*). Antiseptik yang digunakan adalah yodium povidon atau nitras-argenti 0,5%. Krim *silver sulfadiazine* 1% berguna sebagai bakteristatik, daya tembus cukup, efektif terhadap semua kuman, tidak menimbulkan resistensi, dan aman. Krim dioleskan tanpa pembalut, dan dapat dibersihkan dan diganti setiap hari (Sjamsuhidajat dan William de jong, 2011).

Silver sulfadiazine merupakan *gold standard* pada pengobatan luka bakar (Akhoondinasab *et al.*, 2014). Sifat antibakteri pada silver berperan dalam menghambat *respiratory enzim pathway* dan mengubah dinding sel dan DNA bakteri. Silver sulfadiazine merupakan gabungan dari silver nitrat dan sodium sulfadiazin. Silver akan berikatan dengan DNA bakteri dan sulfadiazine akan menghambat proses metabolisme bakteri (Tian, 2004). Silver sulfadiazine dapat meningkatkan jumlah TGF- $\beta$ , VEGF, dan sitokin proinflamasi IL-10 yang berperan penting pada penyembuhan luka (Zhang *et al.*, 2009). Silver sulfadiazine

juga memiliki efek antiinflamasi yang dapat menghambat enzim metalloproteinasase sehingga meningkatkan metabolisme zink dan kalium. Proses ini menyebabkan terjadinya peningkatan reepitelisasi (Subandi *et al.*, 2014).

b. Tindakan bedah

Pemotongan eskar atau eskarotomi diterapkan pada luka bakar derajat tiga yang melingkar pada ekstremitas atau tubuh. Tindakan ini dilakukan karena adanya pengerutan keropeng dan pembengkakan secara terus menerus, dapat menimbulkan penjepitan yang berbahaya pada sirkulasi, sehingga bagian distal bisa mati. Ciri awal penjepitan adalah nyeri, lalu mati rasa hingga kebas pada ujung-ujung distal. Debrideman dilakukan sedini mungkin untuk membuang jaringan mati segera setelah kondisi pasien stabil karena tindakan ini menyebabkan pendarahan. Luka granulasi atau luka yang telah dibersihkan dapat ditutup dengan *skin graft* yang biasanya diambil dari kulit pasien sendiri (*skin graft autologus*). Pasien dengan luka bakar derajat dua dalam dan derajat tiga sebaiknya dilakukan *skin grafting* dengan tujuan mencegah terbentuknya keloid dan jaringan parut hipertropik (Sjamsuhidajat dan William de jong, 2011).

## 2.2 Edamame (*Glycine max* L. Merril)

### 2.2.1 Taksonomi

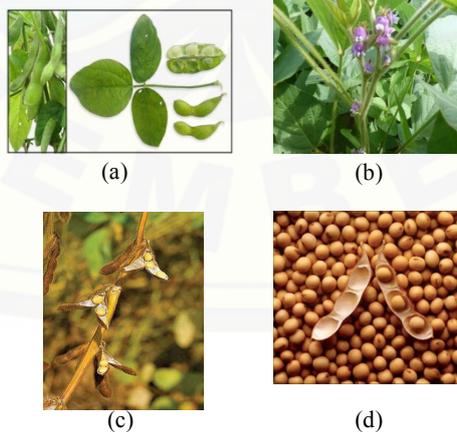
Edamame (*Glycine max* L. Merril) merupakan spesies kacang polong yang berasal dari Asia Timur. Edamame termasuk tanaman tahunan yang telah digunakan di Cina selama 5.000 tahun sebagai makanan dan komponen obat-obatan. Edamame telah menjadi bahan utama dalam banyak makanan olahan, termasuk pengganti produk susu (Kanchana *et al.*, 2015). Kedelai edamame mempunyai sedikit perbedaan apabila dibandingkan dengan kedelai biasa yaitu rasanya yang cenderung agak manis, warnanya hijau cerah, dan ukuran bijinya yang cukup besar (Amar dan Lutfiati, 2013). Adapun taksonomi tanaman kedelai adalah sebagai berikut (Kanchana *et al.*, 2015).

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida

Ordo	: Fabales
Famili	: Fabaceae
Subfamili	: Faboideae
Genus	: <i>Glycine</i>
Spesies	: <i>Glycine max</i> L. Merril

### 2.2.2 Morfologi

Edamame (*Glycine max* L. Merril) adalah tanaman penting yang menyediakan minyak dan protein. Tinggi tanaman bervariasi dari 0,2 sampai 2,0 m. Edamame dapat tumbuh dalam berbagai macam tanah, dengan pertumbuhan optimum di tanah yodium yang lembab dengan kandungan organik yang baik. Edamame, seperti kebanyakan kacang polong, melakukan fiksasi nitrogen dengan membentuk hubungan simbiosis dengan bakteri *Rhizobium japonicum*. Polong, batang dan daunnya ditutupi dengan bulu coklat atau abu-abu halus. Daunnya termasuk trifoliolate yang memiliki 3-4 helai per daun. Daunnya jatuh sebelum benih matang. Bunga edamame tidak mencolok, melakukan penyerbukan sendiri, dan berwarna putih, merah muda atau ungu. Buah umumnya berbentuk polong dan setiap polong berisi 2-4 biji (Kanchana *et al.*, 2015). Agar lebih jelas, morfologi edamame dapat dilihat pada Gambar 2.3.



(a) Daun; (b) Bunga; (c) dan (d) Biji Edamame

Gambar 2.3 Morfologi edamame (Kanchana *et al.*, 2015)

### 2.2.3 Kandungan Edamame (*Glycine max* L. Merril)

Edamame (*Glycine max* L. Merril) mengandung sejumlah asam alfa-linolenat, asam lemak omega-6, dan isoflavon. Kedelai kering mengandung protein 36%, minyak 19%, karbohidrat 35% (17% diantaranya serat), 5% mineral dan beberapa komponen lainnya termasuk vitamin, isoflavon dan saponin (Kanchana *et al.*, 2015). Selain kaya akan protein, edamame juga merupakan sumber kalsium, kalium, zat besi, asam askorbik, vitamin A, B1, dan C (Widati dan Hidayat, 2012). Kedelai juga mengandung tokoferol atau yang biasa disebut vitamin E (Kanchana *et al.*, 2015). Kandungan gizi pada edamame dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kandungan gizi dalam 100 gram edamame

Zat Gizi	Komposisi
Energi	582 kkal
Protein	11,4 g
Karbohidrat	7,4 g
Lemak	6,6 g
Air	71,1 g
Serat	15,6 g
Abu	70 g
Vitamin B1	0,27 g
Vitamin B2	0,14 g
Fosfor	1,7 g
Kalsium	140 g
Besi	1 g
Asam askorbat	2,7 g

(Sumber: Samsu, 2001)

Kandungan vitamin A, C, dan E dalam edamame cukup berperan penting dalam proses penyembuhan luka. Vitamin A berperan dalam meningkatkan respon inflamasi luka dengan cara meningkatkan kemampuan membran lisosom, meningkatkan masuknya makrofag, dan aktivasi serta rangsang sintesis kolagen. Vitamin C berperan penting dalam kekuatan dan stabilitas serat kolagen. Selain itu, vitamin C juga meningkatkan fungsi neutrofil dan mempunyai efek antioksidan (Chow dan Barbul, 2014). Vitamin E merupakan antioksidan yang

mempunyai efek antiinflamasi dan mempercepat proses penyembuhan luka (Tanaydin *et al.*, 2016).

Selain vitamin, kandungan edamame lainnya yang berperan dalam penyembuhan luka adalah isoflavon dan saponin. Isoflavon, termasuk senyawa fenolik, dengan konsentrasi sekitar 1-3 mg/g pada benih tua. Kandungan isoflavon dalam kedelai terdiri dari sekitar 72% dari total fenol (Mujic, 2011). Kedelai terdiri dari tiga jenis isoflavon yaitu daidzein, genistein, dan glisitein (Kanchana *et al.*, 2015). Dalam 100 g edamame terdapat daidzein 20,34 mg; genistein 22,57 mg; dan glisitein 7,57 mg (Bhagwat *et al.*, 2008). Isoflavon pada biji edamame bersifat antioksidan alami, sehingga dapat menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Antioksidan diketahui berguna dalam mendukung sistem imun, terutama menangkal radikal bebas yang dapat menyebabkan kanker, penuaan dini, dan berbagai penyakit lainnya (Siddiq *et al.*, 2016). Kedelai juga mengandung saponin 2% dengan sifat hepatoprotektif, anti-hiperlipidemia, anti kanker, antioksidan, dan lain-lain (Kanchana *et al.*, 2015).

### 2.3 Hidroksiprolin

Proses penyembuhan luka bakar dapat dievaluasi berdasarkan pengamatan secara biokimia terhadap jaringan kulit yaitu dengan mengukur kadar hidroksiprolin (Rismana *et al.*, 2013). Hidroksiprolin merupakan komponen utama dari protein kolagen yang diproduksi dengan hidroksilasi asam amino prolin sehingga termasuk asam amino yang termodifikasi pasca translasi (Wishart *et al.*, 2013). Kolagen adalah protein ekstraseluler utama pada jaringan granulasi penyembuhan luka. Setelah cedera, sintesis protein pada area luka mengalami peningkatan pesat yang memberikan kekuatan dan integritas pada matriks jaringan (Pawar *et al.*, 2013).

Pemecahan kolagen membebaskan hidroksiprolin bebas dan peptida-nya, sehingga pengukuran kadar hidroksiprolin dapat digunakan sebagai indeks pergantian kolagen (Prashanthi, 2012). Kandungan hidroksiprolin dari jaringan granulasi menunjukkan adanya kandungan kolagen yang lebih tinggi

pergantiannya mengarah pada proses penyembuhan cepat dengan peningkatan kekuatan daya tarik dari luka yang diobati (Pawar *et al.*, 2013). Pengukuran kadar hidroksiprolin menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 557 nm (Gupta *et al.*, 2016). Jumlah hidroksiprolin dalam sampel dihitung terhadap kurva standar l- hidroksiprolin (Rismana *et al.*, 2013).

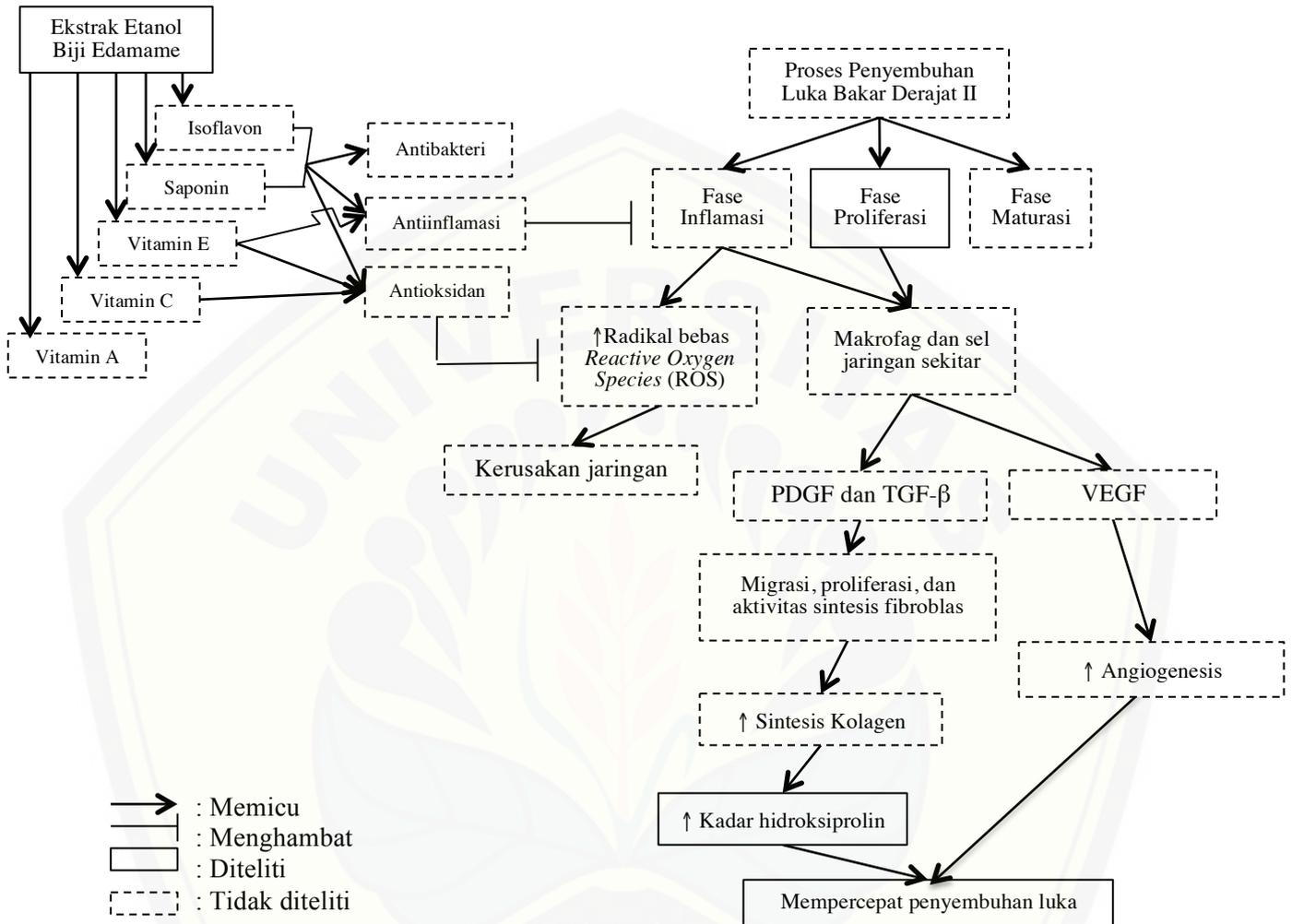
#### **2.4 Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut dari suatu serbuk simplisia, sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut. Ekstrak merupakan sediaan pekat yang didapat dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan, dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang ditetapkan (Ningsih *et al.*, 2016).

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi. Maserasi adalah suatu proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan. Prosedur maserasi dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel, lalu masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena terdapat perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang paling pekat didesak ke luar. Peristiwa tersebut terjadi berulang kali sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Ningsih *et al.*, 2016).

## 2.5 Kerangka Konseptual

Kerangka konsep pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Kerangka konseptual penelitian

Ekstrak etanol biji edamame memiliki kandungan yang dapat mempengaruhi proses penyembuhan luka, yaitu isoflavon, saponin, vitamin A, vitamin C, dan vitamin E. Isoflavon, vitamin C, dan vitamin E mempunyai sifat antioksidan yang berperan dalam mengikat radikal bebas (ROS) yang berlebihan. Pada fase inflamasi, ROS dihasilkan oleh sel neutrofil untuk melindungi tubuh dari infeksi, namun tingginya kadar ROS dapat menimbulkan kerusakan pada sel tubuh. ROS juga dapat mengaktivasi dan mempertahankan kaskade asam arakidonat yang akan menimbulkan berbagai mediator inflamasi lagi, sehingga proses inflamasi

menjadi berkepanjangan. Untuk mengatasi hal tersebut, isoflavon, saponin, dan vitamin E mempunyai sifat antiinflamasi yang dapat mempercepat fase inflamasi sehingga segera memasuki fase proliferasi. Sebelum memasuki fase proliferasi, makrofag mensekresi PDGF dan VEGF yang mengawali pembentukan jaringan granulasi dan memulai transisi menuju fase proliferasi dan regenerasi jaringan. Pada fase proliferasi, PDGF dan TGF- $\beta$  merangsang diferensiasi fibroblas untuk memproduksi kolagen. Dari beberapa tahap yang telah disebutkan, akan terjadi peningkatan sintesis kolagen yang berarti semakin tingginya kadar hidroksiprolin. Adanya kandungan kolagen yang lebih tinggi pergantiannya mengarah pada proses penyembuhan cepat dengan peningkatan kekuatan daya tarik dari luka yang diobati. Sedangkan VEGF meningkatkan angiogenesis yang juga ikut berperan mempercepat proses penyembuhan luka.

## 2.6 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max* L. Merril) efektif dalam meningkatkan kadar hidroksiprolin pada penyembuhan luka bakar derajat II.
- b. Terdapat dosis efektif ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max* L. Merril) yang dapat meningkatkan kadar hidroksiprolin pada penyembuhan luka bakar derajat II.

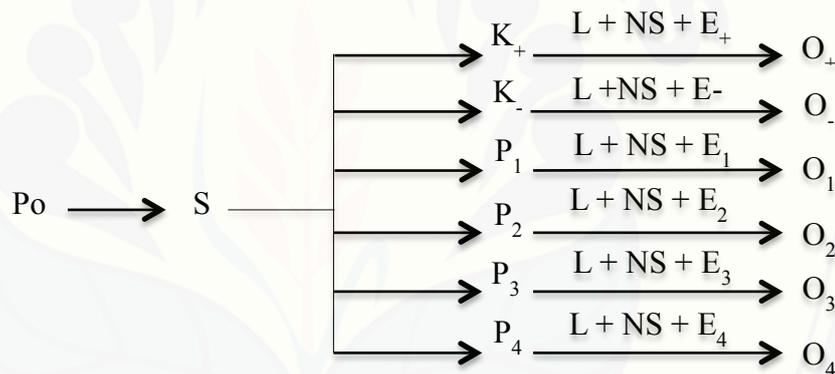
### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah *true experimental laboratories* dengan rancangan *posttest only control group design* (Syahdrajat, 2017).

#### 3.2 Rancangan penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian *posttest only control group design*. Pengukuran hanya dilakukan pada *posttest* yakni setelah mendapat perlakuan berupa pemberian ekstrak etanol biji edamame. Secara sistematis rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



- Po : Populasi tikus galur *Wistar*.
- S : 24 ekor tikus yang dipilih berdasarkan rumus replikasi.
- K<sub>+</sub> : Kelompok kontrol positif.
- K<sub>-</sub> : Kelompok kontrol negatif.
- K<sub>1</sub> : Kelompok perlakuan 1.
- K<sub>2</sub> : Kelompok perlakuan 2.
- K<sub>3</sub> : Kelompok perlakuan 3.
- K<sub>4</sub> : Kelompok perlakuan 4.
- L : Induksi luka bakar derajat II dengan uang logam.
- NS : Pembersihan luka dengan normal saline.
- E<sub>+</sub> : Diberi krim silver sulfadiazine dan ditutup kasa.
- E<sub>-</sub> : Diberi Na-CMC 0,5% dan ditutup kasa.
- E<sub>1</sub> : Diberi ekstrak etanol biji edamame 20% dan ditutup kasa.
- E<sub>2</sub> : Diberi ekstrak etanol biji edamame 40% dan ditutup kasa.
- E<sub>3</sub> : Diberi ekstrak etanol biji edamame 60% dan ditutup kasa.
- E<sub>4</sub> : Diberi ekstrak etanol biji edamame 80% dan ditutup kasa.

- $O_+$  : Data hasil pengukuran kadar hidroksiprolin  $K_+$  pada hari ke 16.
- $O_-$  : Data hasil pengukuran kadar hidroksiprolin  $K_-$  pada hari ke 16.
- $O_1$  : Data hasil pengukuran kadar hidroksiprolin  $P_1$  pada hari ke 16.
- $O_2$  : Data hasil pengukuran kadar hidroksiprolin  $P_2$  pada hari ke 16.
- $O_3$  : Data hasil pengukuran kadar hidroksiprolin  $P_3$  pada hari ke 16.
- $O_4$  : Data hasil pengukuran kadar hidroksiprolin  $P_4$  pada hari ke 16.

Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

### 3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

#### 3.3.1 Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jenis *wistar* yang didapat dari Ahli Peternakan Malang.

#### 3.3.2 Sampel

Tikus (*Rattus Norvegicus*) *wistar* jantan berusia 2-3 bulan dengan berat 150-250 gram yang sehat dan normal, serta memiliki kulit yang normal. Sampel yang digunakan pada penelitian ini diambil dengan teknik acak sederhana (*simple random sampling*) (Kusumawardhani *et al.*, 2015).

#### 3.3.3 Besar Sampel Penelitian

Jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 24 ekor sesuai dengan rumus Federer.

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

$$(6 - 1)(n - 1) \geq 15$$

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

$$(n - 1) \geq \frac{15}{5}$$

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

$$n \geq 4$$

Keterangan:  $p$  = jumlah perlakuan,  $n$  = jumlah sampel

Penelitian ini terdiri dari 6 perlakuan dengan minimal 4 sampel pada setiap perlakuan sehingga dibutuhkan sampel sebanyak 24 ekor (Syahdrajat, 2017).

### 3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di beberapa tempat. Determinasi tanaman dilaksanakan oleh PT Mitratani Dua Tujuh, Kabupaten Jember. Pemeliharaan dan perlakuan hewan coba dilakukan di Laboratorium Biomedik Dasar Fakultas Kedokteran Gigi UNEJ. Pembuatan ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max* L. Merrill) dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi UNEJ, dan pengukuran kadar hidrosiprolin dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran UNEJ. Pelaksanaan penelitian ini dimulai pada bulan Oktober hingga bulan Desember 2017.

### 3.5 Variabel Penelitian

#### 3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang terdapat dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max* L. Merrill) dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% (Zulfia *et al.*, 2014).

#### 3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar hidrosiprolin pada sediaan kulit yang diukur setelah pemberian ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max* L. Merrill) secara topikal selama 15 hari.

#### 3.5.3 Variabel Terkendali

- a. Jenis dan pemeliharaan binatang coba.
- b. Pembuatan ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max* L. Merrill) dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80%.
- c. Pembuatan luka bakar derajat II
- d. Perawatan luka bakar dan pencegahan infeksi
- e. Lama perlakuan
- f. Cara pengamatan
- g. Prosedur penelitian

### 3.6 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Definisi operasional

No.	Variabel	Definisi Operasional	Hasil Ukur	Skala Ukur
1	Ekstrak etanol biji edamame ( <i>Glycine max</i> L. Merrill)	Ekstrak biji edamame yang dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Konsentrasi ekstrak etanol biji edamame 20%, 40%, 60%, 80% dilarutkan dengan Na-CMC 0,5%.	Konsentrasi ekstrak etanol biji edamame (%)	Numerik
2	Kadar Hidroksiprolin	Asam amino hasil modifikasi prolin yang dikatalisis oleh enzim prolil-4-hidroksilase (P4H) pada saat proses posttranslasi protein (Afifah, 2016). Kadar hidroksiprolin kulit diukur serapannya pada panjang gelombang 557 nm dengan spektrofotometer (Gupta <i>et al.</i> , 2016). Jumlah hidroksiprolin dalam sampel dihitung terhadap kurva standar l- hidroksiprolin (Rismana <i>et al.</i> , 2013).	Kadar hidroksiprolin ( $\mu\text{g}$ / 100 mg jaringan kulit)	Numerik
3	Luka Bakar derajat II	Luka bakar dengan kerusakan terjadi pada seluruh lapisan epidermis hingga sebagian lapisan dermis, berupa reaksi inflamasi dan proses eksudasi. Luka bakar derajat II dapat diketahui secara kasat mata, dimana timbul bula, bengkak, dan nyeri (Pereira <i>et al.</i> , 2012). Luka bakar dibuat dengan menempelkan uang logam yang telah dipanaskan dengan api selama 5 menit pada punggung tikus selama 5 detik (Fithriyah <i>et al.</i> , 2013; Venter <i>et al.</i> , 2015).	Kedalaman luka bakar	Kategorik

### 3.7 Alat dan Bahan

#### 3.7.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

- Alat untuk pemeliharaan tikus adalah bak plastik, penutup kawat, tempat pakan, botol minum, dan label.
- Alat untuk pembuatan ekstrak etanol biji edamame adalah blender, ayakan, timbangan, toples kaca, erlenmeyer, corong, kertas saring, *rotary evaporator*, pengaduk, dan gelas ukur.
- Alat untuk pembuatan luka bakar adalah uang logam, thermometer, stopwatch, pisau cukur, spuit, gunting, pinset, dan bunsen.

- d. Alat untuk mengambil jaringan kulit adalah gunting, pinset, spuit, pot organ, jarum, meja operasi.
- e. Alat untuk mengukur kadar hidroksiprolin adalah timbangan digital, *beaker glass*, gelas ukur, pipet, *magnetic stirrer*, *vortex*, oven, stopwatch, inkubator, *centrifuge*, spatula, tabung reaksi, rak tabung reaksi, kuvet, spektrofotometer.

### 3.7.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Bahan untuk pemeliharaan tikus adalah makanan pellet, air tawar, dan serbuk kayu.
- b. Bahan untuk pembuatan ekstrak etanol biji edamame adalah biji edamame, etanol 96%, dan Na-CMC 0,5%.
- c. Bahan untuk pembuatan luka bakar adalah ketamin, xylazin, alkohol, normal saline, kassa.
- d. Bahan untuk perawatan luka bakar adalah kassa steril, normal saline, *silver sulfadiazine*, Na-CMC 0,5%, dan ekstrak etanol biji edamame.
- e. Bahan untuk mengambil jaringan kulit adalah eter.
- f. Bahan untuk mengukur kadar hidroksiprolin adalah aquades, HCl, Chloramin T, buffer sitrat, HClO<sub>4</sub> dan reagen ehrlich.

## 3.8 Prosedur Penelitian

### 3.8.1 Pemilihan Sampel Tikus

Hewan coba berupa tikus (*Rattus Norvegicus*) jenis *wistar* jantan yang sehat dengan usia 2-3 bulan dan berat badan antara 150-250 gram, sebanyak 24 ekor terbagi dalam enam kelompok dengan perincian 4 ekor tikus untuk pengambilan data pada masing-masing kelompok. Tikus yang dipilih harus memiliki tubuh serta kulit yang sehat dan normal (Nugroho, 2015).

### 3.8.2 Persiapan Sampel Tikus

Tikus sebanyak 24 ekor dilakukan randomisasi dan ditempatkan di dalam

kandang yang sudah disekat sesuai dengan kelompok perlakuan. Tikus diadaptasikan pada kondisi laboratorium selama 7 hari sebelum diberi perlakuan. Setiap tikus dipelihara dalam 1 kandang yang berbeda dalam suhu kamar atau 20 °C ( $\pm 3$  °C). Tikus diberi pakan standar dan diberikan minum secara *ad libitum* (Nugroho, 2015).

### 3.8.3 Pembagian Kelompok Perlakuan

Jumlah kelompok pada penelitian ini adalah 6 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 4 tikus. Pembagian kelompok tikus dapat dilihat pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2 Pembagian kelompok perlakuan

Nama Kelompok	Perlakuan yang diberikan
Kelompok K+	Luka bakar, pemberian normal saline, dan <i>silver sulfadiazine</i>
Kelompok K-	Luka bakar, pemberian normal saline, dan Na-CMC 0,5%
Kelompok P1	Luka bakar, pemberian normal saline, dan ekstrak etanol biji edamame 20%
Kelompok P2	Luka bakar, pemberian normal saline, dan ekstrak etanol biji edamame 40%
Kelompok P3	Luka bakar, pemberian normal saline, dan ekstrak etanol biji edamame 60%
Kelompok P4	Luka bakar, pemberian normal saline, dan ekstrak etanol biji edamame 80%

### 3.8.4 Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Edamame (*Glycine max* L. Merrill)

Edamame diperoleh dan dideterminasi oleh PT Mitratani Dua Tujuh, Jember. Surat determinasi dapat dilihat pada Lampiran 3.1. Sampel biji edamame dicuci bersih dengan air mengalir, diangin-anginkan sampai kadar air berkurang, dan dihaluskan dengan mesin penggiling (blender) hingga terbentuk serbuk. Pembuatan ekstrak biji edamame dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% (1:10). Selama proses pembuatan, hasil campuran didiamkan selama 3x24 jam dan diaduk sesekali. Setelah itu, dilakukan penyaringan untuk memisahkan filtrat dan residu. Kemudian, filtrat yang terkumpul diuapkan pada suhu 50 °C menggunakan *rotary evaporator* sehingga akan didapat ekstrak kental biji edamame (Siddiq *et al.*, 2016).

### 3.8.5 Pembuatan Sediaan Larutan Na-CMC 0,5% dan Persiapan Larutan Ekstrak Etanol Biji Edamame (*Glycine max* L. Merrill)

Pembuatan sediaan larutan Na CMC 0,5% dengan cara menaburkan 500 mg

Na-CMC ke dalam 10 mL aquades panas, larutan dibiarkan selama kurang lebih 15 menit hingga berwarna bening dan menyerupai jel. Kemudian, larutan diaduk sampai menjadi massa yang homogen dan diencerkan dalam *beaker glass* dengan aquades hingga volume 100 mL (Bidaah, 2013).

Cara melarutkan ekstrak etanol biji edamame dalam Na CMC 0,5% berdasarkan konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80% sesuai rumus pengenceran. Setelah menambahkan ekstrak etanol biji edamame ke dalam larutan Na-CMC 0,5%, larutan diaduk dengan spatula kaca dan *vortex* hingga homogen. Larutan ekstrak tersebut disimpan dalam lemari es dan dibuat baru setiap 10 hari sekali.

### 3.8.6 Persiapan Bahan Baku dan Pereaksi

#### a. Pembuatan reagen

##### 1) Pembuatan larutan HCl 6 N

Larutan HCl 37% (12 N) dipipet sebanyak 2,5 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL. Aquades ditambahkan sampai tanda batas dan kocok sampai homogen (Afifah, 2016).

##### 2) Pembuatan larutan Chloramin T

Serbuk chloramin ditimbang sebanyak 350 mg pada timbangan digital, serbuk dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL. Aquades ditambahkan sampai tanda batas dan dikocok dengan *magnetic stirrer* sampai homogen (Afifah, 2016).

##### 3) Pembuatan buffer sitrat pH 6

Buffer sitrat terbuat dari 0,1 M larutan asam sitrat dan 0,1 M larutan natrium sitrat. Serbuk asam sitrat ditimbang sebanyak 420 mg, diletakkan pada *beaker glass* 50 mL. Kemudian, ditambahkan aquades sampai batas 20 mL dan dikocok sampai homogen. Sedangkan serbuk natrium sitrat ditimbang sebanyak 588 mg, diletakkan pada *beaker glass* 50 mL, dan ditambahkan aquades sampai batas 20 mL dan dikocok sampai homogen. Untuk pembuatan buffer sitrat pH 6 dibutuhkan 1,9 mL larutan asam sitrat dan 8,1 mL larutan natrium sitrat, dicampurkan dalam satu *beaker glass* dan dikocok hingga homogen. Kemudian, memeriksa pH larutan dengan pH meter hingga pH 6 (Wachid dan Setiarso, 2014).

4) Pembuatan larutan 0,4 M HClO<sub>4</sub> 60%

Larutan 0,4 M HClO<sub>4</sub> 60% dipipet sebanyak 0,4 mL kemudian dimasukkan larutan ke dalam labu ukur 10 mL. Aquades ditambahkan sampai tanda batas dan kocok sampai homogen.

5) Pembuatan larutan hidroksiprolin standar

Pembuatan larutan induk hidroksiprolin standar yaitu 4 mg/mL, kemudian dilakukan pengenceran (Edwards dan O'Brien, 1980) seperti yang ditunjukkan pada Tabel 3.3.

Tabel 3.3 Pengenceran larutan hidroksiprolin standar

Tabung	Hidroksiprolin standar (μL)	Aquades (μL)	Konsentrasi hidroksiprolin (μg/mL)
1	100 μL dari larutan induk	900	400
2	500 μL dari tab 1	500	200
3	500 μL dari tab 2	500	100
4	500 μL dari tab 3	500	50
5	500 μL dari tab 4	500	25
6	500 μL dari tab 5	500	12,5
7	500 μL dari tab 6	500	6,3
8	-	500	0

### 3.8.7 Tahap Perlakuan

a. Pembuatan Luka Bakar Derajat II

Sampel tikus dibagi secara acak menjadi enam kelompok, setiap kelompok terdiri dari empat hewan coba yang diambil datanya. Tikus yang telah memenuhi kriteria ditimbang dan dicatat hasilnya. Bulu tikus di daerah punggung dicukur terlebih dahulu. Pencukuran diusahakan agar tidak menyebabkan abrasi pada kulit. Sebelum luka bakar dibuat, tikus dianestesi menggunakan kombinasi ketamin dosis 40-100 mg/kgBB dan xylazin dosis 5-13 mg/kgBB secara intraperitoneal (Susan, 2016). Berdasarkan studi pendahuluan peneliti, pembuatan luka bakar derajat II menggunakan uang logam yang dipanaskan dengan api selama 5 menit. Kemudian, uang logam tersebut ditempelkan pada punggung tikus selama 5 detik (Fithriyah *et al.*, 2013; Venter *et al.*, 2015). Luka dinyatakan sebagai luka bakar derajat II pada tikus apabila luka berwarna merah muda, muncul bula, dan bengkak (Pereira *et al.*, 2012).

b. Perawatan Luka Bakar

Setelah tikus diberi luka bakar derajat II, luka dibersihkan dengan normal saline. Selanjutnya, tikus diberi perawatan luka secara topikal berdasarkan kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol positif (K<sub>+</sub>) luka diolesi krim *silver sulfadiazine*, kontrol negatif (K<sub>-</sub>) diberi Na-CMC 0,5% saja, perlakuan 1 (P<sub>1</sub>) diberi ekstrak etanol biji edamame 20%, perlakuan 2 (P<sub>2</sub>) diberi ekstrak etanol biji edamame 40%, perlakuan 3 (P<sub>3</sub>) diberi ekstrak etanol biji edamame 60%, dan perlakuan 4 (P<sub>4</sub>) diberi ekstrak etanol biji edamame 80%. Area yang telah diolesi, ditutup dengan kasa yang tidak menyebabkan iritasi. Hewan coba dicegah agar tidak menggaruk, melepas, memakan atau menjilat ekstrak yang telah diaplikasikan. Perawatan dilakukan satu kali dalam sehari selama 15 hari.

### 3.8.8 Pengambilan dan Pengolahan Jaringan Kulit

Pada hari ke 16, hewan coba diterminasi menggunakan eter. Jaringan kulit yang diberi perlakuan diambil 300-500 mg sesuai dengan daerah bekas luka bakar. Sediaan kulit diambil terutama pada tepi luka karena proses penyembuhan luka sebagian besar berawal dari tepi luka. Setelah kulit diambil, kulit diletakkan pada cawan petri dan dikeringkan pada suhu 60 °C selama 12 jam. Apabila kulit telah kering, ditambahkan 3-5 mL 6 N HCl, lalu tutup tabung reaksi dengan *aluminium foil*. Jaringan kulit dihidrolisis pada suhu 130 °C selama 4 jam. Kulit yang kering akan ikut larut dalam HCl setelah proses hidrolisis. Hasil hidrolisis dibiarkan hingga dingin. Larutan dipindah pada tabung eppendorf sebanyak 2 mL dan dilakukan pemisahan dari endapan hitam menggunakan sentrifuge pada 10000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang terbentuk diambil dan dipindahkan pada tabung reaksi (Edwards dan O'Brien, 1980; Gupta *et al.*, 2016).

### 3.8.9 Pengamatan Uji Histokimia dengan Mengukur Kadar Hidroksiprolin

Sampel jaringan kulit bekas luka sebanyak 300-500 mg dianalisis kandungan hidroksiprolinnya, sebagai penyusun dasar kolagen. Setelah jaringan dihidrolisis, supernatan yang terbentuk dievaporasi selama 30-45 menit pada suhu 60-80 °C untuk menghilangkan sisa-sisa HCl yang dapat menghambat reaksi

kolorimetri. Kemudian, 500  $\mu\text{L}$  larutan yang telah dievaporasi ditambahkan 30  $\mu\text{L}$  Chloramin T dan 470  $\mu\text{L}$  buffer sitrat pH 6, dikocok hingga homogen. Hasil campuran diinkubasi selama 20 menit pada suhu ruangan. Reaksi diakhiri dengan penambahan 250  $\mu\text{L}$  larutan 0,4 M  $\text{HClO}_4$  dan 250  $\mu\text{L}$  reagen Ehrlich, dikocok hingga homogen. Hasil campuran diinkubasi selama 90 menit pada suhu 60  $^{\circ}\text{C}$ . Setelah proses inkubasi akan terbentuk endapan hitam, sehingga perlu dilakukan sentrifuge kembali dengan kecepatan 3000-4000 rpm selama 5 menit. Hasil reaksi dipindahkan pada kuvet. Kadar hidroksiprolin diukur serapannya pada panjang gelombang 557 nm menggunakan spektrofotometer (Edwards dan O'Brien, 1980; Gupta *et al.*, 2016). Jumlah hidroksiprolin dalam sampel dihitung terhadap kurva standar l- hidroksiprolin (Rismana *et al.*, 2013).

Pembuatan kurva hidroksiprolin standar dengan konsentrasi 0; 6,3; 12,5; 25; 50; 100; 200; dan 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . 500  $\mu\text{L}$  hidroksiprolin standar diletakkan pada tabung reaksi, ditambahkan 30  $\mu\text{L}$  Chloramin T dan 470  $\mu\text{L}$  buffer sitrat, dikocok dengan *vortex*. Sampel diinkubasi pada suhu ruang selama 20 menit. Kemudian, ditambahkan 250  $\mu\text{L}$   $\text{HClO}_4$  dan 250  $\mu\text{L}$  Ehrlich, kocok dengan *vortex*. Sampel diinkubasi pada suhu 60  $^{\circ}\text{C}$  selama 90 menit, dibiarkan dingin pada suhu ruang. Selanjutnya, dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Supernatan diambil dan dipindahkan pada kuvet (Edwards dan O'Brien, 1980). Sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang 557 nm (Gupta *et al.*, 2016). Nilai hasil absorbansi sampel dimasukkan dalam formula kurva standar dan didapatkan nilai akhir hidroksiprolin dalam satuan  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

### 3.9 Uji Kelayakan Etik

Tikus putih sebagai subjek yang digunakan pada penelitian ini harus mendapat sertifikat kelayakan etik, sehingga perlu diajukan ke komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Prosedur ini diharapkan dapat menjamin keamanan bagi peneliti maupun hewan coba, melindungi hewan coba, dan memperjelas tujuan dan kewajiban peneliti. Lembar etik yang sudah disetujui dengan nomor 1189/H25.1.11/KE/2017 dapat dilihat pada Lampiran 3.2.

### 3.10 Analisis Data

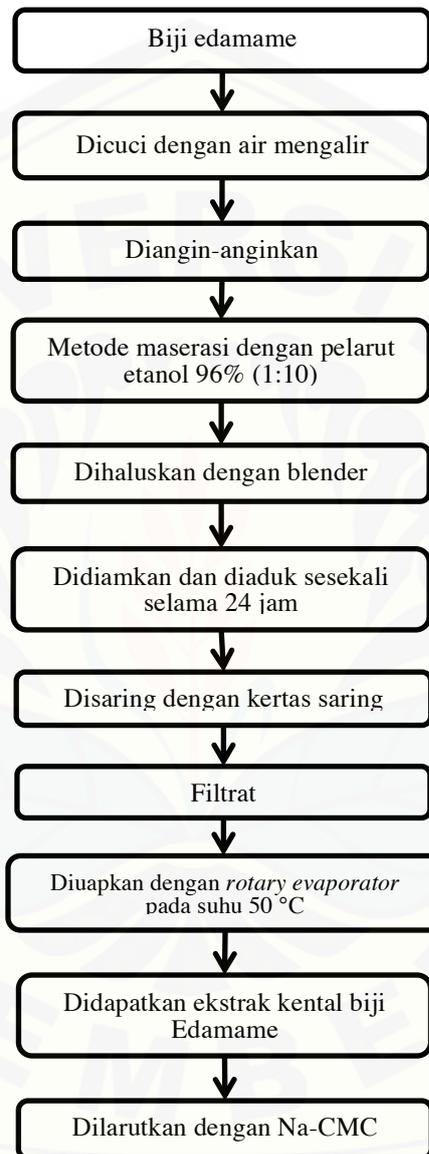
Data hasil pengukuran diuji secara statistik menggunakan *Shapiro-Wilk* untuk menguji normalitas data karena sampel  $<50$  dan uji *Levene* untuk mengetahui homogenitas. Data yang didapat terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA* ( $p < 0,05$ ). Hasil analisis data signifikan ( $p < 0,05$ ) dan dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc* untuk mengetahui perbedaan secara signifikan antar kelompok perlakuan.

Selain itu, data dianalisis dengan uji korelasi *Pearson* untuk mengetahui apakah ada hubungan antar variabel yang dinyatakan dalam kekuatan korelasi ( $r$ ). Nilai  $r$  0,0 s.d.  $<0,2$  sangat lemah; 0,2 s.d.  $<0,4$  lemah; 0,4 s.d.  $<0,6$  sedang; 0,6 s.d.  $<0,8$  kuat; 0,8 s.d. 1 sangat kuat (Dahlan, 2014). Kemudian, dilakukan uji regresi untuk mengetahui sejauh mana pengaruh variabel independen terhadap dependen setelah diketahui terdapat hubungan. Uji regresi berguna dalam menentukan kurva ideal dengan *curve estimation*. Kurva tersebut akan menghasilkan persamaan yang digunakan untuk menentukan dosis efektif ekstrak etanol biji edamame.

### 3.11 Alur Penelitian

#### 3.11.1 Alur Pembuatan Ekstrak

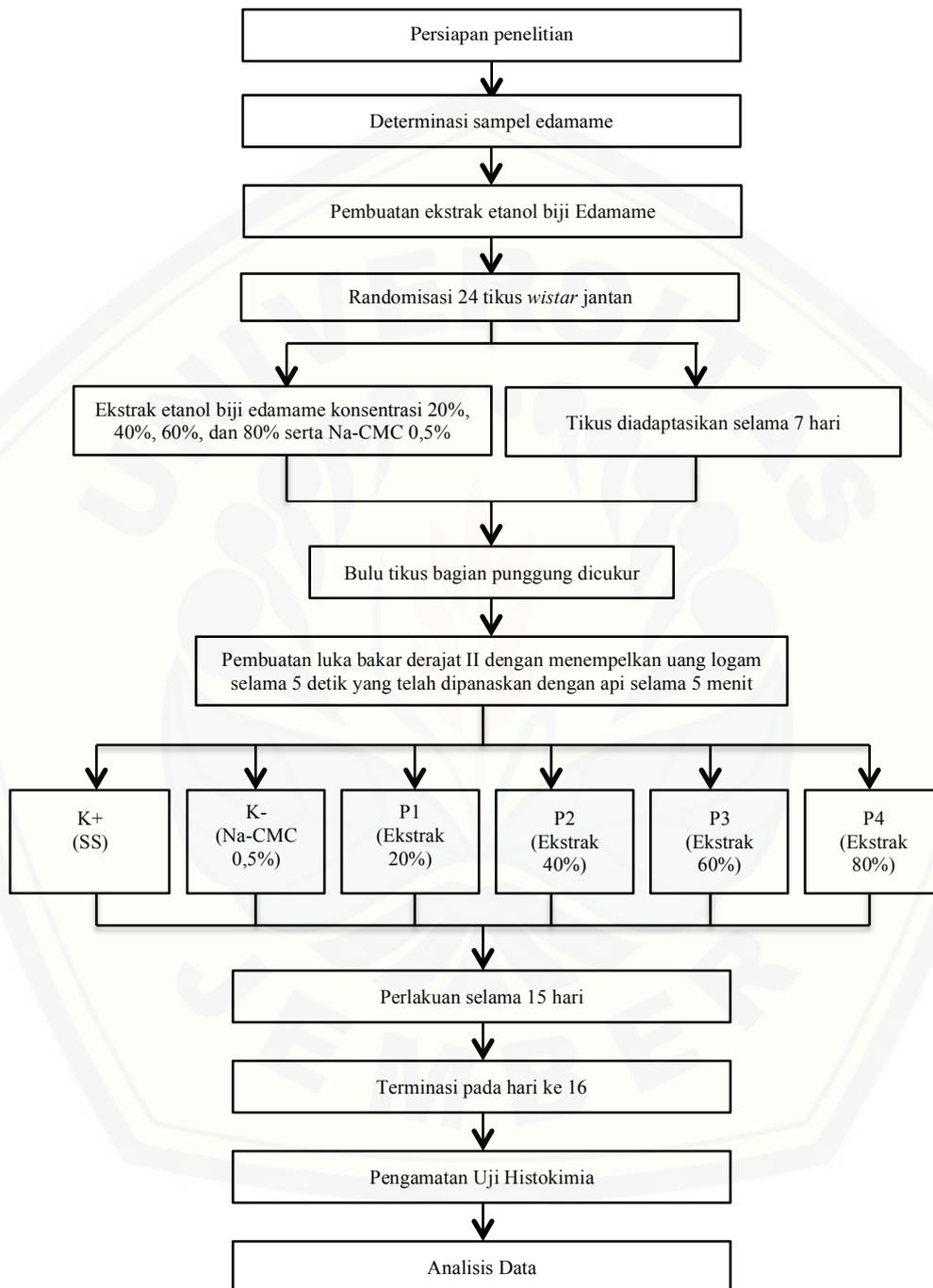
Alur pembuatan ekstrak dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Alur pembuatan ekstrak

## 3.11.2 Alur Perlakuan Hewan Coba

Alur perlakuan hewan coba dapat dilihat pada Gambar 3.3.



Keterangan:

Ekstrak : Ekstrak Etanol Biji Edamame

SS : Silver Sulfadiazine

Gambar 3.3 Alur perlakuan hewan coba

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut.

- a. Ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max* L. merril) efektif dalam menurunkan kadar hidroksiprolin pada penyembuhan luka bakar derajat II.
- b. Dosis efektif ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max* L. merril) untuk menurunkan kadar hidroksiprolin sebesar 75,3%.

### 5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan oleh peneliti dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Penelitian lebih lanjut mengenai efektivitas edamame dalam sediaan salep atau gel.
- b. Penelitian lebih lanjut mengenai efektivitas ekstrak etanol biji edamame terhadap kadar hidroksiprolin secara serial dalam waktu beberapa hari pada setiap fase penyembuhan luka bakar derajat II.

DAFTAR PUSTAKA

- Acton, C. 2013. The importance of nutrition in wound healing. *Wounds UK*. 9(3): 61-64.
- Adnan, J. 2016. Formulasi gel ekstrak daun beluntas (*Plucea indica* Less) dengan Na-CMC sebagai basis gel. *Journal of Pharmaceutical Science and Herbal Technology*. 1(1): 41-44.
- Afifah, S. P. 2016. Validasi Metode Penetapan Kadar Asam Amino Hidroksiprolin Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Skripsi*. Tidak dipublikasikan. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Akhoondinasab, M. R., M. Akhoondinasab, dan M. Saberi. 2014. Comparison of healing effect of aloe vera extract and silver sulfadiazine in burn injuries in experimental rat model. *Wourld Journal of Pharmaceutical Sciences*. 3(1): 29-34.
- Amar, W. S. dan D. Lutfiati. 2013. Pengaruh penggunaan minyak kedelai dan susu skim terhadap organoleptik pasta kedelai edamame. *Ejournal boga*. 2(1): 139-149.
- Arifin, H., N. Anggraini, D. Handayani, dan R. Rasyid. 2006. Standarisasi ekstrak etanol daun *Eugenia Cumini* Merr. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 11(2): 88-93.
- Bhagwat, S., D. B. Haytowitz, dan J. M. Holden. 2008. *USDA Database fot the Isoflavone Content of Selected Foods*, Release 2.0. U.S. Beltsville: Department of Agriculture.
- Bhatia, N., A. Singh, R. Sharma, A. Singh, V. Soni, G. Singh, J. Bajaj, R. Dhawan, dan B. Singh. 2014. Evaluation of burn wound healing potential of aqueous extract of *Morus alba* based cream in rats. *The Journal of Phytopharmacology*. 3(6): 378-383.
- Bidaah, A. 2013. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap anatomi dan histologi hepar mencit betina (*Mus musculus*) yang Diinduksi 7, 12 Dimetilbenz ( $\alpha$ ) Antrasen (DMBA) secara in vivo. *Skripsi*. Tidak dipublikasikan. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Broughton, G., J. E. Janis, dan C. E. Attinger. 2006. Wound Healing: An Overview. *Plastic Reconstructive Surgery*. 117(7s): 1-32.

- Caetano, G. F., M. Fronza, M. N. Leite, A. Gomes, dan M. A. C. Frade. 2016. Comparison of collagen content in skin wounds evaluated by biochemical assay and by computer- aided histomorphometric analysis. *Pharmaceutical Biology*. 54(11): 2555-2559.
- Chow, O. dan A. Barbul. 2014. Immunonutrition: role in wound healing and tissue regeneration. *Adv Wound Care*. 3(1):46-53.
- Dahlan, M. S. 2014. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Edisi 6. Jakarta: Salemba Medika.
- Darma, S., M. Manjas, D. Saputra, S. Agus, dan Erkadius. 2013. Efek pemberian suntikan vitamin c terhadap luka insisi dermal. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2(3): 168-169.
- Dwivedi, D., M. Dwivedi, S. Malviya, dan V. Singh. 2017. Evaluation of wound healing, anti-microbial and antioxidant potential of *Pongamia pinnata* in wistar rats. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 7(1): 79-85.
- Edwards, C. A. dan W. D. J. O'Brien. 1980. Modified assay for determination of hydroxyproline in a tissue hydrolyzate. *Clinica Chimica Acta*. 104(2): 161-167.
- Firmansyah dan Dhuha, 2014. Kedelai Jember Tembus Pasar Internasional. Pusdatin Sekretariat Kabinet Republik Indonesia. <http://setkab.go.id/kedelai-jember-tembus-pasar-internasional/>. [Diakses tanggal 10 Juni 2017].
- Fithriyah, N., S. Arifin, dan E. Santi. 2013. Lumatan daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap lama penyembuhan luka bakar derajat II pada kulit kelinci (*Cavia cobaya*). *Dunia Keperawatan*. 1(1): 24-31.
- Ghebreyesus, T.A. 2017. Burns. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs365/en/>. [Diakses tanggal 26 September 2017].
- Ghuman, S., B. Ncube, J. F. Finnie, L. J. McGraw, R. M. Coopoosamy, dan J. V. Staden. 2016. Antimicrobial activity, phenolic content, and cytotoxicity of medicinal plant extracts used for treating dermatological diseases and wound healing in KwaZulu-Natal, South Africa. *Front. Pharmacol*. 7: 320.
- Guo, S., dan L. A. DiPietro. 2010. Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*. 89(3): 219-229.

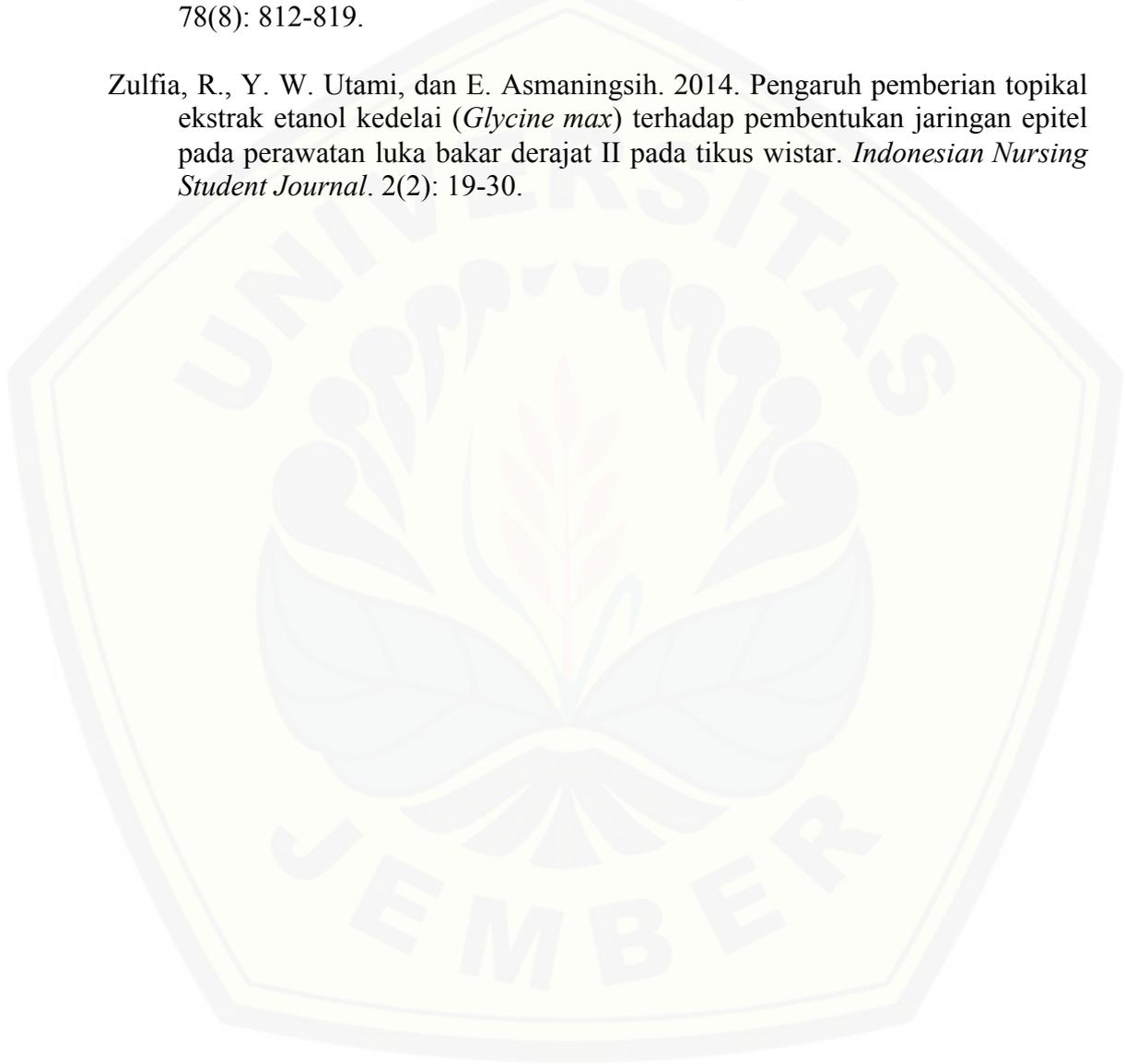
- Gupta, R., A. Garg, P. Sharma, dan P. Pandey. 2016. Wound healing and antioxidant effect of *Calliandra haematocephala* leaves on incision and excision wound models. *Asian Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2(2): 34-39.
- Hosseini, S. V., H. Niknahad, N. Fakhar, A. Rezaianzadeh, dan D. Mehrabani. 2011. The healing effect of mixture of honey, putty, vitriol and olive oil in *Pseudomonas aeruginosa* infected burns in experimental rat model. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*. 6(6): 572-579.
- Irrera, N., G. Pizzino, R. D'Anna, M. Vaccaro, V. Arcoraci, F. Squadrito, D. Altavilla, dan A. Bitto. 2017. Dietary Management of Skin Health: The Role of Genistein. *Nutrients*. 9(6): 1-10.
- Isrofah, Sagiran, dan M. Afandi. 2015. Efektifitas salep ekstrak daun binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten) Steenis) terhadap proses penyembuhan luka bakar derajat 2 termal pada tikus putih (*Rattus Novergicus*). *Muhammadiyah Journal of Nursing*. 27-36.
- Kanchana, P., M. L. Santha, dan K. D. Raja. 2015. A review on *Glycine max* L. Merril (soybean). *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5(1): 356-371.
- Kang, J. H., M. K. Sung, T. Kawada, H. Yoo, Y. K. Kim, J. S. Kim, dan R. Yu. 2005. Soybean saponins suppress the release of proinflammatory mediators by LPS-stimulated peritoneal macrophages. *Cancer Letters*. 230(2): 219-227.
- Khairany, N., N. Idiawati, dan M. A. Wibowo. 2015. Analisis sifat fisik dan kimia gel ekstrak etanol daun talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 4(2): 81-88.
- Kurniawati, I., Maftuch, dan A. M. Hariati. 2016. Penentuan pelarut dan lama ekstraksi terbaik pada teknik maserasi *Gracilaria* sp. serta pengaruhnya terhadap kadar air dan rendemen. *Jurnal Ilmu Perikanan*. 7(2): 72-77.
- Kong, Ah-Ng T. 2014. *Inflammation, Oxidative Stress, and Cancer: Dietary Approaches for Cancer Prevention*. 1<sup>st</sup> ed. Florida: CRC Press.
- Kurahashi, T. dan J. Fujii. 2015. Roles of antioxidant enzymes in wound healing. *Journal of Developmental Biology*. 3(2): 57-70.
- Kusumawardhani, A. D., U. Kalsum, dan I. S. Rini. 2015. Pengaruh sediaan salep ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap jumlah fibroblas luka bakar derajat IIA pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar. *Majalah Kesehatan FKUB*. 2(1): 16-28.

- Moses, T., K. K. Papadopoulou, dan A. Osbourn. 2014. Metabolic and functional diversity of saponins, biosynthetic intermediates and semi-synthetic derivatives. *Critical Review Biochemistry and Molecular Biology*. 49(6): 439-462.
- Mujic, E. Sertovic, S. Jokic, Z. Saric, V. Alibabic, S. Vidovic, dan J. Zivkovic. 2011. Isoflavone content and antioxidant properties of soybean seeds. *Croatian Journal of Food Science and Technology*. 3(1): 16-20.
- Ni'mah, R. J. 2009. Kadar Genistein dan Daidzein pada Kedelai, Ampas Tahu, dan Oncom Merah. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Ningsih, I. Y., E. Puspitasari, B. Triatmoko, dan D. Dianasari. 2016. *Buku Petunjuk Praktikum Fitokimia Edisi Revisi X*. Jember: Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Indonesia.
- Nugroho, A. M. 2015. Pengaruh Gel Ekstrak dan Serbuk Mentimun (*Cucumis sativus*) terhadap Angiogenesis pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat IIB pada Tikus Wistar. *Skripsi*. Tidak dipublikasikan. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Pawar, R. S., P. K. Chaurasiya, H. Rajak, P. K. Singour, F. A. Toppo, dan A. Jain. 2013. Wound healing activity of *Sida cordifolia* Linn. in rats. *Indian Journal Pharmacology*. 45(5): 474-478.
- Pereira, D. S. T., M. H. M. L. Ribeiro, N. T. P. Filho, A. M. A. C. Leao, dan M. T. S. Correia. 2012. Development of animal model for studying deep second-degree thermal burns. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 1-7.
- Prashanthi, R., N. Mohan, dan G. V. Siva. 2012. Wound healing property of aqueous extract of seed and outer layer of *Momordica charantia* L. on albino rats. *Indian Journal of Science and Technology*. 5(1): 1936-1940.
- Rismana, E., I. Rosidah, P. Y., O. Bunga, dan E. Y. 2013. Efektivitas khasiat pengobatan luka bakar sediaan gel mengandung fraksi ekstrak pegagan berdasarkan analisis hidrosiprolin dan histopatologi pada kulit kelinci. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 41(1): 45-60.
- Rodrigues, H. G., Y. S. Diniz, L. A. Faine, C. M. Galhardi, R. C. Burneiko, J. A. Almeida, B. O. Ribas, dan E. L. Novelli. 2005. Antioxidant effect of saponin: potential action of a soybean flavonoid on glucose tolerance and risk factors for atherosclerosis. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 56(2): 79-85.

- Rowan, M. P., L. C. Cancio, E. A. Elster, D. M. Burmeister, L. F. Rose, S. Natesan, R. K. Chan, R. J. Christy, dan K. K. Chung. 2015. Burn Wound Healing and Treatment: Review and Advancements. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4464872/>. [Diakses 4 September 2017].
- Samsu, S. H. 2001. *Membangun Agroindustri Bernuansa Ekspor: Edamame (Vegetable Soybean)*. Jember: Graha Ilmu dan Florentina.
- Sarabahi, S. 2010. *Principles and Practice of Burn Care*. 1<sup>st</sup> ed. New Delhi: Jaypee Publishers.
- Siddiq, H. B. H. F., Rosida, dan E. F. Prabawati. 2016. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max* L. Merril) dengan metode DPPH. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*. 1(1): 27-31.
- Sinno, H. dan S. Prakash. 2013. Complements and the wound healing cascade: an updated review. *Plastic Surgery International*. 1-7.
- Siswanto. 2013. *Riset Kesehatan Dasar; RISKESDAS*. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI.
- Sjamsuhidajat dan William de jong. 2011. *Buku Ajar Ilmu Bedah*. Edisi 3. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Subandi, I.K. Rini, L. Maslahatun. 2014. Pengaruh Pemberian Topikal Ekstrak Daun Cincau Hijau (*Cyclea barbata* L. Miers) terhadap Peningkatan Reepitelisasi Luka Bakar Derajat IIB pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Galur Wistar. *Skripsi*. Tidak dipublikasikan. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Susan, M. N. 2016. *Penggunaan dan Penanganan Hewan Coba Rodensia dalam Penelitian sesuai dengan Kesejahteraan Hewan*. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan.
- Syahdrajat, T. 2017. *Panduan Penelitian Untuk Skripsi Kedokteran dan Kesehatan*. Yogyakarta: CV. Sunrise.
- Tanaydin, V., J. Conings, M. Malyar, R. Hulst, dan B. Lei. 2016. The role of topical vitamin E in scar management: a systematic review. *Aesthetic Surgery Journal*. 36(8): 959-965.
- Thakur, R., N. Jain, R. Pathak, dan S. S. Sandhu. 2011. Practices in wound healing studies of plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 1-17.

- Tian, J. 2004. The effect of nano silver particles on cytokine expression and wound healing in an animal thermal injury model. *Tesis*. Tidak dipublikasikan. Hongkong: The HKU Scholars Hub.
- Townsend, C. M., R. D. Beauchamp, B. M. Evers, dan K. L. Mattox. 2012. *Textbook of Surgery*. Philadelphia: Elsevier Saunders.uu
- Venter, N. G., M. A. Costa, dan Marques. 2015. A new model for the standarization of experimental burn wound. *Burn*. 41(3): 524-527.
- Wachid, M. R. dan P. Setiarso. 2014. Pembuatan elektroda pasta karbon termodifikasi bentonit untuk analisis logam tembaga (II) dengan ion pengganggu timbal (II) dan merkuri (II) secara *cyclic voltammetry stripping*. *Journal of Chemistry*. 3(3): 93-103.
- Wibawani, L., E. S. Wahyuni, dan Y. W. Utami. 2015. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun melati (*Jasminum sambac* L. Ait) secara topikal terhadap peningkatan kontraksi luka bakar derajat IIA pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar. *Majalah Kesehatan FKUB*. 2(4): 196-206.
- Wibowo, R., Zulfikar, H. Paramu, D. Rato, H. S. Addy, E. Sulistyaningsih, S. Bukhori, A. Tallapessy, N. D. Gianawati, Siswoyo, A. Rijadi, dan Nawiyanto. 2016. *Pedoman Penulisan Karya Ilmiah*. Jember: Badan Penerbit Universitas Jember.
- Widati, F. dan I. M. Hidayat. 2012. *Kedelai Sayur (Glycine max* L. Merrill) *sebagai Tanaman Pekarangan*. Bandung: Balai Penelitian Tanaman Sayuran.
- Williams, Lippincott, dan Wilkins. 2011. *Professional Guide to Pathophysiology*. 3<sup>rd</sup> ed. Norristown : Wolters Kluwer Health.
- Wishart, D. S., T. Jewison, A. C. Guo, dan M. Wilson. 2013. *HMDB 3.0--The Human Metabolome Database in 2013*. *Nucleic Acids Res*. 41(D1):D801-7. 23161693.
- Yu, J., X. Bi, B. Yu, dan D. Chen. 2016. Isoflavones: anti-inflammatory benefit and possible caveats. *MDPI Journals*. 8(6): 1-16.
- Yulia, R., dan I. S. Wijaya. 2015. Senyawa antioksidan ekstrak metanol *Glycine max* (L.) Merr varietas detam 1 hasil ekstraksi ultrasonik. *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*. 2(1): 66-71.

- Zhang, H. F., K. Maslov, dan L. V. Wang. 2009. Dark Field Confocal Photoacoustic Microscopy. Dalam L. V. Wang, editor *Photoacoustic Imaging and Apectroscopy*. United States of America: CRC Press. 275.
- Zhao, J., Y. Arao, S. Sun, A. Kikuchi, dan F. Kayama. 2006. Oral administration of soy-derived genistin suppresses lipopolysaccharide-induced acute liver inflammation but does not induce thymic atrophy in the rat. *Life Sciences*. 78(8): 812-819.
- Zulfia, R., Y. W. Utami, dan E. Asmaningsih. 2014. Pengaruh pemberian topikal ekstrak etanol kedelai (*Glycine max*) terhadap pembentukan jaringan epitel pada perawatan luka bakar derajat II pada tikus wistar. *Indonesian Nursing Student Journal*. 2(2): 19-30.



**Lampiran 3.1 Determinasi tanaman edamame**

**MITRATANI DUA TUJUH**

TAKSONOMI TANAMAN EDAMAME

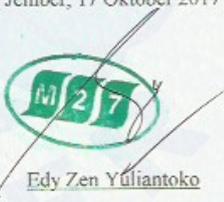
KLASIFIKASI EDAMAME:

Divisio	: Spermatophyta
Classis	: Dicotyledonac
Ordo	: Rosales
Familia	: Papilionaceae
Genus	: Glycine
Species	: <i>Glycine max</i> (L.) Merrill (TTG Budidaya Pertanian, 2000; 1)

SYARAT TUMBUH EDAMAME:

Edamame memerlukan iklim dengan suhu 26 - 32°C dengan curah hujan relatif tinggi. Pada umumnya pertumbuhan tanaman akan baik pada tanah yang berketinggian 0 – 500 m dpl. Edamame tumbuh baik pada tanah alluvial, regosol, grumosol, latosol dan andosol. Ph tanah 5,8 – 7 dengan aerasi dan drainase yang sesuai. Edamame menghendaki tanah yang subur, gembur dan kaya bahan organik.

Jember, 17 Oktober 2017



Edy Zen Yuliantoko  
Kepala Divisi Quality Assurance

*Committed To Quality*

Jl. Brawijaya 83 Mangli, Jember 68136 Jawa Timur - Indonesia  
Telp. 62-331-422222, 488881, 489457 Fax. 62-331-489456



## MITRATANI DUA TUJUH

### DESKRIPSI EDAMAME

*Glycine max L. Merrill*

Var. SPM 1

Tahun Pemakaian Varietas	:	2010
Pemilik	:	PT. Mitratani Dua Tujuh Jember
Asal Galur	:	Seleksi Massa KS3
Daya Hasil		
Segar/basah	<i>RM</i>	: 11.1 – 12.5 ton/ha
	<i>SQ</i>	: 7 – 8 ton/ha
Kering/Benih		: 850 – 1200 kg/ha
Warna Hipokotil		: Hijau
Warna Epikotil		: Hijau
Warna Daun		: Hijau
Warna Bulu		: Coklat
Warna Bunga		: Putih
Warna Kulit Biji		: Kuning
Warna Polong		
a. Muda	<i>Mentah</i>	: Hijau
	<i>Matang</i>	: Hijau
b. Tua		: Coklat
Warna Kulit biji		
a. Muda		: Hijau
b. Tua		: Kuning
Warna Hilum		: Coklat
Bentuk Daun		: Oval
Bentuk Biji		: Agak Bulat
Tipe Tumbuh		: Determinit
Umur Berbunga		: 23 – 25 hst
Umur Produksi		
a. Segar		: 63 – 68 hst
b. Benih/Kering		: 87 – 95 hst
Tinggi Tanaman		: 45 – 55 cm
Bobot 100 biji		: 35.4 g
Kandungan Protein		
a. Polong muda – matang		: 11.58
b. Polong Tua/Kering		: 37.97
Kandungan Lemak		
a. Polong muda – matang		: 10.57
b. Polong Tua/Kering		: 22.35
Bentuk Polong		: Lekukan antar biji kelihatan
Jumlah Cabang		: 3 – 4 buah
Aroma Polong		: Biasa
Jumlah Bunga Perpon		: 40 – 50

*Committed To Quality*

Jl. Brawijaya 83 Mangli, Jember 68136 Jawa Timur - Indonesia  
Telp. 62-331-422222, 488881, 489457 Fax. 62-331-489456

## Lampiran 3.2 Etik penelitian



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
KOMISI ETIK PENELITIAN  
Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember 68121 – Email :  
fk\_unej@telkom.net

---

**KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK**  
*ETHICAL APPROVA*  
Nomor : 1.189 /H25.1.11/KE/2017

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

*The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :*

**EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL BIJI EDAMAMR (*Glycine max L. Merrill*) TERHADAP KADAR HIDROKSIPROLIN PADA PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DERAJAT II**

Nama Peneliti Utama : Fa'izah Ramadhani Sudarko.  
*Name of the principal investigator*

NIM : 142010101056

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember  
*Name of institution*

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.  
*And approved the above mentioned proposal.*

Jember, 06 November 2017  
Ketua Komisi Etik Penelitian  
dr. Rini Riyanti, Sp.PK



**Tanggapan Anggota Komisi Etik**

(Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lainnya)

*Review Proposal* :

1. Pemilihan, perawatan, perlakuan, pengorbanan dan pemusnahan hewan coba mengacu pada buku pedoman etik penelitian kesehatan ( Penggunaan hewan coba dengan prinsip 3R : *Reduced, Reused, Redefined*)
2. Mohon diperhatikan kontrol kualitas pembuatan ekstrak etanol biji edamame agar didapatkan kadar yang diinginkan.
3. Perlakuan pembuatan luka bakar derajat 2 dilakukan oleh orang yang terampil (dilakukan secara cepat dan tepat agar tidak melukai hewan coba).
4. Mohon diperhatikan oleh peneliti, kemungkinan infeksi yang terjadi, yang dapat menjadi bias pada penelitian ini.
5. Mohon diperhatikan kalibrasi alat dan kontrol kualitas reagen pada pemeriksaan kadar Hidroksiprolin.
6. Mohon diperhatikan pembuangan limbah medis dan limbah B3 agar tidak mencemari lingkungan.



Jember, 30 Oktober 2017  
*Reviewer*

dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed

## Lampiran 4.1 Ekstraksi edamame

### EKSTRAKSI

#### a. Proses Ekstraksi

Biji edamame seberat 7,8 kg dikupas, dicuci bersih dengan air mengalir, diangin-anginkan sampai kadar air berkurang selama 3 hari, dan dihaluskan dengan mesin penggiling (blender) hingga terbentuk serbuk sebanyak 1,2 kg dan serbuk edamame yang digunakan dalam proses ekstraksi sebanyak 730 gram. Pembuatan ekstrak biji edamame dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% (1:10). Selama proses pembuatan, hasil campuran didiamkan selama 3x24 jam dan diaduk sesekali. Setelah itu, dilakukan penyaringan untuk memisahkan filtrat dan residu. Kemudian, filtrat yang terkumpul diuapkan pada suhu 50 °C menggunakan *rotary evaporator* sehingga akan didapat ekstrak kental biji edamame.

#### b. Jumlah Pelarut

Pelarut etanol 96% (1:10) yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 7300 mL.

#### c. Hasil Ekstraksi

Dari hasil ekstraksi didapatkan ekstrak kental biji edamame sebanyak 98,7 gram.

Mengetahui

Analisis Lab Biologi Farmasi

Dosen Pembimbing Tugas Akhir

  
( Parkha Agnita )

  
dr. Ika Rahmawati S., M. Biotech

**Lampiran 4.2 Pelarutan ekstrak edamame dalam Na-CMC 0,5%**

Cara melarutkan ekstrak etanol biji edamame dalam Na-CMC 0,5% menggunakan rumus pengenceran sebagai berikut.

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

Keterangan:

$M_1$  : konsentrasi sebelum pengenceran

$V_1$  : volume sebelum pengenceran

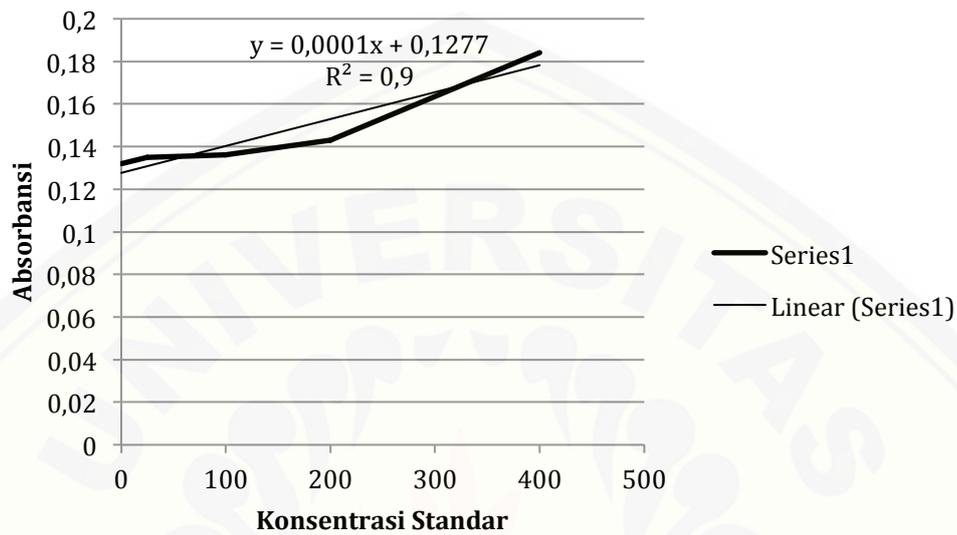
$M_2$  : konsentrasi sesudah pengenceran

$V_2$  : volume sesudah pengenceran

Pengenceran ekstrak etanol biji edamame dilakukan dengan menambahkan Na-CMC 0,5% sesuai dengan rumus di atas dan konsentrasi yang telah ditentukan, sehingga diperoleh jumlah larutan sebagai berikut.

- a. Konsentrasi 20% : 2 mL ekstrak etanol biji edamame dilarutkan dengan 8 mL Na CMC 0,5%.
- b. Konsentrasi 40% : 4 mL ekstrak etanol biji edamame dilarutkan dengan 6 mL Na CMC 0,5%.
- c. Konsentrasi 60% : 6 mL ekstrak etanol biji edamame dilarutkan dengan 4 mL Na CMC 0,5%.
- d. Konsentrasi 80% : 8 mL ekstrak etanol biji edamame dilarutkan dengan 2 mL Na CMC 0,5%.

## Lampiran 4.3 Kurva standar hidroksiprolin

**Kurva Standar Hidroksiprolin**

Persamaan kurva:

$$y = 0,0001x + 0,1277$$

Keterangan: y = nilai absorbansi sampel  
x = konsentrasi hidroksiprolin sampel ( $\mu\text{g/mL}$ )

**Lampiran 4.4 Data kadar hidroksiprolin**

Kelompok	Absorbansi	Kadar Hidroksiprolin ( $\mu\text{g}/100\text{ mg}$ )	Rata-rata ( $\mu\text{g}/100\text{ mg}$ )
K+	0,242	1143	970,5
	0,282	1543	
	0,201	733	
	0,174	463	
K-	0,274	1463	2193
	0,279	1513	
	0,348	2203	
	0,487	3593	
P1	0,506	3783	3210,5
	0,454	3263	
	0,414	2863	
	0,421	2933	
P2	0,243	1153	1708
	0,4	2723	
	0,228	1003	
	0,323	1953	
P3	0,221	933	1820,5
	0,371	2433	
	0,366	2383	
	0,281	1533	
P4	0,154	263	648
	0,168	403	
	0,215	873	
	0,233	1053	

## Lampiran 4.5 Hasil analisis statistik

	Perlakuan	Kadar_Hidroksiprolin
1	1	3783
2	1	3263
3	1	2863
4	1	2933
5	2	1153
6	2	2723
7	2	1003
8	2	1953
9	3	933
10	3	2433
11	3	2383
12	3	1533
13	4	263
14	4	403
15	4	873
16	4	1053
17	5	1143
18	5	1543
19	5	733
20	5	463
21	6	1463
22	6	1513
23	6	2203
24	6	3593

## Explore

[DataSet4] F:\spss\Kadar HDP data\_1.sav

## Perlakuan

## Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Kadar_Hidroksiprolin	Perlakuan 1	4	100,0%	0	0,0%	4	100,0%
	Perlakuan 2	4	100,0%	0	0,0%	4	100,0%

Perlakuan 3	4	100,0%	0	0,0%	4	100,0%
Perlakuan 4	4	100,0%	0	0,0%	4	100,0%
Kontrol Positif	4	100,0%	0	0,0%	4	100,0%
Kontrol Negatif	4	100,0%	0	0,0%	4	100,0%

**Descriptives**

Perlakuan		Statistic	Std. Error		
Kadar_Hidroksiprolin	Perlakuan 1	Mean	3210,50	209,816	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	2542,77	
			Upper Bound	3878,23	
		5% Trimmed Mean	3198,00		
		Median	3098,00		
		Variance	176091,667		
		Std. Deviation	419,633		
		Minimum	2863		
		Maximum	3783		
		Range	920		
		Interquartile Range	773		
		Skewness	1,123	1,014	
		Kurtosis	,254	2,619	
			Perlakuan 2	Mean	1708,00
95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound			443,24	
	Upper Bound			2972,76	
5% Trimmed Mean	1690,78				
Median	1553,00				
Variance	631766,667				
Std. Deviation	794,838				
Minimum	1003				
Maximum	2723				
Range	1720				
Interquartile Range	1490				
Skewness	,716			1,014	
Kurtosis	-1,750			2,619	
	Perlakuan 3			Mean	1820,50
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	672,36	
			Upper Bound	2968,64	
		5% Trimmed Mean	1835,78		
		Median	1958,00		
		Variance	520625,000		
		Std. Deviation	721,543		
		Minimum	933		
		Maximum	2433		
		Range	1500		
		Interquartile Range	1338		
		Skewness	-,559	1,014	

Perlakuan 4	Kurtosis		-2,824	2,619	
	Mean		648,00	187,728	
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound		50,57	
		Upper Bound		1245,43	
	5% Trimmed Mean		646,89		
	Median		638,00		
	Variance		140966,667		
	Std. Deviation		375,455		
	Minimum		263		
	Maximum		1053		
	Range		790		
	Interquartile Range		710		
	Skewness		,076	1,014	
Kurtosis		-4,267	2,619		
Kontrol Positif	Mean		970,50	236,551	
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound		217,69	
		Upper Bound		1723,31	
	5% Trimmed Mean		966,89		
	Median		938,00		
	Variance		223825,000		
	Std. Deviation		473,101		
	Minimum		463		
	Maximum		1543		
	Range		1080		
	Interquartile Range		913		
	Skewness		,306	1,014	
	Kurtosis		-1,668	2,619	
Kontrol Negatif	Mean		2193,00	496,269	
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound		613,65	
		Upper Bound		3772,35	
	5% Trimmed Mean		2155,78		
	Median		1858,00		
	Variance		985133,333		
	Std. Deviation		992,539		
	Minimum		1463		
	Maximum		3593		
	Range		2130		
	Interquartile Range		1770		
	Skewness		1,391	1,014	
	Kurtosis		1,405	2,619	

**Tests of Normality**

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar_Hidroksiprolin Perlakuan 1	.246	4	.	.894	4	.401
Perlakuan 2	.257	4	.	.913	4	.496
Perlakuan 3	.282	4	.	.880	4	.338
Perlakuan 4	.243	4	.	.912	4	.494
Kontrol Positif	.192	4	.	.978	4	.891
Kontrol Negatif	.253	4	.	.843	4	.205

a. Lilliefors Significance Correction

```
ONEWAY Kadar_Hidroksiprolin BY Perlakuan
/STATISTICS HOMOGENEITY
/MISSING ANALYSIS
/POSTHOC=LSD ALPHA(0.05).
```

**Oneway**

**Test of Homogeneity of Variances**

Kadar\_Hidroksiprolin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.254	5	18	.326

**ANOVA**

Kadar\_Hidroksiprolin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16630570.833	5	3326114.167	7.451	.001
Within Groups	8035225.000	18	446401.389		
Total	24665795.833	23			

**Post Hoc Tests**

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Kadar\_Hidroksiprolin

LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound

Perlakuan 1	Perlakuan 2	1502.500*	472.441	.005	509.94	2495.06
	Perlakuan 3	1390.000*	472.441	.009	397.44	2382.56
	Perlakuan 4	2562.500*	472.441	.000	1569.94	3555.06
	Kontrol Positif	2240.000*	472.441	.000	1247.44	3232.56
	Kontrol Negatif	1017.500*	472.441	.045	24.94	2010.06
Perlakuan 2	Perlakuan 1	-1502.500*	472.441	.005	-2495.06	-509.94
	Perlakuan 3	-112.500	472.441	.814	-1105.06	880.06
	Perlakuan 4	1060.000*	472.441	.038	67.44	2052.56
	Kontrol Positif	737.500	472.441	.136	-255.06	1730.06
	Kontrol Negatif	-485.000	472.441	.318	-1477.56	507.56
Perlakuan 3	Perlakuan 1	-1390.000*	472.441	.009	-2382.56	-397.44
	Perlakuan 2	112.500	472.441	.814	-880.06	1105.06
	Perlakuan 4	1172.500*	472.441	.023	179.94	2165.06
	Kontrol Positif	850.000	472.441	.089	-142.56	1842.56
	Kontrol Negatif	-372.500	472.441	.441	-1365.06	620.06
Perlakuan 4	Perlakuan 1	-2562.500*	472.441	.000	-3555.06	-1569.94
	Perlakuan 2	-1060.000*	472.441	.038	-2052.56	-67.44
	Perlakuan 3	-1172.500*	472.441	.023	-2165.06	-179.94
	Kontrol Positif	-322.500	472.441	.504	-1315.06	670.06
	Kontrol Negatif	-1545.000*	472.441	.004	-2537.56	-552.44
Kontrol Positif	Perlakuan 1	-2240.000*	472.441	.000	-3232.56	-1247.44
	Perlakuan 2	-737.500	472.441	.136	-1730.06	255.06
	Perlakuan 3	-850.000	472.441	.089	-1842.56	142.56
	Perlakuan 4	322.500	472.441	.504	-670.06	1315.06
	Kontrol Negatif	-1222.500*	472.441	.019	-2215.06	-229.94
Kontrol Negatif	Perlakuan 1	-1017.500*	472.441	.045	-2010.06	-24.94
	Perlakuan 2	485.000	472.441	.318	-507.56	1477.56
	Perlakuan 3	372.500	472.441	.441	-620.06	1365.06
	Perlakuan 4	1545.000*	472.441	.004	552.44	2537.56
	Kontrol Positif	1222.500*	472.441	.019	229.94	2215.06

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

	Dosis_Ekstrak	Kadar_Hidroksiprolin
1	20	3783
2	20	3263
3	20	2863
4	20	2933
5	40	1153
6	40	2723
7	40	1003
8	40	1953
9	60	933
10	60	2433
11	60	2383
12	60	1533
13	80	263
14	80	403
15	80	873
16	80	1053

## Correlations

Correlations

		Dosis_Ekstrak	Kadar_Hidroksi prolin
Dosis_Ekstrak	Pearson Correlation	1	-.806**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	16	16
Kadar_Hidroksiprolin	Pearson Correlation	-.806**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	16	16

\*\* . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

\* Curve Estimation.

TSET NEWVAR=NONE.

CURVEFIT

/VARIABLES=Kadar\_Hidroksiprolin WITH Dosis\_Ekstrak

/CONSTANT

/MODEL=LINEAR LOGARITHMIC INVERSE QUADRATIC CUBIC COMPOUND POWER

S GROWTH EXPONENTIAL LGSTIC

/PLOT FIT.

### Curve Fit

#### Model Description

Model Name		MOD_1
Dependent Variable	1	Kadar_Hidroksiprolin
Equation	1	Linear
	2	Logarithmic
	3	Inverse
	4	Quadratic
	5	Cubic
	6	Compound <sup>a</sup>
	7	Power <sup>a</sup>
	8	S <sup>a</sup>
	9	Growth <sup>a</sup>
	10	Exponential <sup>a</sup>
	11	Logistic <sup>a</sup>
Independent Variable		Dosis_Ekstrak
Constant		Included
Variable Whose Values Label Observations in Plots		Unspecified
Tolerance for Entering Terms in Equations		.0001

a. The model requires all non-missing values to be positive.

#### Case Processing Summary

	N
Total Cases	16
Excluded Cases <sup>a</sup>	0
Forecasted Cases	0
Newly Created Cases	0

a. Cases with a missing value in any variable are excluded from the analysis.

#### Variable Processing Summary

	Variables		
	Dependent	Independent	
	Kadar_Hidroksi prolin	Dosis_Ekstrak	
Number of Positive Values	16	16	
Number of Zeros	0	0	
Number of Negative Values	0	0	
Number of Missing Values			
	User-Missing	0	0
	System-Missing	0	0

**Model Summary and Parameter Estimates**

Dependent Variable: Kadar Hidroksiprolin

Equation	Model Summary					Parameter Estimates			
	R Square	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	.649	25.917	1	14	.000	3740.500	-37.875		
Logarithmic	.666	27.969	1	14	.000	8093.282	-1648.055		
Inverse	.650	25.977	1	14	.000	329.923	58246.154		
Quadratic	.655	12.364	2	13	.001	4153.000	-58.500	.206	
Cubic	.751	12.038	3	12	.001	9228.000	-462.083	9.269	-.060
Compound	.601	21.111	1	14	.000	5356.965	.975		
Power	.554	17.391	1	14	.001	82762.944	-1.062		
S	.490	13.437	1	14	.003	6.367	35.742		
Growth	.601	21.111	1	14	.000	8.586	-.026		
Exponential	.601	21.111	1	14	.000	5356.965	-.026		
Logistic	.601	21.111	1	14	.000	.000	1.026		

The independent variable is Dosis\_Ekstrak.

```
* Curve Estimation.
TSET NEWVAR=NONE.
CURVEFIT
/VARIABLES=Kadar_Hidroksiprolin WITH Dosis_Ekstrak
/CONSTANT
/MODEL=LOGARITHMIC
/PLOT FIT.
```

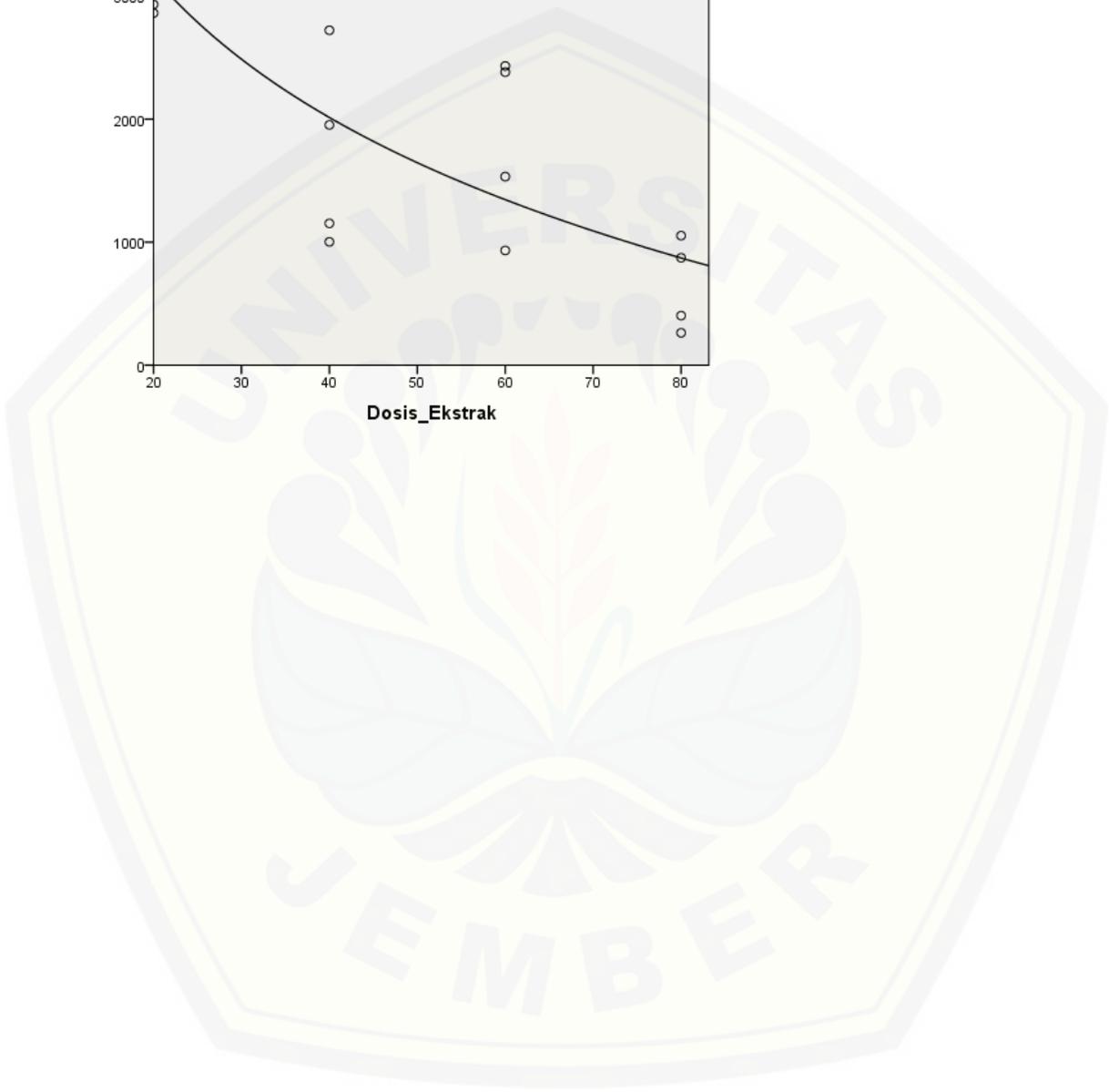
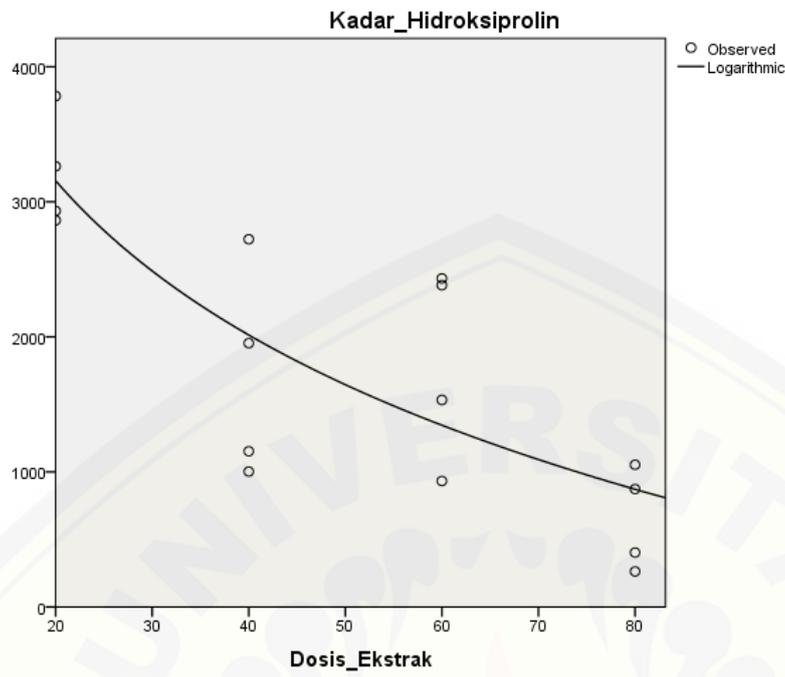
**Curve Fit**

**Model Summary and Parameter Estimates**

Dependent Variable: Kadar Hidroksiprolin

Equation	Model Summary					Parameter Estimates	
	R Square	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1
Logarithmic	.666	27.969	1	14	.000	8093.282	-1648.055

The independent variable is Dosis\_Ekstrak.



Lampiran 4.6 Dokumentasi penelitian



Serbuk edamame



Pelarutan edamame dengan Na-CMC 0,5%



Adaptasi hewan coba



Luka bakar hari pertama



Perawatan luka



Luka bakar pada hari ke 16



Terminasi



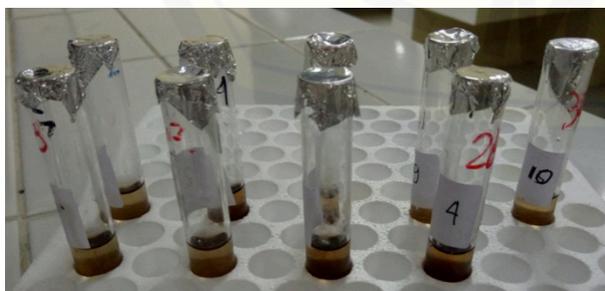
Pengambilan Kulit



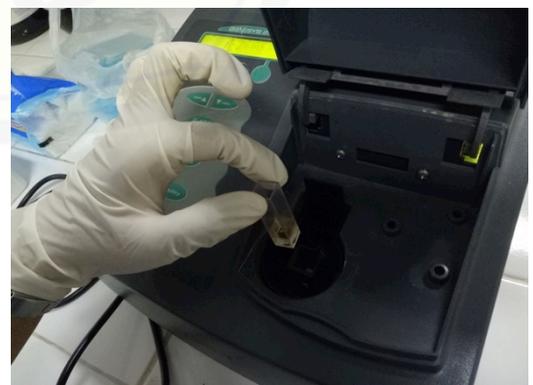
Pengeringan kulit selama 12 jam suhu 60 °C



Setelah proses hidrolisis dengan HCl selama 4 jam suhu 130 °C



Sampel setelah ditambahkan Chloramin T, buffer sitrat, HClO<sub>4</sub>, dan ehrlich, serta diinkubasi



Pembacaan absorbansi