



**PERBANDINGAN JUMLAH MAKROFAG PADA LUKA
INSISI *FULL THICKNESS* ANTARA PEMBERIAN
EKSTRAK UMBI BIDARA UPAS (*Merremia
mammosa* (Lour)) DENGAN NaCl PADA
TIKUS WISTAR JANTAN
HIPERGLKEMI**

SKRIPSI

Oleh

Fajar Kurniawan H

NIM 112010101008

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS JEMBER

2015



**PERBANDINGAN JUMLAH MAKROFAG PADA LUKA
INSISI *FULL THICKNESS* ANTARA PEMBERIAN
EKSTRAK UMBI BIDARA UPAS (*Merremia
mammosa* (Lour)) DENGAN NaCl PADA
TIKUS WISTAR JANTAN
HIPERGLKEMI**

SKRIPSI

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

Oleh

Fajar Kurniawan H

NIM 112010101008

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS JEMBER

2015

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT dengan seluruh ketentuan-Nya yang membuat saya tidak bisa berhenti mengucapkan syukur;
2. Ayahanda Ahmari, Ibunda Sri Suhartini dan adik saya M. Luthfi yang senantiasa memberikan doa, bimbingan, dukungan, kasih sayang tiada henti, serta pengorbanan yang tak terhingga sampai titik ini. Senyum dan kebahagiaan mereka adalah hal terbesar yang ingin saya perjuangkan;
3. Guru-guruku yang telah memberiku ilmu dan bimbingan dengan penuh kesabaran untuk menjadikanku manusia yang berilmu dan bertakwa;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTTO

“Hiduplah seperti pohon kayu yang lebat buahnya, hidup di tepi jalan dan dilempari orang dengan batu, tetapi dibalas dengan buah”.

-Abu Bakar Sibli-



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fajar Kurniawan H

NIM : 112010101008

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Perbandingan Jumlah Makrofag Pada Luka Insisi *Full Thickness* Antara Pemberian Eksrak Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour)) Dengan NaCl Pada Tikus Wistar Jantan Hiperglikemi” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 8 April 2015

Yang menyatakan,

Fajar Kurniawan H

NIM 112010101008

SKRIPSI

**PERBANDINGAN JUMLAH MAKROFAG PADA LUKA
INSISI *FULL THICKNESS* ANTARA PEMBERIAN
EKSTRAK UMBI BIDARA UPAS (*Merremia
mammosa* (Lour)) DENGAN NaCl PADA
TIKUS WISTAR JANTAN
HIPERGLKEMI**

Oleh

Fajar Kurniawan H

112010101008

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : dr. Ulfa Elfiah, M.Kes., Sp.BP-RE

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Kristianningrum Dian Sofiana

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Perbandingan Jumlah Makrofag Pada Luka Insisi *Full Thickness* Antara Pemberian Eksrak Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour)) Dengan NaCl Pada Tikus Wistar Jantan Hiperglikemi” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : Rabu, 8 April 2015

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji

Dosen Penguji I

dr. Ali Santosa, Sp. PD
NIP. 19590904 198701 1001

Dosen Penguji II

dr. Rena Normasari, M. Biomed
NIP. 19830512 200812 2002

Dosen Penguji III

dr. Ulfa Elfiah., M. Kes., Sp. BP-RE
NIP. 19760719 200112 2001

Dosen Penguji IV

dr. Kristianningrum Dian Sofiana
NIP. 19860906 201212 2001

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Jember

dr. Enny Suswati, M.Kes
NIP. 19700214 199903 2 001

RINGKASAN

Perbandingan Jumlah Makrofag Pada Luka Insisi *Full Thickness* Antara Pemberian Ekstrak Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour)) Dengan NaCl Pada Tikus Wistar Jantan Hiperglikemi; Fajar Kurniawan H, 112010101008; 2015;60halaman; Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Diabetes melitus (DM) merupakan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang ditandai dengan naiknya glukosa dalam darah (hiperglikemia) akibat sekresi insulin yang kurang, aksi insulin menurun, atau keduanya. Beberapa tanda yang menunjukkan hiperglikemi antara lain poli uri, poli dipsi, dan poli fagi (Burrant, 2006).

Komplikasi DM dapat diklasifikasikan menjadi mikrovaskular dan makrovaskular. Komplikasi mikrovaskular meliputi neuropati, nefropati, dan retinopati. Komplikasi makrovaskular meliputi kardiovaskular, strok, dan PVD (*Peripheral Vascular Disease*). PVD dapat menyebabkan luka sukar sembuh, gangren, dan amputasi (Deshpande *et. al*, 2008). Besarnya biaya yang dikeluarkan, resiko amputasi yang tinggi dan sulitnya penanganan luka diabetik, dirasakan perlu untuk dicari obat alternatif yang berasal dari tanaman. Tanaman obat asli Indonesia yang diduga dapat digunakan sebagai penyembuhan luka adalah bidara upas. Tanaman dari suku convolvuraceae ini dapat digunakan sebagai anti radang, analgesik, mengobati gigitan ular, kanker, kusta, syphilis, tifus, difteri dan kencing manis (Redaksi Agromedia, 2008)

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour)) terhadap jumlah makrofag pada tikus wistar jantan hiperglikemi. Penelitian *true experimental laboratories* ini dilaksanakan di laboratorium biokimia dan biologi Fakultas Farmasi, laboratorium anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan laboratorium Patologi Anatomi RSD dr.

Soebandi Jember. Rancangan penelitian adalah *post test only control group design*. Sampel penelitian menggunakan tikus galur wistar dengan berat \pm 200-250 gram, berusia 2-3 bulan. Jumlah kelompok penelitian ada 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol (+) yang diberikan salep gentamycin 5%, kelompok kontrol (-) yang diberikan NaCl dan kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak umbi bidara upas dengan dosis 100, 200 dan 400 mg. Pada hari ke 21 dilakukan terminasi dan dibuat preparat histopatologi, lalu dibaca per 5 lapang pandang jumlah makrofag dilihat secara mikroskopis. Hasil pengamatan yang diperoleh diuji statistik menggunakan Shapiro-Wilk untuk menguji normalitas data, jika distribusi normal maka data diuji menggunakan *one way Anova* dilanjutkan uji *post Hoc* metode LSD sedangkan jika distribusi tidak normal maka data diuji menggunakan *Kruskal-Walil*s dilanjutkan uji *post Hoc* metode *Man Whitney*.

Hasil analisis data dengan uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan hasil $p= 0,729$ dimana hasil tersebut berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan, tetapi melihat dari analisis deskriptif bahwa ekstrak umbi bidara upas berefek terhadap penyembuhan luka dilihat dari banyaknya jumlah makrofag jika dibandingkan dengan kontrol negatif (-) namun jumlahnya masih dibawah dari kontrol positif (+). Kesimpulan pada penelitian ini adalah ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour)) tidak mempunyai perbedaan yang signifikan pada proses penyembuhan luka insisi *full thickness*.

PRAKATA

Syukur Alhamdulillah saya panjatkan kehadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat, hidayah serta karunia-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Perbandingan Jumlah Makrofag Pada Luka Insisi *Full Thickness* Antara Pemberian Eksrak Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour)) Dengan NaCl Pada Tikus Wistar Jantan Hiperglikemi”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat penyelesaian pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini saya menyampaikan terima kasih yang mendalam kepada:

1. dr.Enny Suswati, M. Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Ulfa Elfiah, M.Kes., Sp. BP-RE selaku Dosen Pembimbing Utama serta dr. Kristianningrum Dian Sofiana, selaku Dosen Pembimbing Kedua, atas arahan, bimbingan, dukungan, dan waktunya selama penyusunan skripsi ini;
3. dr. Ali Santosa, Sp.PD dan dr. Rena Normasari, M. Biomed selaku Dosen Penguji atas saran dan bimbingan hingga terselesainya skripsi ini;
4. dr.Sugiyanta, M.Kes, selaku Koordinator Tugas Akhir/Skripsi, atas bimbingan guna terselesainya skripsi ini;
5. Seluruh staf Laboratorium Biomedik Farmasi Universitas Jember Mbak Indri, Mbak Dini, staf Laboratorium Patologi Anatomi RSUD dr. Soebandi dan staf Laboratorium Histologi/PA/Parasitologi FKG Universitas Jember Mbak Wahyu;
6. Kedua Orang Tua, Ahmari dan Sri Suhartini atas jerih payah, do'a, kasih sayang, dan dukungan yang tiada lelah dan henti;
7. Adikku tersayang M. Luthfi terimakasih telah memberiku semangat dan kegembiraan selama ini;
8. Saudaraku TBM Vertex Fakultas Kedokteran Universitas Jember
9. Sahabat penelitian I Gede Prima Julianto, sahabat ceria Dimas N. Fauzi, s.ked, M. Izat Fuadi, s.ked;

10. Teman-teman seperjuangan Cardio 2011, atas segala bantuan dan kerjasamanya selama menuntut ilmu semoga kita semua menjadi dokter-dokter sukses;
 11. Almamater tercinta Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
 12. Seluruh pihak yang telah banyak membantu memberikan bantuan dan dorongan semangat yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu.
- Terimakasih sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Semoga Allah SWT selalu memberikan hidayah dan rahmat kepada semua pihak yang telah membantu dengan ikhlas sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan memberikan pengetahuan bagi yang membacanya.

Jember, 8 April 2015

Penulis

DAFTAR ISI

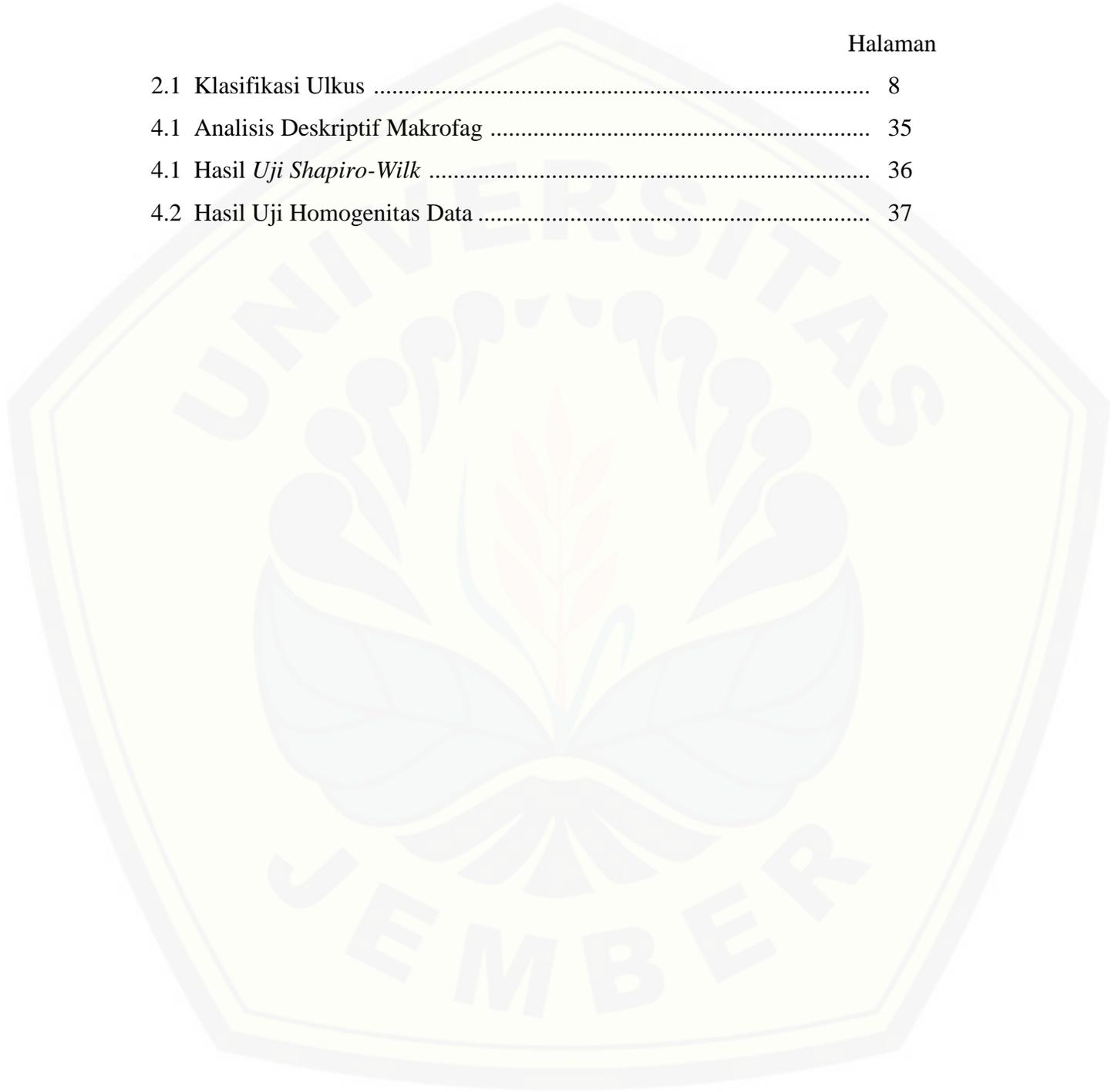
	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBING	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Diabetes Melitus	5
2.1.1 Definisi dan Patogenesis	5
2.1.2 Epidemiologi	6
2.1.3 Tanda dan Gejala.....	6
2.2 Ukus Diabetik	6
2.2.1 Definisi	6
2.2.2 Klasifikasi.....	7

2.2.3 Epidemiologi	8
2.2.4 Tanda dan Gejala.....	8
2.2.5 Patofisiologi	9
2.3 Mekanisme Penyembuhan Luka	10
2.4 Makrofag	12
2.5 Diabetogenik	14
2.6 Bidara Upas	17
2.6.1 Deskripsi.....	17
2.6.2 Klasifikasi.....	17
2.6.3 Asal dan Habitat	18
2.6.4 Kandungan	18
2.7 Ekstraksi	19
2.8 Kerangka Konseptual Penelitian	20
2.9 Hipotesis Penelitian.....	21
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	22
3.1 Jenis Penelitian	22
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	22
3.3 Populasi dan Sampel.....	22
3.3.1 Populasi	22
3.3.2 Sampel.....	22
3.3.3 Penentuan Jumlah Sampel.....	23
3.4 Variabel Penelitian	24
3.3.1 Variabel Bebas	24
3.3.2 Variabel Terikat	24
3.3.3 Variabel Terkendali	24
3.5 Definisi Operasional.....	24
3.6 Alat dan Bahan Penelitian	26
3.6.1 Alat Penelitian	26
3.6.2 Bahan Penelitian	26

3.7 Prosedur Penelitian	26
3.7.1 Pembuatan Ekstrak.....	26
3.7.2 Perlakuan Terhadap Hewan Coba.....	27
3.8 Analisis Data	29
3.9 Alur Penelitian	30
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1 Hasil Penelitian	31
4.1.1 Makrofag	33
4.3 Pembahasan	37
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	40
5.1 Kesimpulan	40
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	46

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Klasifikasi Ulkus	8
4.1 Analisis Deskriptif Makrofag	35
4.1 Hasil <i>Uji Shapiro-Wilk</i>	36
4.2 Hasil Uji Homogenitas Data	37



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Fase Penyembuhan Luka.....	12
2.2 Makrofag.....	14
2.3 Aloksan	15
2.4 Bidara Upas	17
2.5 Kerangka Konseptual	20
3.1 Prosedur Penelitian	28
3.2 Alur Penelitian	30
4.1 Kulit Tikus Normal dan Luka Insisi, Pemberian Ekstrak Pada Hari ke 3 dan 5	32
4.2 Makrofag pada mikroskop 400x	33
4.3 Gambaran HistoPA Kulit Tikus K (-), Dosis 100,200,400 dan K (+) .	34
4.4 Grafik Jumlah Rata-rata Makrofag	36

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Hasil Pembacaan Makrofag	46
B. Hasil Analisis Data	47
B.1 Uji Normalitas Data	47
B.2 Uji Homogenitas	47
B.3 Uji <i>Kruskal-Wallis</i>	47
B.4 Uji <i>Man-Whitney</i>	48
C. Dokumentasi Penelitian.....	54
D. Perijinan Komisi Etik.....	59

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) merupakan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang ditandai dengan naiknya kadar glukosa dalam darah (hiperglikemia) akibat sekresi insulin yang kurang, aksi insulin menurun, atau keduanya. Beberapa tanda yang menunjukkan hiperglikemia, (Burrant. 2006).

Prevalensi DM di seluruh dunia diperkirakan sebesar 2,8% dan akan meningkat menjadi 4,4% di tahun 2030. Hal ini berarti terdapat 171 juta jiwa yang menderita DM di tahun 2000 dan akan terus meningkat hingga mencapai 366 juta jiwa di tahun 2030. Di Indonesia, diperkirakan terdapat 21,3 juta jiwa penderita DM di tahun 2030 (ADA, 2004). Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2007, menyatakan bahwa prevalensi DM sebesar 5,7% (Kemkes, 2009).

Komplikasi DM dapat diklasifikasikan menjadi mikrovaskular dan makrovaskular. Komplikasi mikrovaskular meliputi neuropati, nefropati, dan retinopati. Komplikasi makrovaskular meliputi kardiovaskular, stroke, dan PVD (*Peripheral Vascular Disease*). PVD dapat menyebabkan luka sukar sembuh, gangren, dan amputasi (Deshpande *et al*, 2008). Berdasarkan data Rekam Medik RSD dr. Soebandi Jember, jumlah kunjungan pasien DM di Poli Interna RSD dr. Soebandi Jember pada tahun 2012 sebanyak 4300 jiwa (Yuanita, *et al*, 2012).

Ulkus diabetik merupakan luka yang terjadi pada pasien DM dimana luka yang terjadi dapat mencapai lapisan dermis kulit (Alexiadou dan Doupis, 2012). Pasien yang menderita DM memiliki tingkat risiko terjadinya ulkus yang lebih besar dibandingkan pada pasien normal. Sebanyak 5,8% pasien DM kemudian mengalami ulkus diabetik. Dari jumlah tersebut, sebanyak 15,3% menjadi osteomielitis dan 11,2% harus menjalani amputasi. Biaya yang diperlukan untuk pengobatan ulkus diabetik juga lebih

besar 30.000-40.000 US Dollar jika dibandingkan pasien DM tanpa ulkus diabetik (Ramsey *et al*, 1999).

Prevalensi penderita ulkus diabetik di Amerika Serikat sebesar 15-20%, risiko amputasi 15-46 kali lebih tinggi dibandingkan dengan penderita non DM. Penderita ulkus diabetika di Amerika Serikat memerlukan biaya yang tinggi untuk perawatan yang diperkirakan antara \$10.000 - \$12.000 per tahun untuk seorang penderita. Sedangkan prevalensi penderita ulkus diabetik di Indonesia sekitar 15%, angka amputasi 30%, angka mortalitas 32% dan ulkus diabetika merupakan sebab perawatan rumah sakit yang terbanyak sebesar 80% untuk diabetes melitus. Penderita ulkus diabetika di Indonesia memerlukan biaya yang tinggi sebesar 1,3 juta sampai Rp. 1,6 juta perbulan dan Rp. 43,5 juta per tahun untuk seorang penderita (Rini, 2008).

Besarnya biaya yang dikeluarkan, resiko reamputasi yang tinggi dan sulitnya penanganan luka diabetik, dirasakan perlu untuk dicari obat yang berasal dari tanaman. Tanaman obat asli Indonesia yang diduga dapat digunakan sebagai penyembuh luka yaitu bidara upas. Bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour)) termasuk tanaman obat asal Indonesia yang dapat ditemukan di Taman Nasional Meru Betiri. Tanaman dari suku Convolvuraceae ini dapat digunakan sebagai anti radang, analgesik, penyembuh luka, mengobati gigitan ular, kanker, kusta, syphilis, tifus, difteri, peradangan dan kencing manis (Redaksi Agromedia, 2008). Umbi bidara upas mengandung polisakarida, flavonoid dan senyawa resin glikosida seperti merremosida A, E, J, *mammosa* yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri dengan cara membuat lubang pada membran (Pereda *et al.*, 2010; Budzikiewicz *et.al.*,2010).

Penelitian yang telah dilakukan pada bidara upas diantaranya, ekstrak umbi bidara upas mampu menghambat pertumbuhan berbagai bakteri patogen baik seperti *Microbacterium tuberculosis*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* (Agil *et al.*, 2011; Sugijanto, *et al.*, 2012; Mazni, 2008). Tanaman lainnya yang semarga dengan Bidara upas yaitu *Merremia tridentata* telah terbukti memiliki aktivitas sebagai penyembuh luka (Hattapaki *et al.*, 2004), anti diabetes melitus, antihiperlipidemia

(Arunachalam and Parimelazhagan, 2012), antioksidan dan antiinflamasi (Bidkar et al., 2009). Dengan pendekatan kemotaksonomi yaitu tanaman dalam satu famili atau marga kemungkinan memiliki senyawa dan khasiat yang hampir sama dan penggunaan empiris dari bidara upas sehingga perlu dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh umbi bidara upas terhadap luka tikus model diabetes (tikus hiperglikemi).

Penelitian umbi bidara upas sebagai obat topikal luka diabetik masih belum banyak di Indonesia. Sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek umbi bidara upas terhadap penyembuhan luka diabetik. Dengan tersedianya produk alam di Indonesia yang dapat dimanfaatkan dan meningkatnya insidensi luka diabetik di Indonesia maka dilakukan penelitian untuk mengetahui perbandingan jumlah makrofag pada luka insisi *full thickness* antara pemberian ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa*(Lour)) dengan NaCl pada tikus jantan hiperglikemi.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah :

Bagaimana pengaruh perbandingan jumlah makrofag pada luka insisi (*full thickness*) antara pemberian topikal ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour)) dengan NaCl pada tikus jantan hiperglikemi.

1.3 Tujuan

Membandingkan jumlah makrofag antara pemberian ekstrak umbi bidara upas dengan NaCl pada tikus jantan hiperglikemi.

1.4 Manfaat

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini antara lain :

a. Bagi Masyarakat

Masyarakat diharapkan mengetahui manfaat umbi bidara upas terhadap proses penyembuhan luka pada diabetes melitus.

b. Bagi Pelayanan Kesehatan

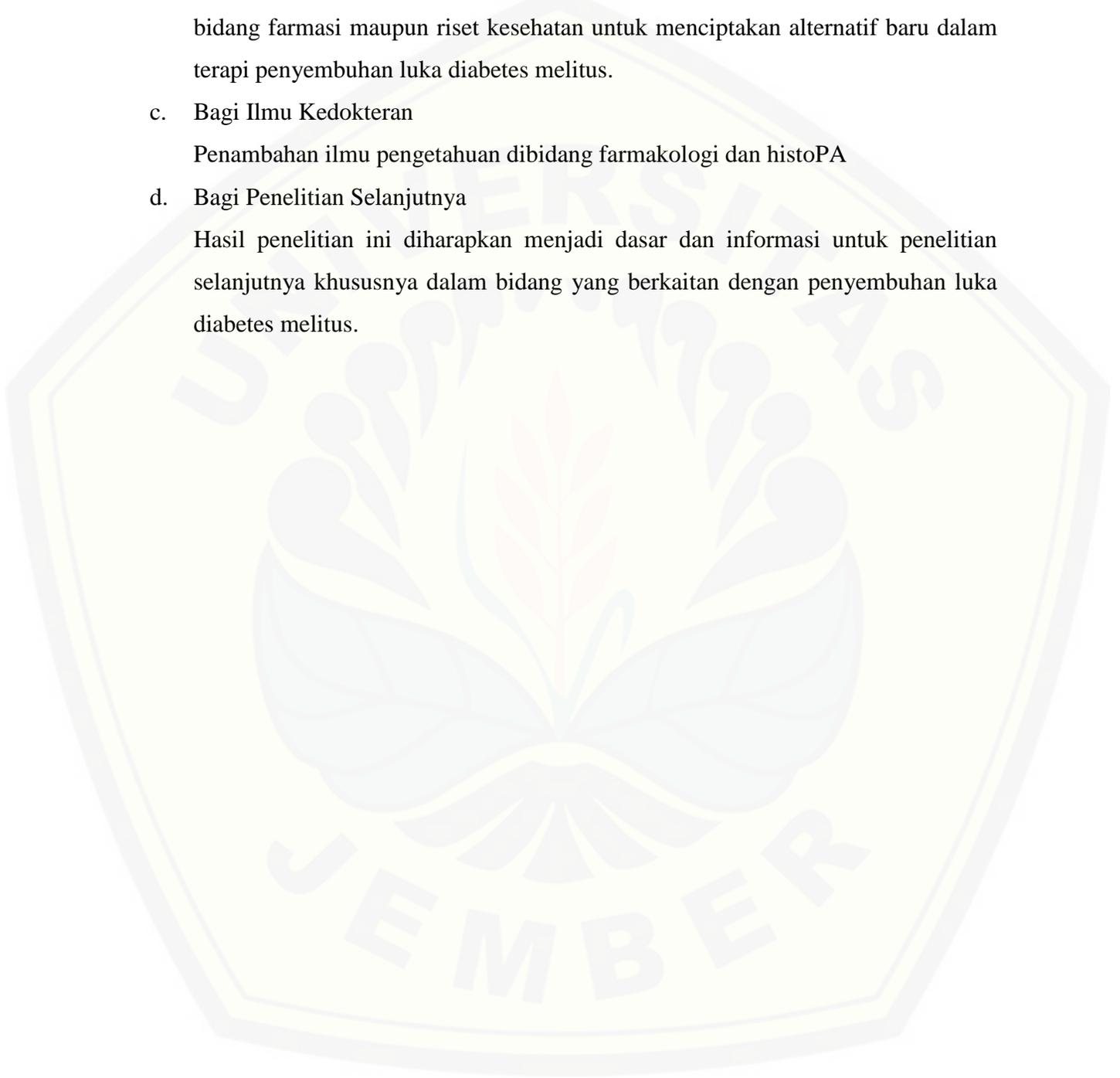
Dapat dijadikan dasar pengembangan tanaman obat di Indonesia baik dalam bidang farmasi maupun riset kesehatan untuk menciptakan alternatif baru dalam terapi penyembuhan luka diabetes melitus.

c. Bagi Ilmu Kedokteran

Penambahan ilmu pengetahuan dibidang farmakologi dan histoPA

d. Bagi Penelitian Selanjutnya

Hasil penelitian ini diharapkan menjadi dasar dan informasi untuk penelitian selanjutnya khususnya dalam bidang yang berkaitan dengan penyembuhan luka diabetes melitus.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Melitus

2.1.1 Definisi dan Patogenesis

Terdapat beberapa patogenesis DM yang telah diketahui hingga saat ini. Pertama, adanya kelainan pada sistem imun tubuh sehingga imun justru menyerang sel β pankreas. Kerusakan pada sel β pankreas ini menyebabkan penurunan jumlah insulin yang dihasilkan. Penurunan jumlah insulin yang dihasilkan kemudian mengakibatkan adanya kekurangan sehingga metabolisme dari karbohidrat, protein, dan lemak menjadi tidak sempurna. Pada tingkat kerusakan sel β yang lebih parah insulin tidak dihasilkan, akibatnya metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak tidak berlangsung. Kedua kondisi inilah yang kemudian memicu terjadinya hiperglikemia yang dapat berlanjut pada diabetes (Burrant, 2006). Hiperglikemi menurut PERKENI (Perkumpulan Endokrinologi Indonesia) pada tahun 2006, seseorang dikatakan menderita diabetes jika memiliki kadar gula darah puasa >126 mg/dL dan pada waktu 2 jam selepas makan (postprandial) >200 mg/dL.

Patogenesis yang kedua adalah insulin yang dihasilkan lebih sedikit daripada yang dibutuhkan. Hal ini mengakibatkan metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak menjadi terganggu yang dapat memicu hiperglikemia. Patogenesis yang ketiga adalah menurunnya aksi insulin. Pada patogenesis ini jumlah insulin yang disekresikan dapat memenuhi kebutuhan, namun reseptor insulin berkurang sensitivitasnya. Kondisi ini menyebabkan tidak terjadinya metabolisme glukosa darah sehingga terjadi hiperglikemia. Kondisi hiperglikemia ini kemudian dapat berkembang menjadi diabetes. Patogenesis kedua dan ketiga sering terjadi secara bersamaan dan sulit untuk dibedakan manakah yang lebih dahulu menjadi penyebab diabetes seseorang (Burrant, 2006).

2.1.2 Epidemiologi

Pada tahun 2000 WHO memperkirakan sekitar 171 orang di dunia menderita DM atau sekitar 2,8% dari seluruh jumlah populasi. Insidensinya terus meningkat dan diperkirakan pada tahun 2030 sekitar 366 atau 4,4% penduduk di dunia mengalami DM dari jumlah total populasi. Peningkatan prevalensi terbesar ada di Asia dan Afrika. Di Indonesia, berdasarkan dari hasil Riskesdas (2007) dari 24417 responden > 15 tahun, 10,2% mengalami gangguan toleransi glukosa (kadar glukosa 140-200 mg/dl setelah puasa selama 4 jam).

2.1.3 Tanda dan Gejala

1. Gejala akut pada penderita DM dari penderita satu ke penderita lain sangat bervariasi bahkan terkadang tidak menunjukkan gejala apapun sampai saat tertentu. Pada permulaan gejala yang ditunjukkan adalah triad yaitu : (poliphagi) banyak makan, (polidipsia) banyak minum, (poliuri) banyak kencing (fauci,2009).
2. Gejala kronik pada DM atau yang tidak terkontrol pada jangka waktu yang lama akan menyebabkan kerusakan pembuluh darah dan saraf. Beberapa gejala kronik dari DM adalah penurunan fungsi seksual, stroke, kebutaan, serangan penyakit jantung koroner, gangren dan ulkus (Dunning,2009).

2.2 Ulkus Diabetik

2.2.1 Definisi

Menurut Sanders (2011), ulkus diabetik adalah luka yang berhubungan dengan neuropati atau penyakit arteri periferal pada pasien diabetes. Sedangkan menurut Alexiadou dan Doupis (2012), ulkus diabetik merupakan suatu kondisi dimana luka tidak dapat sembuh baik luka dalam maupun tidak yang terjadi pada seseorang yang menderita diabetes. Dan menurut Stone dan Sieggreen (2012), ulkus diabetik adalah luka dalam yang terjadi hingga menembus epidermis dan terjadi pada pasien diabetes.

Dapat disimpulkan bahwa ulkus diabetik adalah luka yang terjadi pada seseorang yang menderita diabetes dimana luka ini dalam hingga menembus lapisan dermis kulit.

2.6.2 Klasifikasi

Sistem klasifikasi luka sangat diperlukan dalam menentukan terapi yang diberikan kepada pasien. Hingga sekarang terdapat bermacam-macam sistem klasifikasi luka yang dikenal. Banyaknya variasi sistem klasifikasi luka ini disebabkan oleh adanya perbedaan dalam penentuan karakteristik luka yang meliputi tempat luka, kedalaman luka, adanya neuropati, infeksi, iskemia, dan lain-lain. Dari seluruh sistem klasifikasi luka yang diperkenalkan, terdapat dua sistem klasifikasi luka yang digunakan secara luas (Oyibo *et al*, 2001).

Pertama, sistem klasifikasi luka Wagner. Sistem klasifikasi ini didasarkan pada kedalaman ulkus dan adanya osteomyelitis atau gangren. Klasifikasi dibuat dalam enam tingkat. Tingkat 0, adanya luka sebelum atau sesudah terjadinya ulkus. Tingkat 1, ulkus yang terbentuk cukup dalam baik di sebagian maupun seluruh bagian ulkus. Tingkat 2, ulkus mencapai tendon. Tingkat 3, ulkus yang terbentuk dalam disertai osteitis. Tingkat 4, gangren parsial. Tingkat 5, gangren menyeluruh (Oyibo *et al*, 2001).

Kedua, sistem klasifikasi luka diabetes Universitas Texas (UT). Sistem klasifikasi ini lebih baru jika dibandingkan dengan sistem klasifikasi luka Wagner. Sistem klasifikasi UT didasarkan pada kedalaman ulkus, adanya infeksi, dan adanya tanda-tanda iskemia pada kaki. Sistem ini menggunakan matriks, tingkat luka sebagai sumbu x dan tahapan luka sebagai sumbu y. Tingkat luka dalam sistem ini dibagi menjadi empat, yaitu tingkat 0 (adanya ulkus yang sudah atau belum sembuh), tingkat 1 (luka superfisial yang tidak mencapai tendon atau tulang), tingkat 2 (kedalaman luka mencapai tendon), dan tingkat 3 (kedalaman luka mencapai tulang atau sendi). Sedangkan untuk tahapan luka dibagi menjadi empat, yaitu tahap A (luka bersih), tahap B (luka dengan infeksi tanpa iskemia), tahap C (luka dengan iskemia tanpa infeksi), dan tahap D (luka dengan iskemia dan infeksi) (Oyibo *et al*, 2001).

Beberapa cara dapat digunakan untuk mengklasifikasi derajat ulkus diabetik. Berikut merupakan klasifikasi ulkus diabetik menurut *university of texas diabetic foot classification* (2000) dalam Hess (2002).

Tabel 2.1 klasifikasi ulkus diabetik

STAGE	GRADE 0	GRADE 1	GRADE 2	GRADE 3
A	Sebelum atau sesudah terjadi ulseratif pada luka yang beresiko	Luka superfisial tidak mengenai tendon, kapsula, atau tulang	Luka mengenai tendon atau kapsula	Luka mengenai tulang
B	Terdapat infeksi	Terdapat infeksi	Terdapat infeksi	Terdapat infeksi
C	Terdapat iskemi	Terdapat iskemi	Terdapat iskemi	Terdapat iskemi
D	Terdapat infeksi dan iskemi	Terdapat infeksi dan iskemi	Terdapat infeksi dan iskemi	Terdapat infeksi dan iskemi

(university of texas diabetic foot classification, 2000)

2.6.3 Epidemiologi

Studi yang dilakukan di Inggris menunjukkan 5,3% dari pasien diabetes tipe 2 mengalami ulkus diabetik dan 7,4% pada pasien diabetes tipe 1. Studi lainnya di USA menunjukkan bahwa sebanyak 5,8% pasien diabetes selama 3 tahun mengalami ulkus diabetes. Dan studi acak yang dilakukan di Swedia menunjukkan prevalensi diabetes sebesar 3,6%, sedangkan di Belanda sebesar 2,1% (Jeffcoate dan Harding, 2003).

2.6.4 Tanda dan Gejala

Ulkus diabetik dapat disebabkan oleh beberapa hal, antara lain neuropati, PVD, trauma, dan infeksi. Beberapa tanda dan gejala yang menunjukkan terjadinya ulkus diabetik adalah berkurangnya atau hilangnya sensitivitas terhadap rangsang. Hal ini menyebabkan ketidaknyamanan sehingga dapat mengakibatkan trauma. Tanda lainnya

adalah terjadinya dehidrasi kulit sehingga kulit menjadi kering. Kulit yang kering ini mudah pecah hingga terjadi luka (Khanolkar *et al*, 2008).

2.6.5 Patofisiologi untuk Tujuan Pengobatan

Patofisiologi merupakan ilmu yang mempelajari tentang perubahan fisiologis yang terjadi akibat kondisi patologis. Adapun patofisiologi dari ulkus diabetik meliputi (Jeffcoate dan Harding, 2003) :

a. Neuropati.

Neuropati merupakan kematian sel-sel saraf, akibat dari neuropati adalah hilangnya rasa sakit. Hal ini dapat membuat pasien tidak menyadari jika telah terjadi luka. Mekanisme neuropati dalam proses terjadinya ulkus adalah dengan pembentukan kalus (penebalan kulit) terutama pada daerah-daerah yang mendapat tekanan lebih besar. Setelah terbentuk kalus, terjadi iskemia yang menyebabkan kematian jaringan. Hal ini memicu keretakan kalus sehingga terbentuk luka hingga mencapai jaringan subkutan.

b. Iskemia.

Iskemia terjadi akibat adanya gangguan makrovaskular, seperti aterosklerosis maupun gangguan mikrovaskular. Tanda-tanda dari jaringan yang mengalami iskemia adalah merah, kering, dan tebal. Iskemia dapat menyebabkan kematian jaringan dan memperpanjang waktu penyembuhan luka.

c. Infeksi.

Infeksi dapat menghambat proses penyembuhan luka. Terhambatnya proses penyembuhan ini jika berlangsung terus menerus akan menyebabkan berkembangnya luka akut menjadi luka kronis sehingga terbentuk ulkus.

d. Trauma.

Pasien diabetes yang sebelumnya pernah mengalami luka atau ulkus, memiliki kemungkinan yang lebih besar untuk mengalami kembali ulkus diabetik dibandingkan dengan pasien yang tidak pernah mengalami ulkus.

e. Tekanan.

Pada penderita diabetes terdapat beberapa daerah yang mengalami tekanan lebih besar, misalnya pada daerah metatarsal kaki. Adanya beban yang berlebih ini dapat memicu terjadinya ulkus.

f. Perawatan luka yang buruk

2.3 Mekanisme Penyembuhan Luka

Tahap pertama adalah hemostasis. Tahap ini dimulai seketika saat terjadi luka. Keping darah akan berusaha menjaga hemostasis tubuh dengan cara saling berikatan satu dengan yang lain untuk menutupi luka sehingga aliran darah terhenti. Keping darah juga melepaskan faktor pembekuan yang akan membentuk benang-benang fibrin. Benang-benang fibrin akan memperkuat proses penutupan luka. Selain melepaskan faktor pembekuan, keping darah juga melepaskan sinyal kimiawi yang dikenal dengan sitokin atau faktor pertumbuhan yang menginisiasi proses penyembuhan luka. Sinyal kimiawi yang terpenting yaitu, *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF) dan *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β). PDGF akan menginisiasi neutrofil, makrofag, sel otot polos, dan fibroblas menuju area luka. Kehadiran neutrofil pada area luka menandai bahwa proses penyembuhan luka memasuki tahap selanjutnya, yaitu tahap inflamasi (Diegelmann dan Evans, 2004).

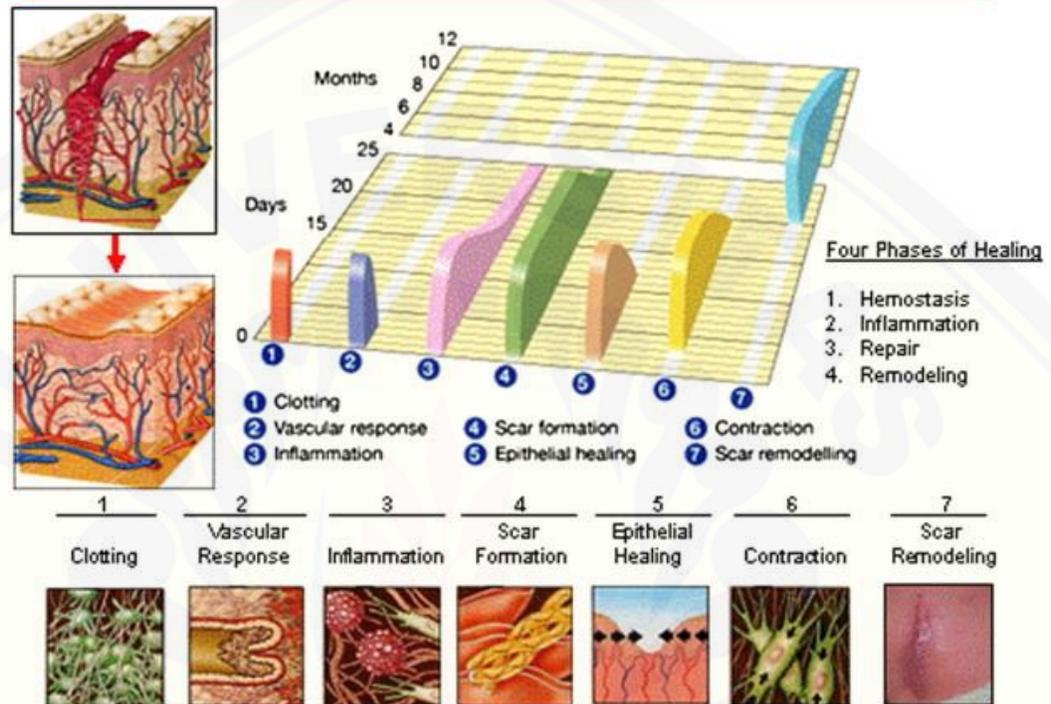
Tahap kedua adalah inflamasi. Pada tahap ini neutrofil memasuki area luka dan membersihkannya dari benda asing, bakteri, dan sel mati melalui proses fagositosis. Sel mast melepaskan granul yang berisi enzim, histamin, dan amina aktif lainnya. Mediator-mediator inilah yang memicu terjadinya reaksi inflamasi. Monosit kemudian diaktivasi menjadi makrofag yang akan memfagositosis sel mati, neutrofil berisi bakteri, benda asing, dan bakteri yang ada pada area luka. Aktivasi makrofag juga menyebabkan dilepaskannya PDGF dan TGF- β . Kedua senyawa ini menyebabkan fibroblas dan sel otot polos menuju ke area luka. Adanya makrofag merupakan tanda bahwa tahap inflamasi segera berakhir dan berlanjut pada tahap proliferasi (Diegelmann dan Evans, 2004).

Tahap ketiga adalah proliferasi. Pada tahap ini TGF- β yang dilepaskan oleh platelet, makrofag, dan limfosit T akan mengatur fungsi fibroblas dan penumpukan matriks ekstraselular. TGF- β akan meningkatkan produksi kolagen, proteoglikan, dan fibronektin serta mengurangi sekresi protease dan meningkatkan inhibitor protease. Setelah jaringan epitel terbentuk dengan sempurna, maka akan dilepaskan enzim yang berfungsi untuk mengeliminasi keropeng yang telah terbentuk (Diegelmann dan Evans, 2004).

Adanya peningkatan aktivitas metabolisme pada area luka menyebabkan kebutuhan oksigen dan nutrisi juga meningkat. Sebagai bentuk kompensasinya maka dibentuklah pembuluh darah baru. Proses ini dikenal dengan istilah angiogenesis atau neovaskularisasi. Angiogenesis membutuhkan suasana asam, sedikit oksigen, dan peningkatan asam laktat. Tidak terpenuhinya kondisi-kondisi tersebut akan menghambat proses angiogenesis yang dapat mengakibatkan proses penyembuhan luka menjadi lebih lama. Jalannya proses ini diatur oleh *Vascular Endothelial cell Growth Factor* (VEGF) yang dihasilkan oleh sel epidermal, fibroblas, makrofag, dan sel endotel pembuluh. Setelah pembuluh darah baru terbentuk, kadar oksigen akan kembali normal dan oksigen akan berikatan dengan *Hypoxia-Inducible Factor* (HIF) sehingga aktivitas HIF terhambat dan sintesis VEGF menurun (Diegelmann dan Evans, 2004).

Tahap keempat adalah remodeling. Tahap ini diperankan oleh fibroblas. Fibroblas pada luka berfungsi sebagai penghasil matriks baru yang akan mengganti matriks lama yang telah rusak sehingga struktur dan fungsi jaringan kembali normal. Proses ini dimulai dengan diproduksi kolagen setelah fibroblas berikatan dengan benang fibrin. Serat kolagen baru yang terbentuk memiliki ukuran lebih kecil dan lebih lemah jika dibandingkan serat kolagen pada jaringan normal. Daya elastisitasnya diperkirakan hanya mencapai 80% dari daya elastisitas jaringan normal. Proses akhir dari tahap remodeling adalah degradasi kolagen. Fibroblas, netrofil, dan makrofag akan mengeluarkan enzim kolagenase untuk mendegradasi kolagen. Fragmen-fragmen

kolagen yang terbentuk dari proses degradasi kolagen akan mengalami denaturasi dan penghancuran oleh enzim protease lainnya (Diegelmann dan Evans, 2004).



Gambar 2.1 Fase Penyembuhan Luka (Clarck Richard, 2015)

2.4 Makrofag

Makrofag adalah sel darah putih produk diferensiasi monosit. Makrofag merupakan sel dominan pada hari kedua fase inflamasi menggantikan peran sel *polymorpho nuclear*. Protein sekretori yang dilepaskan platelet bersifat kemoatraktan terhadap monosit darah untuk menginvasi daerah luka dan berdiferensiasi menjadi makrofag. Makrofag berdiameter 21 μm dan bersifat fagositik. Makrofag berfungsi dalam kekebalan tubuh. Selain bersifat fagositik terhadap debris dan patogen, makrofag juga berperan dalam proses penyembuhan luka. Makrofag menghasilkan zat bioaktif yang bersifat kemoatraktan terhadap makrofag lain, *growth factor* untuk proliferasi sel dan sintesis protein dan protease

molekul matriks ekstraseluler (Koh. Tj, DiPietro 2011). Zat yang dihasilkan makrofag bersifat kemoatraktan terhadap sel yang berperan pada fase proliferasi penyembuhan luka seperti fibroblas. Makrofag dirangsang oleh hipoksia jaringan untuk memacu angiogenesis. Makrofag merupakan sel utama dalam proses penyembuhan luka yang mendorong fase inflamasi memasuki fase proliferasi (Falanga, 2004). Pada pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin* di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x menggunakan pengukur *graticule*, makrofag berbentuk ireguler dan berwarna kebiruan dengan granul hasil fagositosis berwarna kecoklatan sebagai pigmen eksogen di dalam sitoplasma makrofag (Kiernan, 2008)

Menurut fungsinya makrofag dibagi menjadi dua, pertama sebagai fagosit profesional dan kedua sebagai APC (*Antigen Presenting Cell*) yang berfungsi menyajikan antigen kepada limfosit. Makrofag sebagai fagosit profesional, sel ini dapat menghancurkan antigen dalam fagolisosom, dan juga melepaskan berbagai enzim dan isi granular ke luar sel bersama-sama dengan sitokin seperti *tumor necrosis factor* (TNF) yang dapat membunuh organisme patogen.

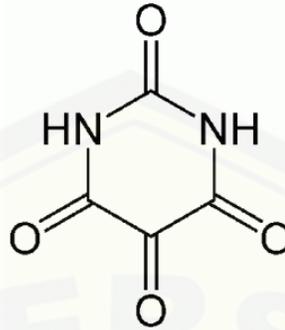
Pada proses penyembuhan luka makrofag yang diaktifkan menginduksi perbaikan jaringan dengan mensekresi *growth factor*. PDGF (*Platelet Derived Growth Factor*) berfungsi dalam fibroblas, TGF- β berperan dalam menyintesis kolagen dan *Fibroblast Growth Factors* yang akan meningkatkan angiogenesis. Beberapa *growth factors* ini akan menghilangkan antigen dan menghentikan proses inflamasi (Baratawidjaja dan Rengganis, 2010).



Gambar 2.2 Makrofag (Mescher, Al: Junqueira's Basic Histologi: Text and Atlas 12th edition)

2.5 Diabetogen

Aloksan merupakan bahan kimia yang sering digunakan dalam penelitian sebagai agen diabetogenik. Nama kimia dari aloksan adalah 2,4,5,6-Tetraoxypyrimidine; 2,4,5,6-pyrimidinetetrone. Struktur kimianya dapat di lihat pada Gambar 2.4. Aloksan merupakan senyawa yang bersifat hidrofilik dan stabil pada pH asam (Lenzen, 2008). Aloksan dapat bersifat sebagai agen diabetogenik jika diberikan melalui rute parenteral (intravena, intraperitoneal, dan subkutan). Dosis yang diperlukan dalam pemberian secara intravena sekitar 65 mg/kg BB dan dosis secara intraperitoneal di atas 150 mg/kg BB (Szkudelski, 2001).



Gambar 2.3 Struktur kima aloksan (Lenzen, 2008)

Terdapat 4 fase terjadinya diabetes yang diinduksi oleh aloksan. Pertama, fase hipoglikemia sementara, tahap ini terjadi pada 30 menit setelah pemberian aloksan. Hipoglikemia sementara ini terjadi karena adanya peningkatan sekresi insulin. Mekanisme yang mendasari adalah pemakaian insulin untuk sementara waktu dikurangi dan peningkatan ketersediaan ATP yang disebabkan oleh penghambatan fosforilasi glukosa melalui inhibisi glukokinase (Lenzen, 2008).

Kedua, fase hiperglikemia pertama, pada fase ini terjadi peningkatan konsentrasi glukosa dan penurunan insulin. Fase ini dimulai 1 jam setelah pemberian aloksan. Hiperglikemia mulai terjadi pada 2-4 jam setelah pemberian. Hiperglikemia ini terjadi disebabkan adanya penghambatan sekresi insulin yang menyebabkan hipoinsulinemia. Selama fase ini morfologi sel β yang tampak adalah vakuolisasi intraseluler, pembesaran retikulum endoplasma kasar, pengecilan area golgi, pengurangan granula sekretori insulin, dan pembengkakan mitokondria (Lenzen, 2008).

Ketiga, fase hipoglikemia, fase ini terjadi setelah 4-8 jam pemberian aloksan. Pada fase ini dapat terjadi kejang dan dapat berakibat fatal jika tanpa pemberian glukosa. Hipoglikemia ini diakibatkan oleh meningkatnya insulin secara drastis akibat pecahnya membran sel. Perubahan ini bersifat ireversibel. Fase keempat adalah fase hiperglikemia permanen. Secara morfologi tampak bahwa sel β telah

rusak. Hal ini tampak pada jam ke-12 hingga 48 setelah pemberian aloksan (Lenzen, 2008).

Mekanisme aksi aloksan sebagai agen diabetogenik melalui beberapa proses, yaitu oksidasi gugus $-SH$, inhibisi glukokinase, pembentukan radikal bebas, dan ketidakseimbangan homeostasis kalsium intraseluler. Aloksan berikatan dengan dua gugus $-SH$ pada glukokinase sehingga terbentuk ikatan disulfida dan inaktivasi enzim. Aloksan yang tereduksi akan berubah menjadi asam dialurat yang kemudian teroksidasi kembali menjadi aloksan sehingga terbentuk radikal superoksida. Radikal superoksida mampu membebaskan ion Fe dari feritin dan mereduksinya menjadi ion Fe. Ion Fe^{3+} juga dapat direduksi oleh radikal aloksan. Selain itu, radikal superoksida juga dapat berubah menjadi hidrogen peroksida. Adanya Fe^{2+} dan hidrogen peroksida akan membentuk radikal hidroksil melalui reaksi Fenton. Radikal hidroksil memiliki sifat sangat reaktif. Salah satu target dari *reactive oxygen spesies* (ROS) adalah DNA pankreas. Kerusakan DNA ini memicu poli ADP-ribosilasi, suatu tahap pada proses perbaikan DNA (Szkudelski, 2001).

Aloksan juga dapat mengganggu keseimbangan homeostasis kalsium di dalam sel. Proses gangguan ini melalui beberapa tahap, yaitu influk kalsium dari ekstraseluler yang diinduksi oleh adanya aloksan, mobilisasi kalsium secara besar-besaran dari peyimpanan intraseluler, dan eliminasi yang terbatas dari dalam plasma. Influk kalsium terjadi dikarenakan oleh adanya kemampuan aloksan untuk mendepolarisasi sel β pankreas. Depolarisasi membran sel menyebabkan terbukanya *calcium channel* dan akan meningkatkan jumlah kalsium dalam sel. Jumlah ion yang berlebih ini menyebabkan sekresi insulin yang berlebih dan bersama dengan ROS akan menyebabkan kerusakan sel β pankreas (Szkudelski, 2001).

2.6 Bidara upas

2.6.1 Deskripsi

Bidara upas termasuk tumbuhan menjalar dengan panjang 3-6 m, umbinya terkumpul di dalam tanah (Gambar 2.1). Helai daun berbentuk perisai dengan ujung daun lancip, pangkal daun berbentuk jantung atau bundar. Bunga berbentuk payung menggarpu 1-4 bunga, mahkota bunga berwarna putih, panjang 7-8 cm. Perbungaan berbentuk payung menggarpu berkumpul 1-4 bunga, dengan 4 helai kelopak. Umbi berkumpul di dalam tanah, mirip ubi jalar. Bila tanahnya kering dan tidak tergenang air serta gembur, beratnya dapat mencapai 5 kg atau lebih. Warna kulit umbinya kuning kecoklatan, kulitnya tebal bergetah warna putih, bila kering warnanya menjadi coklat. Perbanyakkan dengan stek batang atau menanam umbinya.

2.6.2 Klasifikasi

Klasifikasi dari tumbuhan bidara upas adalah (Plantamor, 2012) :

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)



Gambar 2.4 Bidara Upas

Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)

Kelas : Dicotyledonae (Berkeping dua)

Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Sub Kelas : Asteridae
Ordo : Solanales
Famili : Convolvulaceae (Suku kangkung-kangkungan)
Genus : *Merremia*
Spesies : *Merremia mammosa* (Lour.) Hall. F.

2.6.3 Asal dan Habitat

Tumbuh liar di hutan, kadang di tanam di halaman dekat pagar sebagai tanaman obat atau karena umbinya dapat dimakan. Tumbuh dengan baik di daerah tropik dari dataran rendah sampai ketinggian 250 m dpl. Tanaman ini mungkin didatangkan dari Filipina (www.farmasiugm.ac.id).

2.6.4 Kandungan

Sifat Kimia dan Efek Farmakologis : Anti radang, menghilangkan sakit (analgetik), menghilangkan bengkak, pencahar (laxative), menetralkan racun (antidot), penyejuk. Kandungan kimia pada umbi bidara upas diantaranya damar, resin, pati, flavanoid dan zat pahit, terdapat pula getah segar yang mengandung zat oxydase (Anonim, 2005). Zat tersebut dapat mengobati demam, batuk, difteri, radang tenggorokan, radang paru, radang usus buntu, typhus, sembelit, muntah darah, kencing manis. Keracunan akibat gigitan ular, kusta, sypilis (Luns).

Dalam umbi bidara upas juga terkandung senyawa anti oksidan yaitu flavanoid yang memiliki bermacam efek, antara lain sebagai imunostimulan. Dalam pengobatan tradisional, *Merremia mammosa* sering dijadikan terapi kanker karena memiliki zat oksidase pada getah terutama getah yang segar (Anonim, 2005). Selain itu *Merremia mammosa* dapat mengobati demam, batuk, tifoid, radang tenggorokan, radang paru, sembelit dan kencing manis.

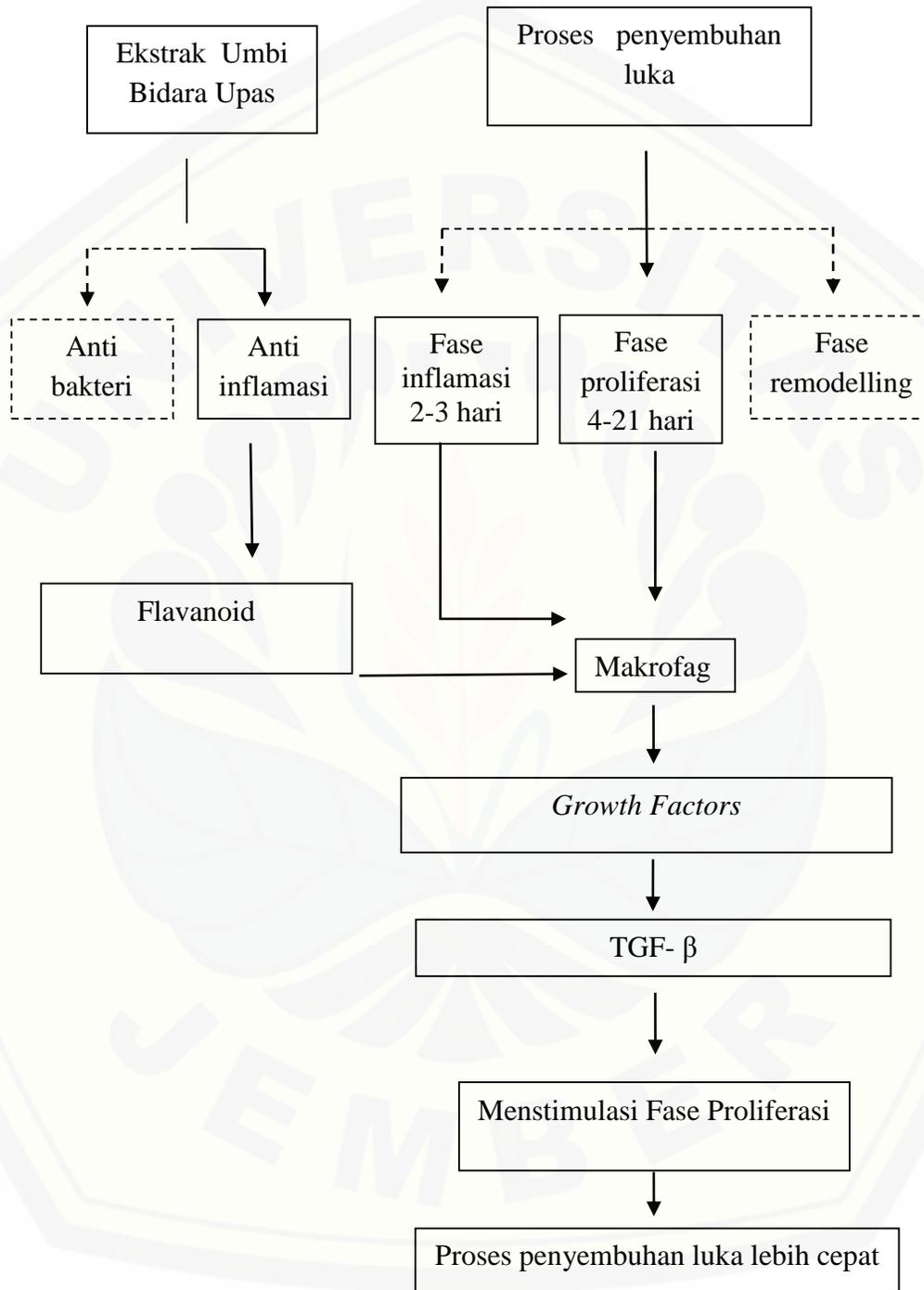
2.7 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dalam pelarut cair. Siplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain-lain (Depkes RI, 2000). Pelarut yang sering digunakan dalam proses ekstraksi adalah air dan etanol (Ningsih *et al.*, 2009)

Ekstrak merupakan sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Tujuan pembuatan ekstrak tumbuhan obat adalah untuk menstandarisasi kandungannya sehingga menjamin keseragaman mutu, keamanan dan khasiat produk akhir (BPOM, 2005).

Pada penelitiann ini, metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi. Menurut Depkes RI (2000), maserasi dalah proses penyarian simplisia dengan cara perendaman menggunakan pelarut dengan sesekali pengadukan pada temperatur kamar. Keuntungan cara penyarian dengan metode ini adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah dilakukan. Sedangkan kerugiannya adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Ningsih *et al.*, 2009).

2.8 Kerangka Konseptual



Gambar 2:5 Kerangka konseptual

Keterangan :  = Alur yang diteliti
 = Bukan alur yang diteliti
 = Punya hubungan dengan yang diteliti
 = Tidak punya hubungan dengan yang diteliti

Penyembuhan luka terdiri dari 3 fase, inflamasi, proliferasi dan maturasi (remodelling). Setelah terjadi luka platelet akan teragregasi sehingga terjadi hemostatis. Platelet ini mensekresi berbagai mediator inflamasi sehingga memicu proses inflamasi. Pada fase inflamasi ini makrofag akan menuju ke daerah luka 48-72 jam pasca cedera. Makrofag ini bekerja dalam memfagositosis bakteri dan debris pada luka. Selain itu makrofag mengeluarkan *growth factors* yang menstimulus terjadinya fase proliferasi dengan memicu pembentukan fibroblas dan angiogenesis (Hidayat, 2013).

Ekstrak umbi bidara upas yang mengandung polifenol (flavanoid) berfungsi sebagai antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, dan antidiabetik (Redaksi agromedia, 2008). Kandungan flavonoid juga telah banyak diteliti sebagai anti inflamasi.

2.9 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah terdapat perbedaan jumlah makrofag antara pemberian ekstrak umbi bidara upas dengan NaCl

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah *true experimental laboratories*, dengan *post test design*. Kemudian membandingkan hasil intervensi (perlakuan) dengan kelompok eksperimen yang tidak diberikan perlakuan. Perlakuan pemberian ekstrak umbi bidara upas.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di tempat pemeliharaan dan perlakuan hewan coba, yaitu Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember dan untuk pembuatan ekstrak bidara upas dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Pembuatan sediaan histopatologi di laboratorium Patologi Anatomi RSD. dr. Soebandi. Pengamatan dilakukan di laboratorium Histologi Patologi Anatomi FKG Universitas Jember. Pelaksanaan penelitian ini selama 21 hari.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi yang digunakan adalah tikus galur Wistar dengan ± 40 tikus (perjumlahan tikus yang diberi perlakuan hidup sampai terminasi dan jumlah tikus yang mati saat awal atau pertengahan waktu penelitian).

3.3.2 Sampel

Sampel penelitian diperoleh dari populasi dengan cara pengambilan sampel secara *simple random sampling* kriteria inklusi dan eksklusi. (Farizal, 2012)

Kriteria Inklusi:

1. Jenis kelamin jantan
2. Usia 2-3 bulan

3. Berat badan sebelum perlakuan 200 – 250 gr
4. Gula darah tikus ≥ 200 mg/dl
5. Tidak ada kelainan anatomis
6. Sehat dan aktif selama masa adaptasi
7. Ditempatkan dalam kandang yang sama

Kriteria Eksklusi:

1. Tikus sakit selama masa adaptasi (gerakan tidak aktif)
2. Tikus infeksi (terdapat pus pada luka)
3. Tikus mati selama perlakuan berlangsung (*droop out*)

3.3.3 Penentuan Jumlah Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus galur *Wistar*, jenis kelamin jantan, berat 230-300 gram, usia 3-4 bulan. Pemilihan sampel dilakukan dengan cara *simple random sampling*, kemudian dibagi menjadi 5 kelompok. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan rumus Federrer : $\{(p-1)(n-1)\} \geq 15$ (Hanafiah, 2001).

Keterangan :

n : jumlah sampel

p : jumlah perlakuan

jika, $p = 5$

$$\text{maka, } \{(5-1)(n-1)\} \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$n \geq 5$$

Jadi jumlah sampel minimal yang digunakan untuk tiap perlakuan sebanyak 5 ekor. Pada penelitian ini digunakan 25 ekor tikus dimana tiap kelompok kontrol dan perlakuan masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus.

3.4 Variable Penelitian

3.4.1 Variable Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah pemberian ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour)) pada sampel.

3.4.2 Variable Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah jumlah makrofag yang dilihat secara mikroskopik setelah diberikan ekstra umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour)) dan NaCl.

3.4.3 Variable Terkendali

Variable terkendali adalah : jenis kelamin tikus (jantan), jenis tikus (Wistar), berat badan tikus (200-250 gram), usia tikus (2-3 bulan), pemeliharaan tikus (pakan standart dan kebersihan kandang).

3.5 Definisi Operasional

1. Ekstrak *Merremia mammosa* adalah ekstrak yang diperoleh dari tanaman bidara upas (*Merremia mammosa*), secara fisik ekstrak bidara upas adalah mirip gel. Pemberian ekstrak *Merremia mammosa* secara topikal dengan dosis bertingkat, penentuan dosis ini mengacu pada penelitian sebelumnya pada *Journal Wound Healing Merremia tridentata* yang mengatakan bahwa dosis efektif untuk anti-inflamasi adalah 100mg dan untuk anti-atritis adalah 200mg dan dosis 400mg diberikan sebagai dosis pembanding, diberikan tiap hari selama 20 hari (Kamaluthen, 2009). Dosis yang digunakan berdasarkan dosis yang telah dikonversi dari kisaran dosis ekstrak *Merremia mammosa* untuk tikus.
2. Dilakukan penghitungan kadar gula darah tikus untuk menentukan kadar glukosa darah menggunakan gluco test, tikus sebelumnya dipuasakan 12 jam. Tikus dengan kadar gula ≥ 200 mg/dl akan mendapat perlakuan selanjutnya.
3. Aloksan (2,4,5,6-tetraoksipirimidin; 5,6-dioksiurasil) merupakan senyawa hidrofilik

dan tidak stabil dengan waktu paruh pada suhu 37° C. Aloksan dapat merusak sel beta pankreas sehingga menurunkan produksi insulin. Aloksan bubuk yang diberikan sebelumnya dilarutkan dengan NaCl. Aloksan dapat bersifat agen diabetogenik jika diberikan melalui rute parenteral (intravena, intraperitoneal, dan subkutan) (Szkudelski, 2001; Rees dan Alcolado, 2005). Dalam percobaan ini tikus diinduksi aloksan dengan dosis 125 mg/kgBB secara intraperitoneal. Pembentukan oksigen reaktif merupakan faktor utama pada kerusakan sel tersebut. Aloksan dapat menyebabkan Diabetes Melitus tergantung insulin pada binatang tersebut (aloksan diabetes) dengan karakteristik mirip dengan Diabetes Melitus tipe 1 pada manusia (Yuriska, 2009). Mekanisme kerja aloksan diawali dengan ambilan aloksan ke dalam sel-sel β pankreas dan kecepatan ambilan ini akan menentukan sifat diabetogenik aloksan. Kemampuan aloksan untuk dapat menimbulkan diabetes juga tergantung pada jalur penginduksian, dosis, senyawa, hewan percobaan dan status gizinya (Amma, 2009).

4. Luka didefinisikan suatu kerusakan integritas epitel dari kulit atau definisi yang lain terputusnya kesatuan struktur anatomi normal dari suatu jaringan akibat suatu trauma atau rusaknya sebagian jaringan tubuh. Penyembuhan luka adalah suatu bentuk proses usaha untuk memperbaiki kerusakan yang terjadi. Pertumbuhan pembuluh darah adalah proses penting awal penyembuhan ditempat luka untuk meningkatkan aliran darah. Fibroblas jaringan ikat fibrous adalah sel yang bertanggung jawab untuk sintesa kolagen. Pembuatan luka dilakukan dengan metode morton yang telah dimodifikasi. Luka dibuat dengan cara diinsisi 2x2 cm hingga ke bagian subkutan. Luka kemudian diberikan dressing menggunakan kasa untuk mencegah infeksi. Pemberian ekstrak pada luka dilakukan pada keesokan harinya untuk mendapatkan luka yang non infeksi. Proses penyembuhan luka di mulai dari fase inflamasi, proliferasi dan remodelling atau maturasi.
5. Sel radang yang diamati adalah makrofag. Makrofag berisi granula berwarna coklat. Sel ini berdiameter 21 μ m dan bersifat fagositik. Makrofag menghasilkan zat yang bersifat kemoatraktan terhadap sel yang berperan pada fase inflamasi menuju fase

proliferasi penyembuhan luka seperti fibroblast dan angiogenesis, sehingga makrofag merupakan sel utama dalam penyembuhan luka yang mendorong fase inflamasi menuju proliferasi. Pengamatan makrofag dilakukan secara histopatologi dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin* dibawah mikroskop, tiap sediaan diperiksa pada luas pandang 5 area dibawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali.

6. Sediaan yang diamati diambil dari jaringan kulit yang diinsisi *full thickness*. Pengambilan kulit hingga lapisan subkutan ini untuk memudahkan pembuatan sediaan histopatologi. Bagian luka yang diambil setelah mendapatkan perlakuan selama 21 hari.

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat gelas, timbangan tikus, rotavapour, Accu check, seperangkat peralatan untuk pemeliharaan tikus, kertas saring, spatula, ultrasonic chamber, corong gelas, siringe, gunting bedah, papan fiksasi, glukotest, revanol, scapel, spidol, bolpoin, kasa, spuit, cawan petri dan mikroskop elektronik.

3.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak umbi bidara upas, aloksan, salep gentamisin 5%, ketamin HOI, NaCl fisiologis (NaCl 0,9%), formalin buffer 10%.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Pembuatan Ekstrak

Bahan yang digunakan adalah umbi bidara upas yang telah diidentifikasi di Herbarium Jemberiense, Jurusan Biologi, MIPA Universitas Jember. Sebanyak 2 kg umbi bidara upas dikeringkan dengan cara diangin-anginkan untuk mendapatkan simplisia. Simplisia yang dihasilkan selanjutnya diblender dan diayak sehingga

diperoleh serbuk simplisia. Serbuk diekstraksi dengan ultrasonikasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 1 jam. Ekstrak yang dihasilkan disaring dengan corong Buchner sehingga diperoleh filtrat. Residu dimaserasi ulang dengan cara yang sama sebanyak tiga kali. Filtrat yang dihasilkan dipekatkan dengan rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak selanjutnya diuji aktivitasnya sebagai penyembuh luka tikus jantan hiperglikemi.

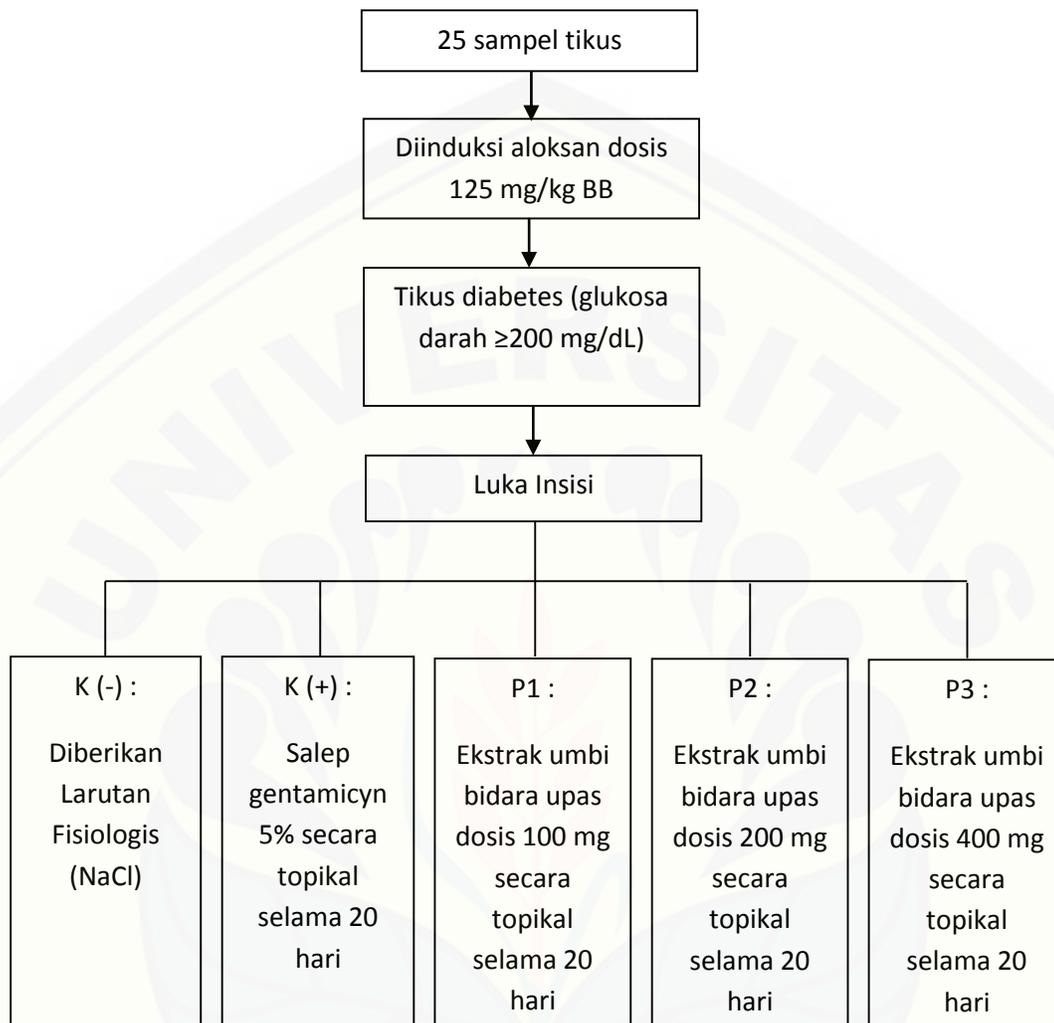
3.7.2 Perlakuan Terhadap Hewan Coba

A. Induksi Agen Diabetonik

Tikus wistar jantan dewasa (usia 8 minggu; berat badan 200 hingga 250 g) dipelihara dalam kandang dengan diberikan pakan standard dan air libitum. Tikus diadaptasikan dengan kondisi tersebut selama 1 minggu. Tikus diinduksi menggunakan aloksan monohidrat yang dilarutkan dalam 0.05 mol/L buffer sitrat (pH 4,5) dengan dosis tunggal 125 mg/kgBB. Tikus positif mengalami diabetes ketika kadar glukosa darah melebihi 200mg/dL pada hari ketiga setelah injeksi aloksan. Kadar glukosa darah diukur menggunakan AccuCheck (Roche, Jerman) dua kali seminggu.

B. Pembuatan Luka Pada Tikus

Hewan uji jika sudah diabetes dibagi menjadi 5 kelompok @ 5 ekor tikus. Kelompok I adalah kelompok kontrol, diberi NaCl, kelompok II adalah kelompok kontrol positif, diberi salep gentamisin 5%, Kelompok III-V diberi ekstrak sebesar 100, 200 dan 400 gram ekstrak umbi bidara upas. Tikus lalu dicukur bulunya untuk memudahkan pembuatan luka dan perlakuan nantinya. Tikus diinduksi ketamin sebanyak 0,2 -0,3 mg per ekor secara intramuskular. Selanjutnya pada punggung tikus diinsisi dengan ukuran 2x2 cm lalu diberi rewanol dan dressing menggunakan kasa untuk mencegah infeksi.



Gambar 3:1 Prosedur penelitian

Hewan uji selanjutnya dibuat luka menggunakan metode Morton yang telah dimodifikasi. Tikus dibius dengan ketamin HCl dosis 50 mg/kg bb secara intramuskular. kemudian diletakkan di atas papan bedah dengan posisi telungkup dan keempat kaki diikat. Rambut di sekitar punggung tikus dicukur, kemudian dibersihkan dengan kapas yang dibasahi alcohol 70%. Kulit diangkat dengan pinset dan digunting di daerah tersebut sampai bagian subkutan beserta jaringan ikat di bawahnya dengan luas 4 cm (Morton, 1972). Hewan coba diberi perlakuan setelah satu hari pemberian luka untuk mendapatkan luka non infeksi (jika terdapat infeksi berupa munculnya pus,

luka basah maka hewan coba tidak bisa digunakan dalam penelitian ini. Setelah diberikan perlakuan, luka ditutup dengan kasa dan plester. Perlakuan diberikan tiap hari sekali selama 20 hari.

C. Pengamatan profil histopatologi

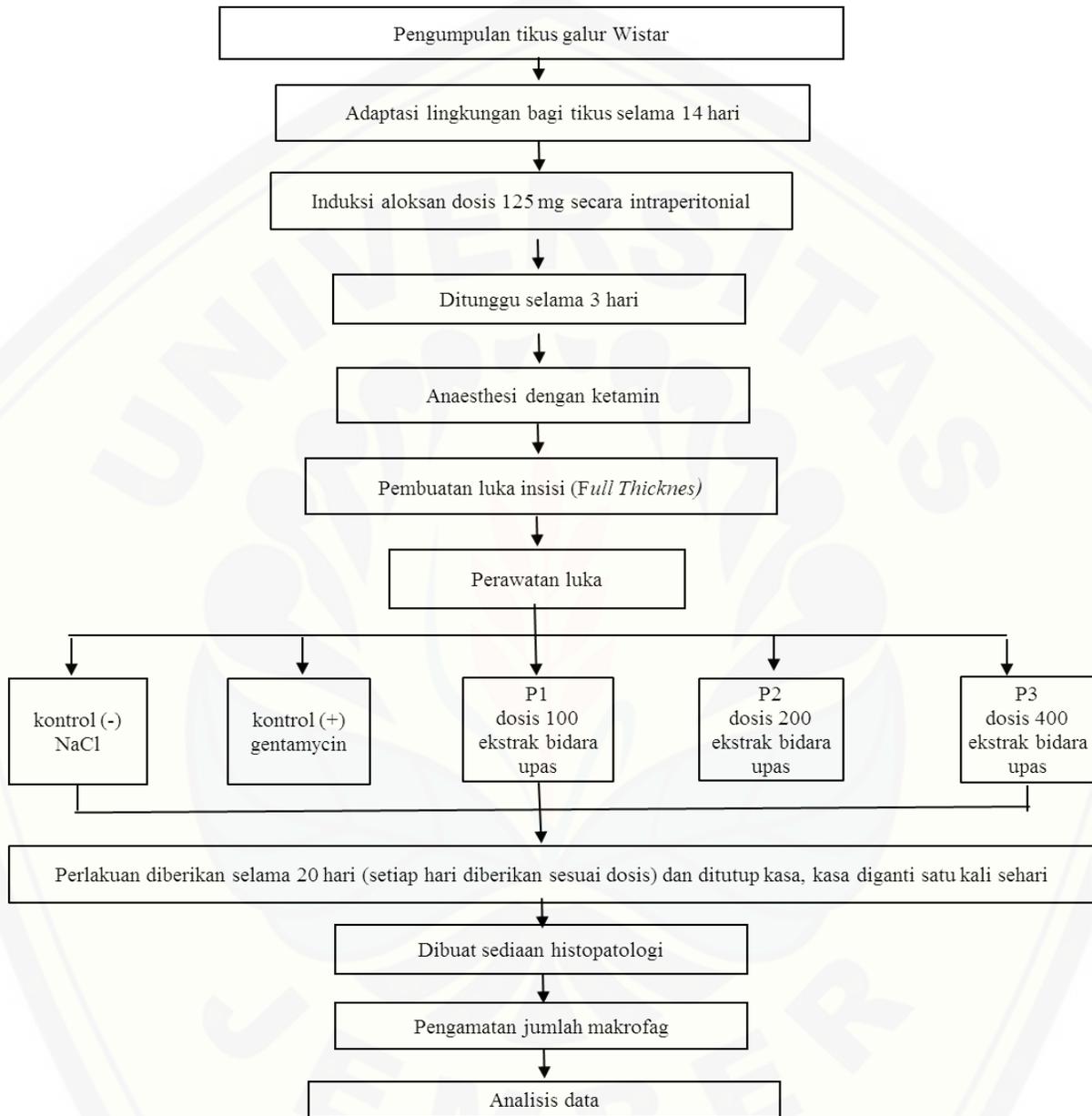
Gambaran histopatologi hati tikus dilihat dengan melakukan pengamatan sediaan histopatologi menggunakan mikroskop. Tiap preparat jaringan kulit dibaca dalam lima lapangan pandang yaitu pada keempat sudut dan bagian tengah preparat dengan menggunakan *graticula ocular* pada pembesaran 400 kali.

Pembacaan preparat dari lima lapangan. Dinilai skor untuk setiap lapangan pandang. Dan dicari rerata skor untuk semua lapang pandang pada setiap tikus. Dengan sistem skoring.

3.8 Analisis Data

Hasil pengamatan yang diperoleh diuji secara statistik menggunakan *shapiro-Wilk* untuk menguji normalitas data, jika distribusi normal maka data diuji dengan *one way ANOVA* dilanjutkan dengan uji *post Hoc* metode LSD sedangkan jika distribusi tidak normal maka data diuji dengan *kruskal wallis* dilanjutkan dengan uji *post Hoc* metode *Man Whitney*.

3.9 Alur Penelitian



Gambar 3:2 Alur penelitian

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil dan Analisis Data

Penelitian ini menggunakan sampel 25 ekor tikus wistar jantan yang dibagi menjadi lima kelompok yaitu kelompok K(-) kontrol negatif, K(+) kontrol positif, P1 (perlakuan 1), P2 (perlakuan 2), P3 (perlakuan 3). Jumlah sampel pada masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus wistar jantan yang dipilih secara acak (simple random sampling). Sebelum perlakuan hewan coba di induksi senyawa diabetogenik yaitu aloksan dengan dosis 125 mg/kgBB secara intraperitoneal, ditunggu selama 3 hari. Kemudian hewan coba dipuaskan 12 jam dan diambil lalu diukur gula darahnya menggunakan glukotest. Gula darah pada tikus dengan nilai ≥ 200 mg/dl akan mendapat perlakuan selanjutnya. Pembuatan luka pada hewan coba ialah menggunakan metode morton dengan besar 2x2 cm sedalam lapisan subkutis, hewan coba diinjeksikan terlebih dahulu ketamin sebanyak 0,2 mg/kgBB secara intramuskular untuk mengurangi rasa sakitnya.

Pada luka insisi tersebut diberikan ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour)). Pemberian dengan dosis berbeda 100, 200, dan 400 mg secara topikal setiap hari, ditutup kasa dan diganti satu kali sehari, sedangkan untuk kontrol (+) diberikan salep gentamicyn dan kontrol (-) diberikan NaCl. Hal ini dapat dilihat pada gambar 4.1.



(a)



(b)



(c)



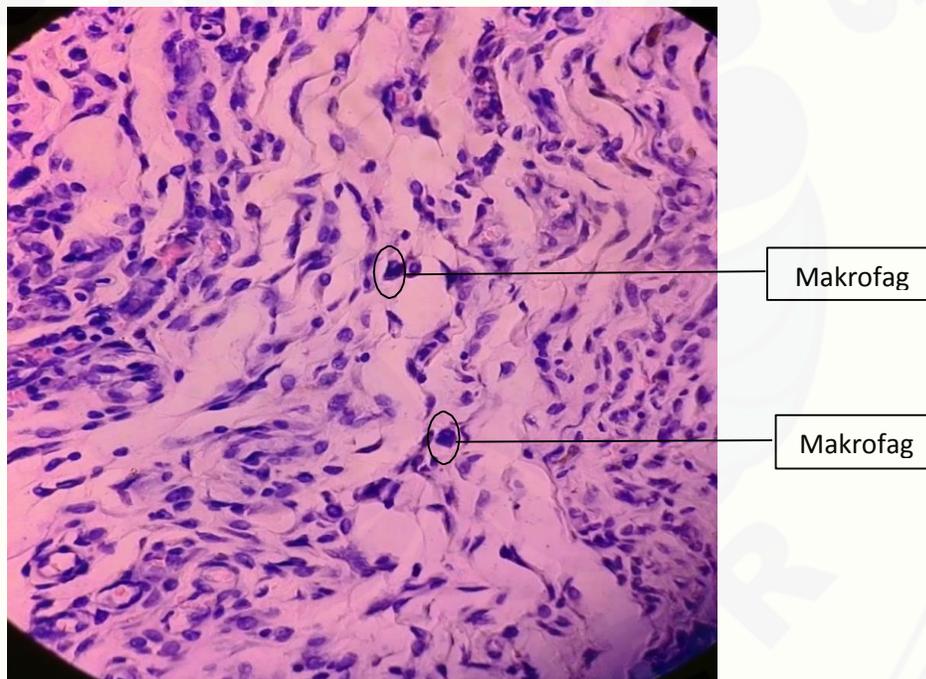
(d)

Gambar 4.1 Kulit tikus (a) kulit normal (b) luka insisi. Pemberian ekstrak bidara upas (c) pada hari ke 3 (d) hari ke 5

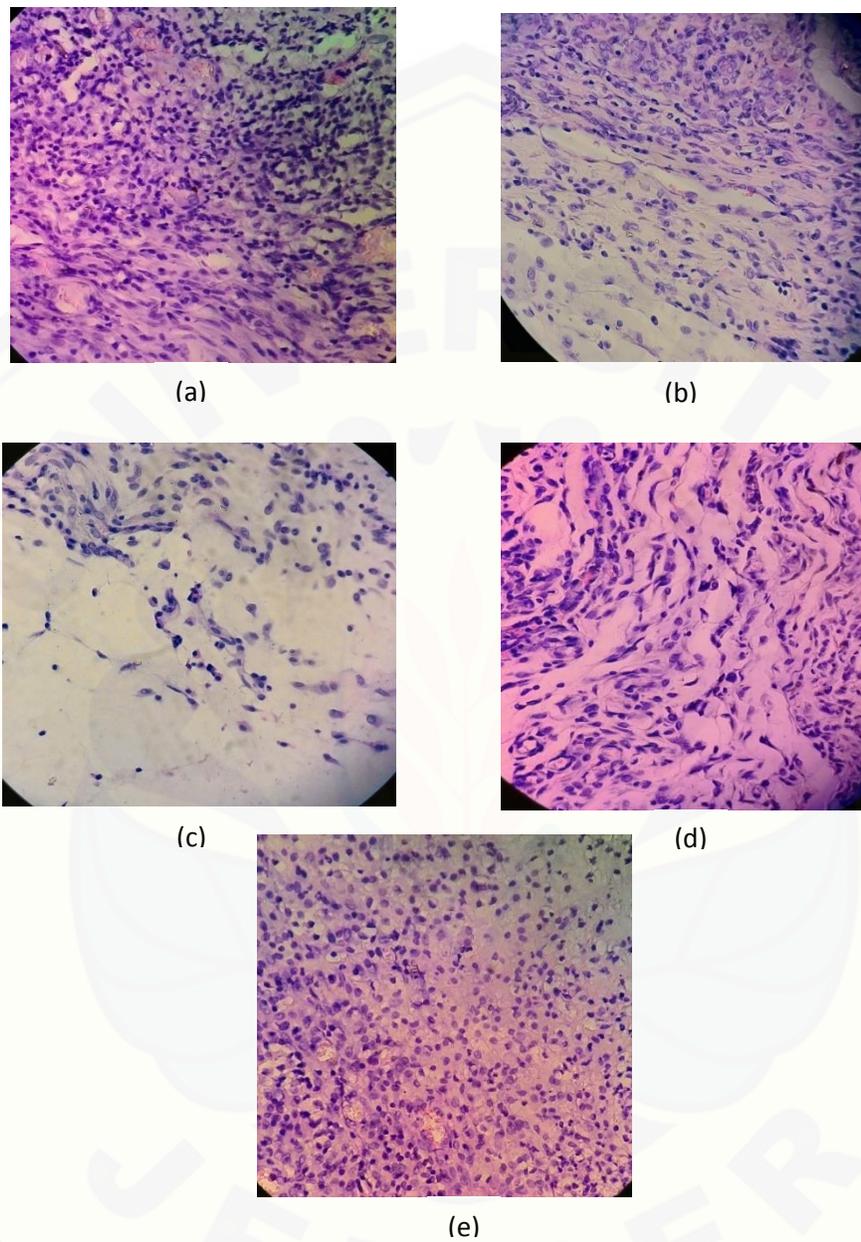
Setelah diberikan perlakuan selama 20 hari, pada hari ke 21 tikus diterminasi untuk diambil kulitnya sedalam bagian subkutis, difiksasi menggunakan formalin 10% dibuat preparat histopatologi dengan pewarnaan HE. Selanjutnya dilakukan perhitungan jumlah makrofag menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x pada 5 lapang pandang

4.1.1 Makrofag

Makrofag merupakan sel radang berdiameter $21\mu\text{m}$, berbentuk ireguler dan berwarna kebiruan dengan granul hasil fagositosis berwarna kecoklatan sebagai pigmen eksogen di dalam sitoplasma makrofag. Bentuk makrofag dapat dilihat pada gambar 4.2.



Gambar 4.2 Bentuk makrofag dengan mikroskop perbesaran 400x



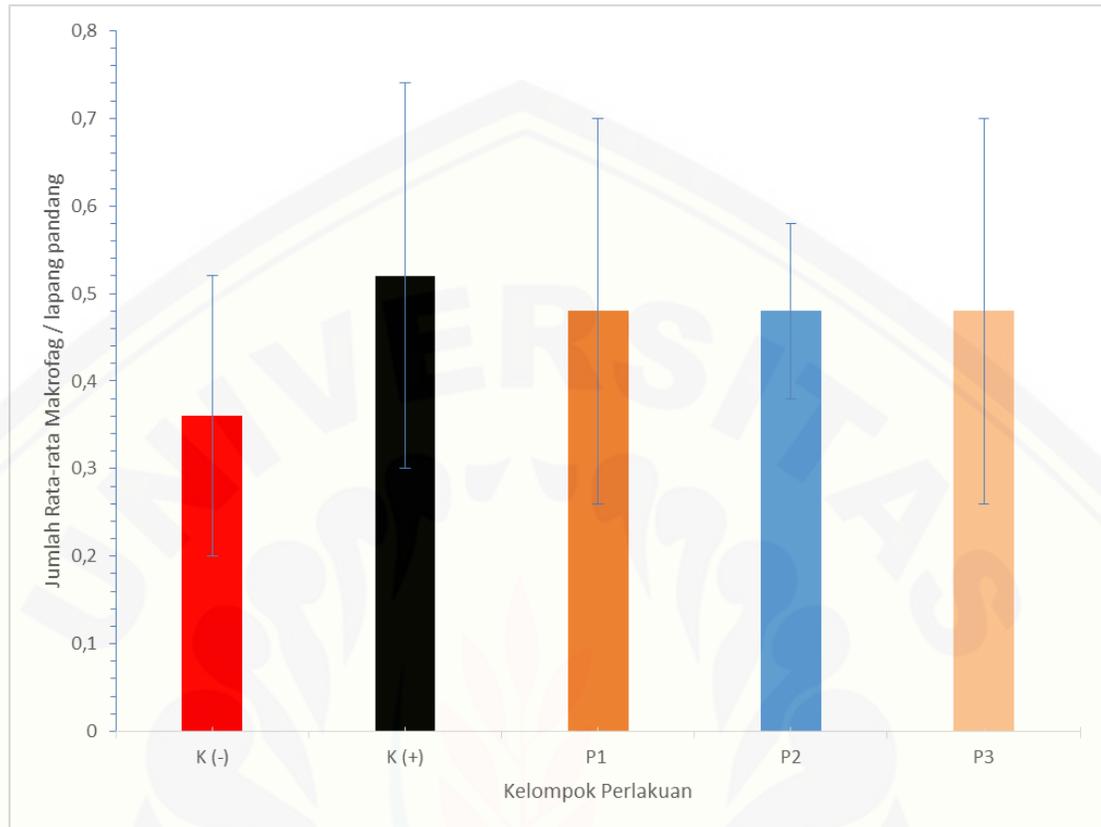
Gambar 4.3 gambaran histopatologi kulit tikus dengan mikroskop perbesaran 400x (a) Kontrol + (b) Dosis 100mg (c) Dosis 200mg (d) Dosis 400mg (e) Kontrol -

Hasil skoring pembacaan histopatologi makrofag tikus wistar jantan hiperglikemi minimal dihitung dalam lima lapang pandang pada setiap preparat menurut kriteria *Venient et al.* Dengan rata-rata skor perubahan jumlah makrofag tikus wistar jantan hiperglikemi yang diperoleh dapat dilihat dari tabel dibawah ini.

Tabel 4.1 Analisis deskriptif jumlah makrofag

Kelompok	Mean	SD	Minimum	Maksimum
Kontrol Positif	0,52	0,228	0,2	0,8
Dosis 100 mg (P1)	0,48	0,228	0,2	0,8
Dosis 200 mg (P2)	0,48	0,109	0,4	0,6
Dosis 400 mg (P3)	0,48	0,228	0,2	0,8
Kontrol Negatif	0,36	0,167	0,2	0,6

Berdasarkan tabel 4.1, rata-rata tertinggi jumlah makrofag pada preparat histopatologi tikus wistar jantan hiperglikemi terdapat pada kelompok kontrol positif (K+) dan rata-rata terendah terdapat pada kelompok kontrol negatif (K-). Sedangkan untuk kelompok perlakuan antara perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), perlakuan 3 (P3) memiliki rata-rata jumlah yang sama, dengan kata lain tidak ditemukan rata-rata tertinggi dan rata-rata terendah pada kelompok perlakuan, seperti terlihat pada gambar di bawah ini.



Gambar 4.3 Grafik Rataan Jumlah Makrofag

Data hasil skoring jumlah makrofag pada tikus wistar jantan hiperglikemi di uji normalitasnya menggunakan *Saphiro-Wilk* dan hasilnya dapat dilihat pada tabel sebagai berikut.

Tabel 4.2 Hasil uji normalitas *Saphiro-Wilk*

No	Kelompok	<i>P</i>
1	Kontrol Positif	0,814
2	Perlakuan 1 (P1)	0,814
3	Perlakuan 2 (P2)	0,006
4	Perlakuan 3 (P3)	0,814
5	Kontrol Negatif	0,314

Dari tabel diatas, didapatkan distribusi data normal ($p > 0,05$) dan didapatkan pula homogenitas data dengan menggunakan uji Homogenitas *Levene* ($p > 0,05$).

Tabel 4.3 Hasil uji homogenitas *Levene*

<i>Levene Statistic</i>	<i>p</i>
0,709	0,595

Berdasarkan hasil uji normalitas *Saphiro-Wilk* dan homogenitas *Levene* dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi tidak normal namun homogen, kemudian data di transformasi. Karena setelah ditransformasi data tetap tidak normal sehingga data tidak dapat dianalisis dengan uji parametrik. Sehingga data diuji menggunakan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui pengaruh dan membandingkan efektifitas pemberian ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour)) pada proses penyembuhan luka insisi (*full thickness*) tikus wistar jantan hiperglikemi. Data tersebut dapat dikatakan berbeda signifikan apabila $p < 0,05$.

Hasil analisis data dengan uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan hasil $p=0,729$ dimana hal tersebut berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan, tetapi melihat dari analisis deskriptif bahwa ekstrak umbi bidara upas berefek terhadap penyembuhan luka dilihat dari banyaknya jumlah makrofag jika dibandingkan dengan kontrol negatif (K-) namun jumlahnya masih dibawah dari kontrol positif (K+).

4.2 Pembahasan

Pembuatan luka insisi (*full thickness*) dengan kadar gula darah tikus yang tinggi dimaksudkan menjadi replikasi luka diabetik untuk kemudian dapat melihat efek umbi bidara upas (*Merremia mammosa*(Lour)) sebagai penyembuhan luka.

Proses penyembuhan luka terdapat 4 fase yaitu fase homeostatis, fase inflamasi, fase proliferasi dan fase maturasi (*remodelling*). Pada fase inflamasi jumlah makrofag mencapai puncaknya pada 24-48 jam setelah terjadi luka, fungsi makrofag adalah sebagai APC dan fagositosis profesional dimana jika terdapat gangguan maka akan

berakibat infeksi luka oleh patogen yang tidak difagositosis dan memperlama waktu penyembuhan luka akibat makrofag tidak menstimulus growth factor dan TGF- β dan terjadi perlambatan pada fase penyembuhan luka selanjutnya (Suryadi I.A 2013 : 4-7).

Pada hasil penelitian didapatkan bahwa kelompok kontrol (-) yang hanya diberikan NaCl didapatkan rata-rata jumlah makrofag 0,360 sel/lapang pandang dan merupakan hasil terendah jika dibandingkan dengan kelompok lain. Hal ini menandakan bahwa NaCl digunakan sebagai pembersih luka dan menghilangkan benda asing yang menempel namun NaCl bukan antiseptik sehingga tidak dapat membunuh bakteri (Jennifer Edy 2009).

Pada kelompok kontrol (+) yang diberikan gentamicyn 5% didapatkan rata-rata jumlah makrofag 0,52 sel/ lapang pandang. Sedangkan untuk kelompok kontrol (-) yang diberikan NaCl didapatkan rata-rata jumlah makrofag 0,360 sel/ lapang pandang. Dan untuk kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour)) adalah 0,480 sel/ lapang pandang, yang diartikan bahwa kelompok kontrol (+) adalah yang tertinggi rata-rata jumlah makrofag lalu diikuti dengan kelompok perlakuan dan terendah adalah kelompok kontrol (-).

Gentamycin merupakan antibiotika golongan aminoglikosida yang efektif untuk menghambat kuman-kuman penyebab infeksi kulit primer maupun sekunder seperti *Staphylococcus* yang menghasilkan penisilinase, *Pseudomonas aeruginosa* dan lain-lain. Gentamycin digunakan untuk pengobatan infeksi kulit primer maupun sekunder seperti impetigo kontagiosa, ektima, furunkulosis. pioderma, psoriasis dan macam-macam dermatitis lainnya. Namun pada efek samping dapat menyebabkan iritasi ringan, pruritus dan eritema sehingga dapat memperlama penyembuhan luka. Gentamycin pada penelitian ini digunakan sebagai pembanding karena kandungan antimikroba (Farmakologi dan Terapi, 2011 : 705-715).

Hasil rata-rata pada kelompok yang diberikan ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour)) adalah 0,480 sel/ lapang pandang, hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang diberikan NaCl (kontrol negatif). Hal ini terjadi

karena kandungan pada ekstrak umbi bidara upas yang menyerupai gel. Kandungan ekstrak bidara upas salah satunya yaitu polifenol ini banyak sekali macamnya seperti flavonoid. Flavonoid memiliki efek antioksidan yang dapat mempercepat fase inflamasi dengan menangkap radikal bebas dan mencegah reaksi oksidasi dengan meningkatkan aktivitas enzim *Superoxide dismutase* (SOD) dan *glutathion transferase* (Subandi *et.al*, 2014). Selain itu flavonoid memiliki aktivitas antiinflamasi yang bekerja menghambat fase penting dalam biosintesis yaitu pada lintasan siklooksigenase dan juga memiliki aktivitas antibakteri melalui hambatan fungsi DNA *gyrase* bakteri sehingga kemampuan replikasi dan translasi bakteri terhambat (Gunawan, 2009).

Flavonoid dengan aktivitas antiinflamasinya dapat merangsang sel-sel seperti makrofag untuk menghasilkan *growth factor* dan sitokin seperti EGF, TGF- β , IL-1, IL-4, IL-8 sehingga mempercepat memasuki fase proliferasi dan penyembuhan luka. Kandungan flavonoid pada umbi bidara upas juga dapat memacu imunitas seluler dengan memproliferasi limfosit dan produksi *reactive oxygen intermediet macrofag* (Farizal, 2012 : 14).

Namun dalam penelitian ini memiliki keterbatasan karena tidak meneliti per fase dari proses penyembuhan luka dari fase inflamasi, proliferasi dan maturasi (*remodelling*). Penelitian ini hanya dilakukan dengan jangka waktu 21 hari, sehingga fase inflamasi dan maturasi (*remodelling*) tidak diketahui secara pasti akan menimbulkan efek atau tidak. Penelitian ini tidak menggunakan bahan aktif tunggal sehingga bahan aktif lain yang terkandung pada ekstrak bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour)) dapat mempengaruhi hasil penelitian. Penelitian ini tidak dilakukan pengujian kadar bahan aktif, sehingga tidak diketahui kadar bahan aktif yang memberikan efek yang diinginkan.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka dapat disimpulkan bahwa: Ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour)) tidak mempunyai perbedaan yang signifikan pada proses penyembuhan luka insisi (*full thickness*).

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang :

1. Uji kadar bahan aktif ekstrak umbi bidara upas
2. Uji dosis toksik ekstrak umbi bidara upas
3. Dilakukan penelitian perbagian dari proses penyembuhan luka mulai dari fase inflamasi, proliferasi dan maturasi (*remodelling*)

DAFTAR PUSTAKA

- Bidkar A.A, A.P. Sherje, K. N. Gujar, U.S. Bagul, P.B. Miniyar, S.A. Aphale. 2009. Phytochemical and pharmacological investigation of extracts of *Merremia tridentata* Linn. (Convolvulaceae). Sinhgad Institute of Pharmacy, Narhe, Pune-411 041 (M.S.) : *Journal of Natural Remedies*. Vol. 9: 79-84.
- ADA. 2004. Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes : A patient – centered approach. Position statement American Diabetes Association (ADA) and Europe Association for the Study of Diabetes (EASD). *Journal of Diabetes*. Vol 3: 30-35
- Mangestuti, Sugianto, Widyowati, Purwitasari. 2010. Uji Daya Hambat *Micobacterium Tuberculosis* Dari Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa Hall*). Stratnas.
- Agromedia, redaksi. 2007. Buku Pintar. Tanaman Hias. Jakarta : PT. Agromedia Pustaka.
- Purwaningsih, Yunita. S, Yuli D. 2014. Gambaran Penyembuhan Luka Diabetes Dengan Gel *Nigella Sativa* 30% Pada Tikus Yang Diinduksi Aloksan. Purwokerto : Universitas Jendral Soedirman.
- Anindhita F. 2009. Efek Aloksan Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar. Semarang: Universitas Diponegoro.

- Beth. E. Dunning, Petter. M. Nilson, Boh. Ahren. 2009. Vildagliptin Enhances Islet Responsiveness to Both Hyper- and Hypoglycemia in Patients with Type 2 Diabetes. *The Journal of Endocrinology & Metabolism*. Vol 6: 114-139.
<http://press.endocrine.org/doi/abs/10.1210/jc.2008-2152> [Diakses 10 september 2014].
- Burrant CF. (ED). 2006. : Medical Management of Diabetes. 5th ed. Alexandria, VA, American Diabetes Association. *Journal of Diabetes*. Vol 5: 87-93.
http://care.diabetesjournals.org/content/29/suppl_1 [Diakses 12 september 2014].
- Diegelmann and Evans. 2004. *Wound Healing* : an overview of acute, fibrotic and delayed healing. Pub Med. gov. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14766366> [Diakses 8 januari 2015].
- Deshpande AD, Harris-Hayes M, Schootman M. 2008. Epidemiology of Diabetes and Diabetes-Related Complications. America : *Journal of The American Physical Therapy Association*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3870323/> [Diakses 10 januari 2015].
- Dorland, K.K. , 1998. *Kamus Saku Kedokteran*. 25th penyut. Jakarta : EGC.
- Fauci LA. 2009. *Fluminant Type 1 Diabetes Melitus* : California Medical Univesity.
- Farizal, Jon. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa*) Terhadap Proliferasi Limfosit Dan Produksi ROI Makrofag. Studi Eksperimental Infeksi Salmonella Typhimurium pada Mencit Balb/C. Masters thesis: Diponegoro University.

- Gunawan, A. 2009. Potensi Buah Pare (*Momordica charantia L*) Sebagai Antibakteri *Salmonella Typhium*. Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan: Universitas Mahasaraswati Denpasar.
- Hidayat, T. S. N. 2013. Peran Topikal Ekstrak Gel Aloe Vera Pada Penyembuhan Luka Bakar derajat Dua Dalam. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Jeffcoate WJ, Harding KG. 2003. *Diabetic Foot Ulcer*. Pub Med. gov. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12737879> [Diakses 20 desember 2014].
- Karuppusamy Arunachalam, Thangaraj Parimelazhagan. 2011. *Antidiabetic activity of aqueous root extract of Merremia tridentata (L.) Hall. f. In streptozotocin-induced-diabetic rats*. India : Bharatiar University. 42
- Kiernan UA. 2008. Retinol-binding protein 4 inhibits insulin signaling in adipocytes by inducing proinflammatory cytokines in macrophages through a c-Jun N-terminal kinase- and toll-like receptor 4-dependent and retinol-independent mechanism. Pub Med gov. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22431523> [Diakses 14 september 2014].
- Koh Tj, DiPietro LA. 2011. *Inflammation and wound healing: The role of the macrophage*. Cambridge Journal. Vol 13: 12-28. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21740602> [Diakses 30 januari 2015].
- Khanolkar MP, et al. 2008. *The Diabetic Foot*. QJ Med 101:685-695. <http://www.diabetes.org.uk/Documents/campaigning/Putting-feet-first-campaign-Scotland.0212.pdf> [Diakses a22 desember 2014].

Knowler WC, Hamman RF, Edelstein SL, Barrett-Connor E, Ehrmann DA, Walker EA, Fowler SE, Nathan DM, Kahn SE, *The Diabetes Prevention Program Research Group*: Prevention of type 2 diabetes with troglitazone in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes* 54:1150–1156, 2005.

Lenzen S. *The mechanisms of alloxan - and streptozotocin-induced diabetes*. *Diabetologia* 2008;51:216-26

Lisbet L Situmorang. 2009. *Efekt ivitas Madu Terhadap Penyembuhan Luka Gangren Diabetes Mellitus*. Medan : Universitas Sumatera Utara.

M. Kamalutheen, S. Gopalkrishnan and T. Syed Ismail. 2009. *Anti-inflammatory and Anti-arthritic Activities of Merremia tridentata (L.) Hall. f. India* : Manonmaniam Sundaranar University.

Ningsih *et al.* 2009. Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) terhadap *Streptococcus mutans*. Jember : Universitas Jember.

Oyibo, S. O., E. B. Jude, I. Tarawneh, H. C. Nguyen, D. G. Armstrong, et al. (2001). "The effects of ulcer size and site, patient's age, sex and type and duration of diabetes on the outcome of diabetic foot ulcers." *Diabetic Medicine* 18(2): 133-138. 43

Pereda-Miranda et al. 2010. *Tetrasaccharide Glycolipids from the Mexican Scammony Root (Ipomoea orizabensis)*: J. Nat. Prod.

Ramsey *et al.* 1999. *The Diabetic Foot Syndrome*: Wiener Medizinische Wochenschrift.

- Rini. 2008. Faktor-faktor Risiko Ulkus Diabetika Pada Penderita Diabetes Melitus. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Suryadi I.A. 2013. Proses Penyembuhan Dan Perawatan Luka. Denpasar : SMF Ilmu Bedah Universitas Udayana.
- Stillman, RM. Diabetic Ulcers. Cited Jun 2008. Available at : URL <http://www.emedicine.com> California Podiatric Medical Association Diabetic Wound Care. Cited September 2008. Availabel at : URL <http://www.Podiatrist.org>. [Diakses 28 januari 2014].
- Szkudelski. 2001. *The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas*. Pub Med. gov. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11829314> [Diakses 7 desember 2014].
- University of Texas. 2000. Diabetic Foot Classification.
- WHO, 2014. *Media center*. (online) Available at : www.who.int/mediacenter/factsheet [Diakses 27 agustus 2014]. <http://www.plantamor.com/index.php?plant=840> [Diakses 8 agustus 2014].
- Yuanita A, 2012. Pengaruh Diabetes Self Management Education (DSME) Terhadap Resiko Terjadinya Ulkus Diabetik Pada Pasien Rawat Jalan Dengan Diabetes Mellitus (DM) Tipe 2 Di RSD dr. SOEBANDI Jember : *E-Journal Unej*. <http://repository.unej.ac.id/bitstream/handle/123456789/3164/Alvinda%20Yuanita%20-%2020092310101013.PDF?sequence=1> [Diakses 25 februari 2015].

LAMPIRAN

LAMPIRAN A. HASIL PEMBACAAN MAKROFAG

No	Kode Preparat	Lapangan Pandang				
		1	2	3	4	5
1	K-1	0	0	0	1	0
2	K-2	0	2	0	1	0
3	K-3	1	0	0	0	1
4	K-4	0	0	0	1	0
5	K-5	0	0	1	1	0
6	K+1	1	2	1	0	0
7	K+2	0	0	1	2	0
8	K+3	1	0	1	1	0
9	K+4	0	1	0	1	0
10	K+5	0	0	1	0	0
11	100 1	1	0	2	0	0
12	100 2	0	1	1	0	0
13	100 3	0	1	0	0	0
14	100 4	0	1	1	2	0
15	100 5	0	1	1	0	0
16	200 1	0	1	1	1	0
17	200 2	0	0	1	1	0
18	200 3	0	1	0	2	0
19	200 4	0	0	1	1	0
20	200 5	0	0	1	1	0
21	400 1	0	1	0	1	1
22	400 2	0	1	0	1	0
23	400 3	0	1	0	0	0
24	400 4	0	0	0	2	2
25	400 5	0	0	1	0	1

LAMPIRAN B. HASIL UJI ANALISIS DATA

1. Uji Normalitas Data

Tests of Normality						
Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kontrol negatif	,231	5	,200*	,881	5	,314
kontrol positif	,237	5	,200*	,961	5	,814
Makrofag dosis 100mg	,237	5	,200*	,961	5	,814
dosis 200mg	,367	5	,026	,684	5	,006
dosis 400mg	,237	5	,200*	,961	5	,814

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji Hoogenitas

Test of Homogeneity of Variances			
Makrofag			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,709	4	20	,595

3. Uji *Kruskal-Wallis*

Ranks			
Kelompok	N	Mean Rank	
Makrofag kontrol negatif	5	9,20	
kontrol positif	5	15,10	
dosis 100mg	5	13,40	
dosis 200mg	5	13,90	
dosis 400mg	5	13,40	
Total	25		

Test Statistics^{a,b}

Makrofag	
Chi-Square	2,036
df	4
Asymp. Sig.	,729

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Kelompok

4. Uji *Man-Whitney*

		Ranks		
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol negatif	5	4,40	22,00
Makrofag	kontrol positif	5	6,60	33,00
	Total	10		

a. Kelompok K (-) dan K (+)

Test Statistics ^a	
Makrofag	
Mann-Whitney U	7,000
Wilcoxon W	22,000
Z	-1,193
Asymp. Sig. (2-tailed)	,233
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,310 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

b. Kelompok K (-) dan Dosis 100mg

		Ranks		
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol negatif	5	4,70	23,50
Makrofag	dosis 100mg	5	6,30	31,50
	Total	10		

Test Statistics^a

	Makrofag
Mann-Whitney U	8,500
Wilcoxon W	23,500
Z	-,876
Asymp. Sig. (2-tailed)	,381
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,421 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

c. Kelompok K (-) dan Dosis 200mg

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol negatif	5	4,40	22,00
Makrofag	dosis 200mg	5	6,60	33,00
	Total	10		

Test Statistics^a

	Makrofag
Mann-Whitney U	7,000
Wilcoxon W	22,000
Z	-,1247
Asymp. Sig. (2-tailed)	,212
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,310 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

d. Kelompok K (-) dan Dosis 400mg

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol negatif	5	4,70	23,50
Makrofag	dosis 400mg	5	6,30	31,50
	Total	10		

Test Statistics ^a	
	Makrofag
Mann-Whitney U	8,500
Wilcoxon W	23,500
Z	-,876
Asymp. Sig. (2-tailed)	,381
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,421 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

e. Kelompok K (+) dan Dosis 100mg

		Ranks		
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol positif	5	5,80	29,00
Makrofag	dosis 100mg	5	5,20	26,00
	Total	10		

Test Statistics ^a	
	Makrofag
Mann-Whitney U	11,000
Wilcoxon W	26,000
Z	-,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,746
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,841 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

f. Kelompok (+) dan Dosis 200mg

		Ranks		
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol positif	5	5,90	29,50
Makrofag	dosis 200mg	5	5,10	25,50
	Total	10		

Test Statistics ^a	
	Makrofag
Mann-Whitney U	10,500
Wilcoxon W	25,500
Z	-,446
Asymp. Sig. (2-tailed)	,656
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,690 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

g. Kelompok (+) Dan Dosis 400mg

		Ranks		
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol positif	5	5,80	29,00
Makrofag	dosis 400mg	5	5,20	26,00
	Total	10		

Test Statistics ^a	
	Makrofag
Mann-Whitney U	11,000
Wilcoxon W	26,000
Z	-,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,746
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,841 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

h. Kelompok Dosis 100mg dan Dosis 200mg

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	dosis 100mg	5	5,40	27,00
Makrofag	dosis 200mg	5	5,60	28,00
	Total	10		

Test Statistics^a	
	Makrofag
Mann-Whitney U	12,000
Wilcoxon W	27,000
Z	-,113
Asymp. Sig. (2-tailed)	,910
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

i. Kelompok Dosis 100mg dan 400mg

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	dosis 100mg	5	5,50	27,50
Makrofag	dosis 400mg	5	5,50	27,50
	Total	10		

Test Statistics^a	
	Makrofag
Mann-Whitney U	12,500
Wilcoxon W	27,500
Z	,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

j. Kelompok Dosis 200mg dan Dosis 400mg

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	dosis 200mg	5	5,60	28,00
Makrofag	dosis 400mg	5	5,40	27,00
	Total	10		

Test Statistics^a	
	Makrofag
Mann-Whitney U	12,000
Wilcoxon W	27,000
Z	-,113
Asymp. Sig. (2-tailed)	,910
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

LAMPIRAN C. DOKUMENTASI PENELITIAN

a. Pembuatan Ekstrak



b. Pemberian anastesi



c. Pembuatan luka insisi



d. Penimbangan ekstrak



e. Pemberian ekstrak secara topikal



f. Perawatan luka



g. Pengambilan jaringan kulit tikus



- h. Penempatan jaringan pada formalin dan hasil pembuatan preparat histopatologi





KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
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 : 502 /H25.1.11/KE/2015

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 :

**PERBANDINGAN JUMLAH MAKROFAG PADA LUKA INSISI FULL THICKNESS
ANTARA PEMBERIAN EKSTRAK UMBI BIDARA UPAS (*Merremia mammosa(Lour)*)
DENGAN NaCl PADA TIKUS WISTAR JANTAN HIPERGLIKEMI**

Nama Peneliti Utama : Fajar Kurniawan (NIM. 112010101008)
Name of the principal investigator

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

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



Jember, 12 Maret 2015

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)

- Pemilihan, perawatan, perlakuan dan pemukiman hewan erba kambing dengan pedoman drk penelitian kesehatan.
- Pembuatan preparat histopatologi, bendalnya dilakukan oleh seseorang yang kompeten agar didapat jaringan yg layak untuk dibaca preparat histopatologi.
- Pembacaan dilakukan oleh seseorang yang kompeten, serta menggunakan metode blinding.



Jember 11 Maret 2015

Nama: dr. Rini Riyanti, Sp.PK

