



**EFEK JENIS *VEHICLE* GEL FRAKSI UMBI BIDARA UPAS (*Merremia mammosa Lour*) PADA PENYEMBUHAN LUKA TIKUS DIABETES BERDASARKAN ANALISIS HIDROKSIPROLIN**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**Mizan Maulana**  
**NIM 152010101115**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2019**



**EFEK JENIS *VEHICLE* GEL FRAKSI UMBI BIDARA UPAS (*Merremia mammosa Lour*) PADA PENYEMBUHAN LUKA TIKUS DIABETES BERDASARKAN ANALISIS HIDROKSIPROLIN**

**SKRIPSI**

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

Oleh:  
**Mizan Maulana**  
**NIM 152010101115**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**2019**

## 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. Orang tua saya tercinta, Bapak Pien Suharyono dan Ibu Nur Solikha, Kakak saya, Imaduddin Al Fikri dan adik saya, Ahmad Hafidz yang selalu memberikan kasih sayang, dukungan dan motivasi serta doa;
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

Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat.

Dan Allah Maha Mengetahui apa yang kamu kerjakan  
(terjemahan Surat Al-Mujadalah ayat 11)<sup>\*)</sup>

Tidak ada penyakit yang tidak bisa disembuhkan - hanya kurangnya keinginan.

Tidak ada herbal yang tidak berguna - hanya kurangnya pengetahuan. <sup>\*\*)</sup>

---

<sup>\*)</sup> Departemen Agama Republik Indonesia. 2006. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Surabaya: CV. Pustaka Agung Harapan.

<sup>\*\*)</sup> Fattahi, H. 2011. *Tawanan Benteng Lapis Tujuh: Biografi Ibnu Sina*. Jakarta: Zaman

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mizan Maulana

NIM : 152010101115

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah saya yang berjudul “Efek Jenis Vehicle Gel Fraksi Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa Lour*) pada Penyembuhan Luka Tikus Diabetes Berdasarkan Analisis Hidroksiprolin” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan 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 ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata pernyataan ini tidak benar.

Jember, 27 Februari 2019

Yang menyatakan,

Mizan Maulana

NIM 152010101115

**SKRIPSI**

**EFEK JENIS VEHICLE GEL FRAKSI UMBI BIDARA UPAS  
(*Merremia mammosa Lour*) PADA PENYEMBUHAN LUKA TIKUS  
DIABETES BERDASARKAN ANALISIS HIDROKSIPROLIN**

Oleh  
Mizan Maulana  
NIM 152010101115

Pembimbing

Dosen Pembimbing I : dr. Ancah Caesarina Novi Marchianti, Ph.D.

Dosen Pembimbing II : dr. Heni Fatmawati, M.Kes, Sp.Rad.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Efek Jenis Vehicle Gel Fraksi Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa Lour*) pada Penyembuhan Luka Tikus Diabetes Berdasarkan Analisis Hidroksiprolin” karya Mizan Maulana telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada:

Hari , Tanggal : Rabu, 27 Februari 2019

Tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji :

Ketua,

Anggota I,

dr. Ulfa Elfiah, M.Kes, Sp.BP-RE (K)

dr. Laksmi Indreswari, Sp.B

NIP 19760719 200112 2 001

NIP 19830901 200801 2 012

Anggota II,

Anggota III,

dr. Ancah Caesarina Novi Marchianti, Ph.D.

dr. Heni Fatmawati, M.Kes,

Sp.Rad.

NIP 19820309 200812 2 002

NIP 19760212 200501 2 001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp.BA.

NIP 19730424 199903 1 002

## RINGKASAN

**Efek Jenis Vehicle Gel Fraksi Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa Lour*) pada Penyembuhan Luka Tikus Diabetes Berdasarkan Analisis Hidroksiprolin; Mizan Maulana, 152010101115; 2019; 108 Halaman; Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.**

Diabetes mellitus (DM) merupakan sebuah penyakit kronis yang ditandai dengan tingginya kadar gula dalam darah. Penyebabnya dapat berupa berkurangnya sekresi insulin, berkurangnya sensitivitas sel terhadap insulin dan bertambahnya produksi dari glukosa tubuh. Luka diabetik merupakan salah satu komplikasi kronis dari DM. Penyembuhan luka pada penderita DM akan memerlukan waktu yang lebih panjang jika dibandingkan dengan luka pada penderita non-DM. Hal tersebut disebabkan oleh hiperglikemia berkepanjangan yang dapat mengakibatkan penurunan angiogenesis, migrasi fibroblast dan produksi fibroblast yang terjadi bersama-sama dengan gangguan pembuluh darah dan gangguan saraf perifer serta risiko infeksi yang meningkat.

Salah satu tanaman obat lokal Indonesia yang ditemukan di Taman Nasional Meru Betiri dan berpotensi sebagai anti diabetes juga sebagai penyembuh luka ialah Bidara Upas (*Merremia mammosa Lour*). Di dalam tanaman tersebut terkandung senyawa glikosida resin berupa merremosida yang berperan sebagai antibakteri dan anti inflamasi, juga flavonoid sebagai antibakteri, anti inflamasi, dan antioksidan yang diperlukan dalam perawatan luka penderita DM.

Kondisi DM mempengaruhi seluruh fase penyembuhan luka dari fase inflamasi, proliferasi, remodeling. Umbi bidara upas diharapkan mampu memperbaiki kondisi luka diabetes pada fase inflamasi dan proliferasi. Gel fraksi umbi bidara upas memiliki zat aktif berupa glikosida resin dan flavon. Glikosida resin menghambat bakteri yang memperparah kerusakan jaringan dan menghambat peningkatan dari COX 1 dan 2. Flavon menstimulasi makrofag M2 untuk menghasilkan *growth factor* yang berfungsi meningkatkan sintesis kolagen oleh fibroblas dan menghambat peningkatan ROS dengan meningkatkan SOD, sebuah enzim yang berfungsi mereduksi ROS. Sediaan gel berfungsi menyediakan kondisi



yang ideal bagi fibroblas untuk migrasi dan proliferasi, juga meningkatkan debridemen autolitik. Aktivitas pada fase inflamasi diharapkan akan mempercepat transisi ke fase proliferasi, aktivitas pada fase proliferasi diharapkan meningkatkan kadar hidroksiprolin secara langsung.

Jenis dari penelitian ini menggunakan *quasi experimental laboratories* dengan rancangan *posttest only control group design*. Metode pengambilan sampel yang digunakan yakni *probability sampling* dengan metode *simple random sampling* dengan jumlah sampel sebanyak 20 ekor. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedik Hewan Coba Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Hewan coba penelitian ini ialah tikus wistar jantan dengan berat 150-200 gram yang dikelompokkan menjadi 5 kelompok. Kelompok tersebut terdiri atas kelompok kontrol negatif (K-) yang diberi aquades setiap 2 hari selama 10 hari, kelompok kontrol positif (K+) yang diberi obat topikal yang mengandung ekstrak plasenta dan neomisin setiap 2 hari selama 10 hari, serta 3 kelompok perlakuan (T1, T2, dan T3) yang diberi gel umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) dengan *vehicle* secara berturut-turut, HPMC, carbopol, CMC-Na, setiap 2 hari selama 10 hari. Perakuan diberikan secara topikal pada luka diabetik derajat 2 setiap hewan coba. Pada akhir penelitian tikus diterminasi dan diambil jaringan kulit yang mengalami luka diabetik, kemudian dilakukan pemeriksaan hidroksiprolin dengan menggunakan ELISA kit dan pembacaan dengan spektrofotometer 450nm.

Data yang didapat berupa kadar hidroksiprolin dengan satuan ng/ml. Hasil pengukuran rata-rata kadar hidroksiprolin dan standar deviasi tiap kelompok perlakuan adalah K(-)  $12,321 \pm 4,65$ ; K(+)  $29,085 \pm 8,34$ ; T1  $46,531 \pm 28,64$ ; T2  $25,296 \pm 7,11$ ; T3  $42,778 \pm 32,25$ . Hasil pengukuran kadar hidroksiprolin dianalisis dengan menggunakan *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan uji *post hoc Man Whitney*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa gel fraksi umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) memberikan efek berupa peningkatan kadar hidroksiprolin pada luka tikus diabetes derajat 2 ( $p < 0,05$ ). Perbedaan kadar hidroksi tiap kelompok perlakuan (T1-HPMC, T2-carbopol, dan T3-CMC Na) menunjukkan hasil yang tidak signifikan sehingga masing-masing *vehicle* dapat dipilih untuk formulasi gel fraksi umbi bidara upas.

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Efek Jenis Vehicle Gel Fraksi Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa Lour*) pada Penyembuhan Luka Tikus Diabetes Berdasarkan Analisis Hidroksiprolin". Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

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

1. dr. Supangat, M.Kes, Sp.BA, Ph.D selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Ancah Caesarina Novi Marchianti, Ph.D selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Heni Fatmawati, M.Kes., Sp.Rad. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga dalam proses penyusunan skripsi ini;
3. dr. Ulfa Elfiah, M.Kes, Sp.BP-RE (K) selaku Dosen Penguji Utama dan dr. Laksmi Indreswari, Sp.B selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si dan Bu Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si., Apt terimakasih atas bantuan yang diberikan selama penelitian;
5. Orang tua saya tercinta, Bapak Pien Suharyono dan Ibu Nur Solikha yang selalu memberikan bimbingan, kasih sayang, dan do'a tiada henti, serta pengorbanan yang dilakukan setiap waktu;
6. Kakak saya, Imaduddin Al Fikri dan adik saya, Ahmad Hafidz yang selalu memberikan saya semangat yang memotivasi saya;
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 kerja saya, Deuxy Ilma Wahyuliswari dan Nurin Kamila Suwandi Putri yang selalu memberikan bantuan, dukungan, serta semangat selama penelitian;
9. Sahabat-sahabat saya, Firman Herdiana, Ahmad Syaikudin, Saifan Rahmatullah, Muhammad Fikri Udin, Muhammad Rosyid Ridho, Cahyo Bagaskoro, Rangga Okta Sadewa, Nizar Fiska Bayu, Bima Setia Sandya Nugraha, Miftakhul Huda, Achmad Dana Firmanjaya, Eko Dakholal Firdaus, dan Achmad Noval Rilo Pambudi yang telah memberikan dukungan dan motivasi dalam penyelesaian skripsi ini;
10. Teman-teman saya, Haqiqotul Fikriyah, Gusfita Trisna Ayu Putri, Mutiara Aprilina Muttaqien, Adinningtyas Intansari, Astri Mutia, Azizah Mursyidati, Indah Permata Sari, Ika Aulia Kurniasari, Laila Rizqi Kurniawati, Fatihah Mardiana Kartika Dewi yang telah memberikan dukungan dan motivasi dalam penyelesaian skripsi ini;
11. Keluarga besar angkatan 2015 Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
12. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak sempurna, maka dari itu penulis menerima kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan karya tulis ilmiah ini. Semoga karya tulis ini dapat bermanfaat.

Jember, 27 Februari 2019

Penulis

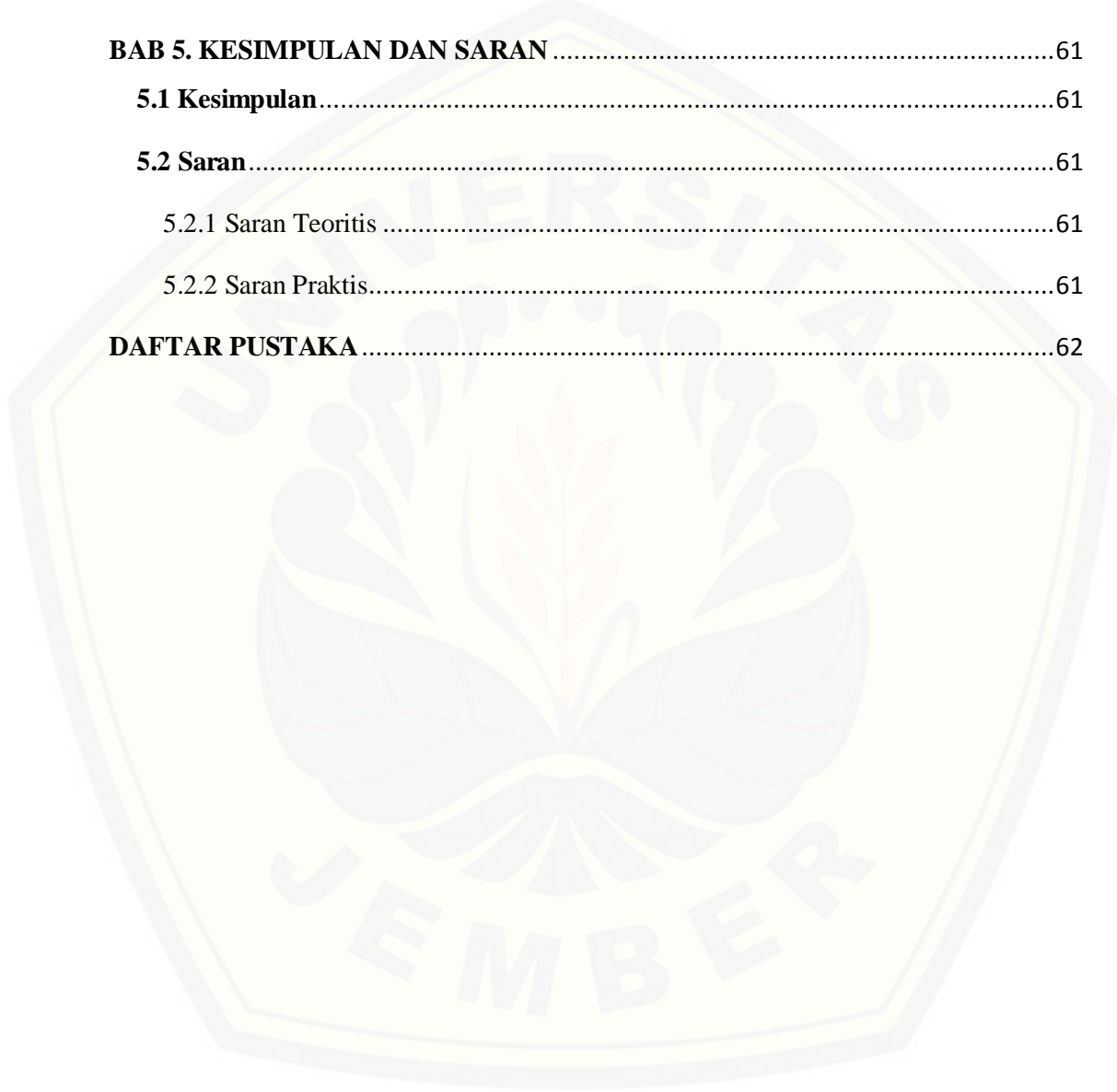
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
HALAMAN MOTO.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN.....	viii
PRAKATA.....	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah.....</b>	<b>4</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian.....</b>	<b>4</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian.....</b>	<b>5</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
<b>2.1 Umbi Bidara Upas (<i>Merremia mammosa Lour</i>).....</b>	<b>6</b>
2.1.1 Taksonomi.....	6
2.1.2 Kandungan Umbi Bidara Upas ( <i>Merremia mammosa Lour</i> ).....	6
<b>2.2 Diabetes Mellitus (DM).....</b>	<b>7</b>
<b>2.3 Model Tikus Diabetes.....</b>	<b>9</b>
<b>2.4 Penyembuhan Luka.....</b>	<b>10</b>
<b>2.5 Luka Diabetik.....</b>	<b>12</b>

2.5.1 Patofisiologi Luka Diabetik.....	12
2.5.2 Klasifikasi Luka Diabetik.....	13
2.5.3 Tatalaksana Luka Diabetik.....	15
<b>2.6 Hidroksiprolin .....</b>	<b>16</b>
<b>2.7 Ekstraksi .....</b>	<b>18</b>
<b>2.8 Fraksinasi .....</b>	<b>19</b>
2.8.1 Partisi Cair-Cair.....	20
2.8.2 Solid-Phase Extraction (SPE).....	20
2.8.3 Size-Exclusion Chromatography (SEC).....	21
2.8.4 Vacuum Liquid Chromatography (VLC).....	21
<b>2.9 Gel.....</b>	<b>21</b>
2.9.1 Vehicle/Gelling Agents.....	22
2.9.2 Formulasi dan Pembuatan Gel.....	24
2.9.3 Peran Sediaan Gel dalam Penyembuhan Luka .....	24
<b>2.10 Kerangka Teori .....</b>	<b>26</b>
<b>2.11 Kerangka Konsep .....</b>	<b>28</b>
<b>2.12 Hipotesis.....</b>	<b>29</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>30</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian .....</b>	<b>30</b>
<b>3.2 Rancangan Penelitian .....</b>	<b>30</b>
<b>3.3 Populasi dan Sampel .....</b>	<b>31</b>
3.3.1 Populasi.....	31
3.3.2 Sampel.....	31
3.3.3 Besar Sampel Penelitian.....	31
<b>3.4 Tempat dan Waktu Penelitian .....</b>	<b>33</b>
<b>3.5 Variabel Penelitian .....</b>	<b>33</b>

3.5.1 Variabel Bebas.....	33
3.5.2 Variabel Terikat.....	33
3.5.3 Variabel Terkendali .....	33
<b>3.6 Definisi Operasional .....</b>	<b>34</b>
<b>3.7 Alat dan Bahan .....</b>	<b>35</b>
3.7.1 Alat .....	35
3.7.2 Bahan.....	35
<b>3.8 Prosedur Penelitian .....</b>	<b>36</b>
3.8.1 Uji Kelayakan Etik .....	36
3.8.2 Pemilihan Hewan Coba.....	36
3.8.3 Adaptasi Hewan Coba.....	36
3.8.4 Induksi Hewan Coba.....	36
3.8.5 Pembagian Kelompok Perlakuan.....	37
3.8.6 Pembuatan Ekstrak .....	37
3.8.7 Pembuatan Fraksi .....	37
3.8.8 Pembuatan Gel.....	38
3.8.9 Pemeriksaan Kadar Glukosa .....	39
3.8.10 Pemberian Luka Eksisi.....	39
3.8.11 Pemberian Gel Fraksi Umbi Bidara Upas .....	40
3.8.12 Pengambilan Jaringan Kulit .....	40
3.8.13 Pengukuran Kadar Hidroksiprolin .....	40
<b>3.9 Metode Analisis Data.....</b>	<b>41</b>
<b>3.10 Alur Penelitian.....</b>	<b>42</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>45</b>
<b>4.1 Hasil dan Analisis Data .....</b>	<b>45</b>
4.1.1 Hasil Ekstraksi, Fraksinasi, dan Pembuatan Gel Fraksi Umbi Bidara Upas ....	45

4.1.2 Glukosa Darah.....	46
4.1.4 Kadar Hidroksiprolin.....	50
<b>4.2 Pembahasan.....</b>	<b>54</b>
<b>4.3 Keterbatasan Penelitian.....</b>	<b>60</b>
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>61</b>
<b>5.1 Kesimpulan.....</b>	<b>61</b>
<b>5.2 Saran.....</b>	<b>61</b>
5.2.1 Saran Teoritis.....	61
5.2.2 Saran Praktis.....	61
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>62</b>



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.3.1 Kategori hiperglikemia berdasarkan tingkat keparahan.....	8
2.3.2 Klasifikasi mekanisme induksi model hewan coba DM tipe 1.....	8
2.3.3 Klasifikasi mekanisme induksi model hewan coba DM tipe 2.....	9
2.5.1 Klasifikasi Wagner-Meggitt.....	12
2.5.2 Klasifikasi <i>University of Texas</i> .....	13
2.5.3 Klasifikasi PEDIS.....	13
3.1 Definisi Operasional.....	25
3.2 Pembagian Kelompok Perlakuan.....	27
3.3 Bahan Pembuatan Gel dari Fraksi Umbi Bidara Upas.....	29
4.1 Hasil pemeriksaan glukosa darah.....	44
4.2 Hasil uji normalitas data pemeriksaan glukosa darah dengan <i>Shapiro-Wilk</i> .....	45
4.3 Hasil uji homogenitas data pemeriksaan glukosa darah dengan <i>Levene's test</i> .....	45
4.4 Hasil uji <i>One Way ANOVA</i> pemeriksaan glukosa darah.....	46
4.5 Luka diabetik tikus.....	47
4.6 Hasil pemeriksaan kadar hidroksiprolin.....	49
4.7 Rerata kadar hidroksiprolin.....	49
4.8 Hasil uji normalitas kadar hidroksiprolin <i>Shapiro-Wilk</i> dan homogenitas <i>Levene's test</i> .....	50
4.9 Hasil uji <i>Kruskal-Wallis</i> kadar hidroksiprolin.....	51
4.10 Hasil uji <i>Post Hoc Mann-Whitney</i> kadar hidroksiprolin.....	51

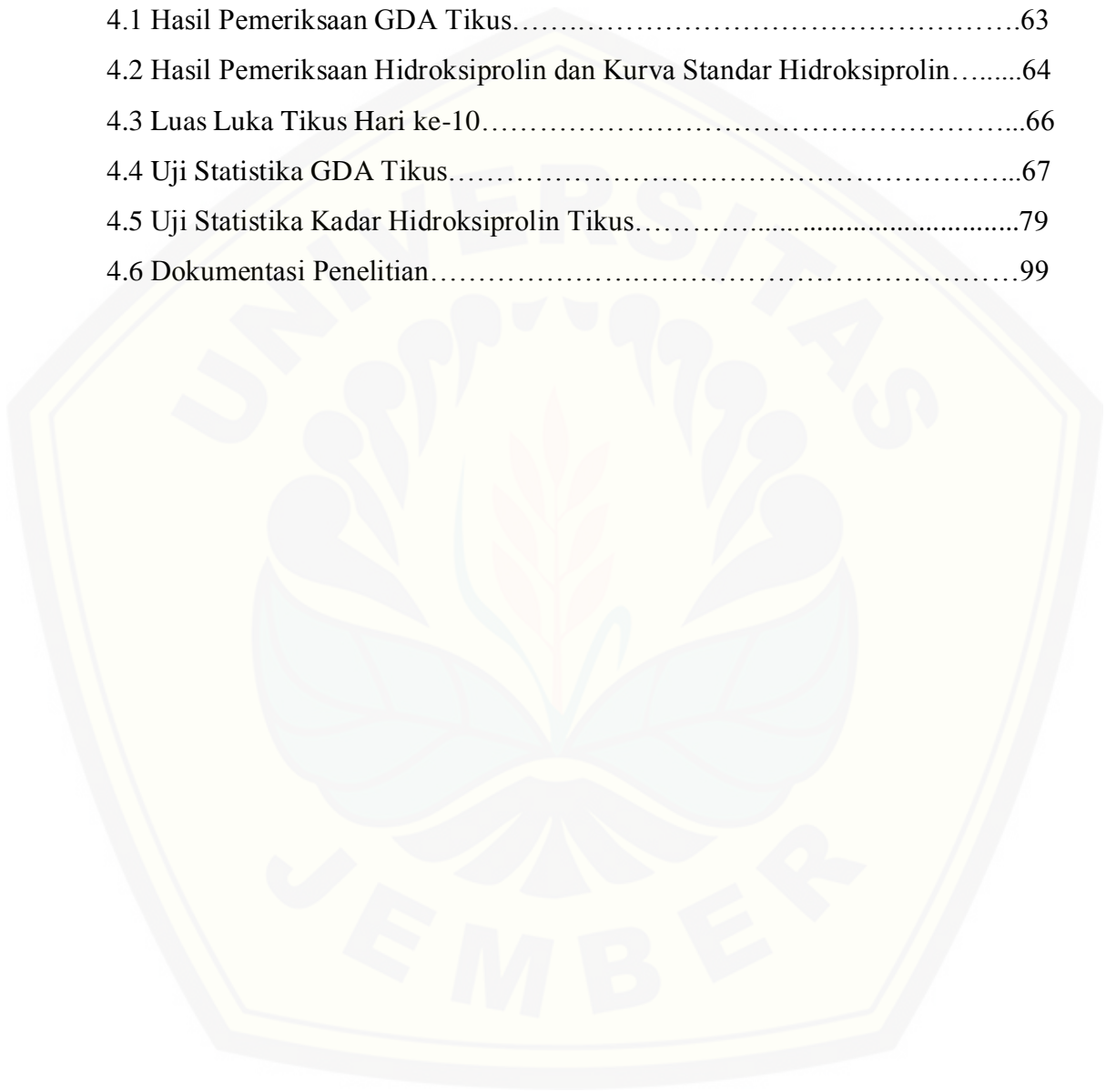


**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.5 Klasifikasi Wagner-Meggitt.....	12
2.6 Hubungan sintesis kolagen dengan daya regang jaringan.....	15
2.10 Kerangka Teori.....	18
2.11 Kerangka Konsep.....	19
3.1 Skema Rancangan Penelitian.....	21
3.2 Skema Proses Ekstraksi Umbi Bidara Upas.....	32
3.3 Skema Proses Fraksinasi Umbi Bidara Upas.....	33
3.4 Skema Prosedur Pembuatan Gel dari Fraksi Umbi Bidara Upas.....	34
3.5 Skema Perlakuan terhadap Tikus Diabetes.....	35
4.3 Kurva Standar Hidroksiprolin.....	48
4.4 Grafik Hasil Pemeriksaan Kadar Hidroksiprolin.....	50

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
3.1 Etik Penelitian.....	60
3.2 Rekomendasi Bebas Plagiasi.....	62
4.1 Hasil Pemeriksaan GDA Tikus.....	63
4.2 Hasil Pemeriksaan Hidroksiprolin dan Kurva Standar Hidroksiprolin.....	64
4.3 Luas Luka Tikus Hari ke-10.....	66
4.4 Uji Statistika GDA Tikus.....	67
4.5 Uji Statistika Kadar Hidroksiprolin Tikus.....	79
4.6 Dokumentasi Penelitian.....	99



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Diabetes mellitus (DM) merupakan sebuah penyakit kronis yang ditandai dengan tingginya kadar gula dalam darah atau hiperglikemi. Penyebabnya dapat berupa berkurangnya sekresi insulin, berkurangnya sensitivitas sel terhadap insulin dan bertambahnya produksi glukosa tubuh. Menurut WHO, pada tahun 2014 sebanyak 8.5% orang dewasa berusia 18 tahun ke atas di dunia menderita DM. Pada tahun 2015, DM telah menyebabkan kematian sebanyak 1,6 juta orang di dunia. Pada tahun 2013, diperkirakan ada sebanyak 12.191.564 penderita DM dengan usia 15 tahun ke atas di Indonesia. Sedangkan pada tahun 2014, DM dengan komplikasi merupakan penyebab kematian tertinggi ketiga di Indonesia. Selain itu persentase kematian akibat DM di Indonesia merupakan yang tertinggi kedua se-Asia Tenggara (Kementrian Kesehatan RI<sup>(a)</sup>, 2014; Kasper et al., 2015; WHO, 2016).

Selain dapat menyebabkan kematian, DM dapat menyebabkan beberapa komplikasi baik akut maupun kronik. Diperkirakan sebanyak 15% dari penderita DM mengalami ulkus diabetikum pada kaki. Bahkan menurut WHO, sebanyak 1.5 hingga 3.5 dari 1000 penderita DM mengalami amputasi dikarenakan gangren diabetik, suatu nekrosis atau kematian jaringan pada penderita DM karena berkurangnya aliran darah ke suatu jaringan. Hal tersebut dapat terjadi karena DM dapat menyebabkan gangguan pembuluh darah dan saraf. Kerusakan tersebut dapat menyebabkan berkurangnya aliran darah, yang jika terjadi bersamaan dengan kerusakan saraf (neuropati) berupa berkurangnya sensitivitas penderita DM terhadap rangsangan nyeri sehingga kewaspadaan terhadap benda yang dapat menyebabkan luka menurun yang nantinya dapat meningkatkan risiko terjadinya luka. Hiperglikemia juga menyebabkan penurunan sifat kemotaksis dan fagositosis neutrofil sehingga penderita DM lebih mudah mengalami infeksi (Tellechea et al, 2010; WHO, 2016).

Penyembuhan luka pada penderita DM akan memerlukan waktu yang lebih panjang jika dibandingkan dengan luka pada penderita non-DM. Hal tersebut disebabkan oleh hiperglikemia berkepanjangan yang dapat mengakibatkan

penurunan angiogenesis, migrasi fibroblast dan produksi fibroblast yang terjadi bersama-sama dengan gangguan pembuluh darah dan gangguan saraf perifer (neuropati). Komponen otonom dari neuropati akan menyebabkan terjadinya anhidrosis yang berujung pada kulit kering yang menyebabkan menurunnya fungsi *barrier*. Luka pada penderita DM yang tidak segera diobati dan dirawat, akan mudah terinfeksi bakteri yang nantinya dapat menyebabkan gangren diabetik (Tellechea et al, 2010; Caskey et al., 2014; Onkonkwo dan DiPietro, 2017)

Perawatan luka pada penderita DM dilakukan dengan tujuan untuk mencegah terjadinya infeksi, mempercepat penyembuhan, dan menurunkan risiko amputasi. Manajemen dari luka diabetik dapat dilakukan dengan cara mengontrol kadar glukosa darah, *offloading*, peningkatan perfusi oksigen ke jaringan, dan melakukan perawatan luka yang meliputi debridemen, penanganan infeksi serta kontrol kelembaban luka menggunakan *dressing*. Kelembaban luka dapat mempercepat penyembuhan luka melalui peningkatan dari proliferasi sel, sintesis matriks ekstraseluler, serta retensi *growth factor* pada area luka dan debridemen autolitik yang optimal (Ousey, 2016; Powers et al., 2016).

Salah satu tanaman obat lokal Indonesia yang ditemukan di Taman Nasional Meru Betiri dan berpotensi sebagai anti diabetes juga sebagai penyembuh luka ialah Bidara Upas (*Merremia mammosa Lour*). Di dalam tanaman tersebut terkandung senyawa glikosida resin berupa merremosida yang berperan sebagai antibakteri dan anti inflamasi, juga flavonoid sebagai antibakteri, anti inflamasi, dan antioksidan yang diperlukan dalam perawatan luka penderita DM. Kandungan tersebut dapat menetralsir radikal bebas, mengaktivasi makrofag untuk menghasilkan ROI (*Reactive Oxygen Intermediates*) yang berfungsi sebagai penghancur mikroba, dan meningkatkan sintesis kolagen yang berperan sebagai matriks ekstraseluler dalam penyembuhan luka (Pereda-Miranda et al., 2010; Farizal, 2012; Sofiana et al., 2015; Ratnadewi et al., 2018).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Sakinah et al. (2018) bahan yang diteliti merupakan fraksi air, etil asetat, dan n-heksana dari ekstrak etanol umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*). Pada penelitian tersebut didapatkan fraksi air memberikan hasil yang paling berpengaruh terhadap penyembuhan yang dilihat

dari proses penyembuhan luka dan luas luka tikus DM. Hal tersebut juga didukung penelitian yang dilakukan oleh Prameswari (2017) yang membuktikan bahwa fraksi air ekstrak etanol umbi bidara upas paling berpengaruh terhadap kepadatan kolagen luka tikus DM dibandingkan fraksi etil asetat dan heksana. Fraksinasi dari ekstrak tersebut dilakukan untuk memisahkan senyawa dengan sifat kepolaran pelarut sehingga diharapkan proses fraksinasi dapat menurunkan jumlah bahan non aktif pada ekstrak dan mengurangi efek yang tidak diinginkan. Namun suatu obat yang tidak memiliki zat pembawa akan lebih mudah terdegradasi baik secara fisik (suhu) maupun kimiawi sehingga tidak dapat terabsorpsi dengan maksimal dan berfungsi sebagaimana yang diinginkan (Andronesco, 2017).

Peneliti ingin melanjutkan penelitian tersebut dengan menjadikan fraksi air dari ekstrak etanol umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) dalam bentuk sediaan gel dengan tiga jenis zat pembawa (*vehicle*) yang berbeda yakni natrium *carboxymethyl cellulose* (CMC-Na), *hydroxypropymethyl cellulose* (HPMC), dan carbopol dengan melihat pengaruhnya terhadap kadar hidroksiprolin. Gel dalam hal ini selain berperan sebagai zat pembawa yang melindungi bahan aktif agar tidak terdegradasi, juga menyediakan lingkungan yang lembab bagi kulit, yang mana kelembaban kulit tersebut selain meningkatkan epitelisasi, proliferasi sel, sintesis matriks ekstraseluler, serta retensi *growth factor* pada area luka dan debridemen autolitik yang optimal, juga mempermudah absorpsi perkutan. Sedangkan pemeriksaan kadar hidroksiprolin dipilih karena zat ini merupakan asam amino penyusun kolagen tipe 1 yang menyusun sebagian besar matriks ekstraseluler sehingga dapat menggambarkan proses penyembuhan luka secara kuantitatif (Ousey et al., 2016; Stoilov et al., 2017; Rodwell et al., 2018).

Berdasarkan hal tersebut maka peneliti ingin mengetahui efek gel fraksi umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) terhadap penyembuhan luka pada tikus diabetes berdasarkan analisis hidroksiprolin.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, rumusan masalah dari penelitian ini yakni dari apakah gel fraksi umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) dengan *vehicle* HPMC, carbopol, dan CMC-Na memberikan efek pada penyembuhan luka tikus diabetes berdasarkan analisis hidroksiprolin?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Khusus

Tujuan umum penelitian ini yakni untuk mengetahui efek gel fraksi umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) dengan *vehicle* HPMC, carbopol, dan CMC-Na pada penyembuhan luka tikus diabetes berdasarkan analisis hidroksiprolin

### 1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mengetahui efek gel HPMC fraksi umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) pada penyembuhan luka tikus diabetes berdasarkan analisis hidroksiprolin
- b. Mengetahui efek gel carbopol fraksi umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) pada penyembuhan luka tikus diabetes berdasarkan analisis hidroksiprolin
- c. Mengetahui efek gel CMC-Na fraksi umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) pada penyembuhan luka tikus diabetes berdasarkan analisis hidroksiprolin
- d. Mengetahui *vehicle* yang memberikan efek paling baik pada penyembuhan luka tikus diabetes berdasarkan analisis hidroksiprolin

#### 1.4 Manfaat Penelitian

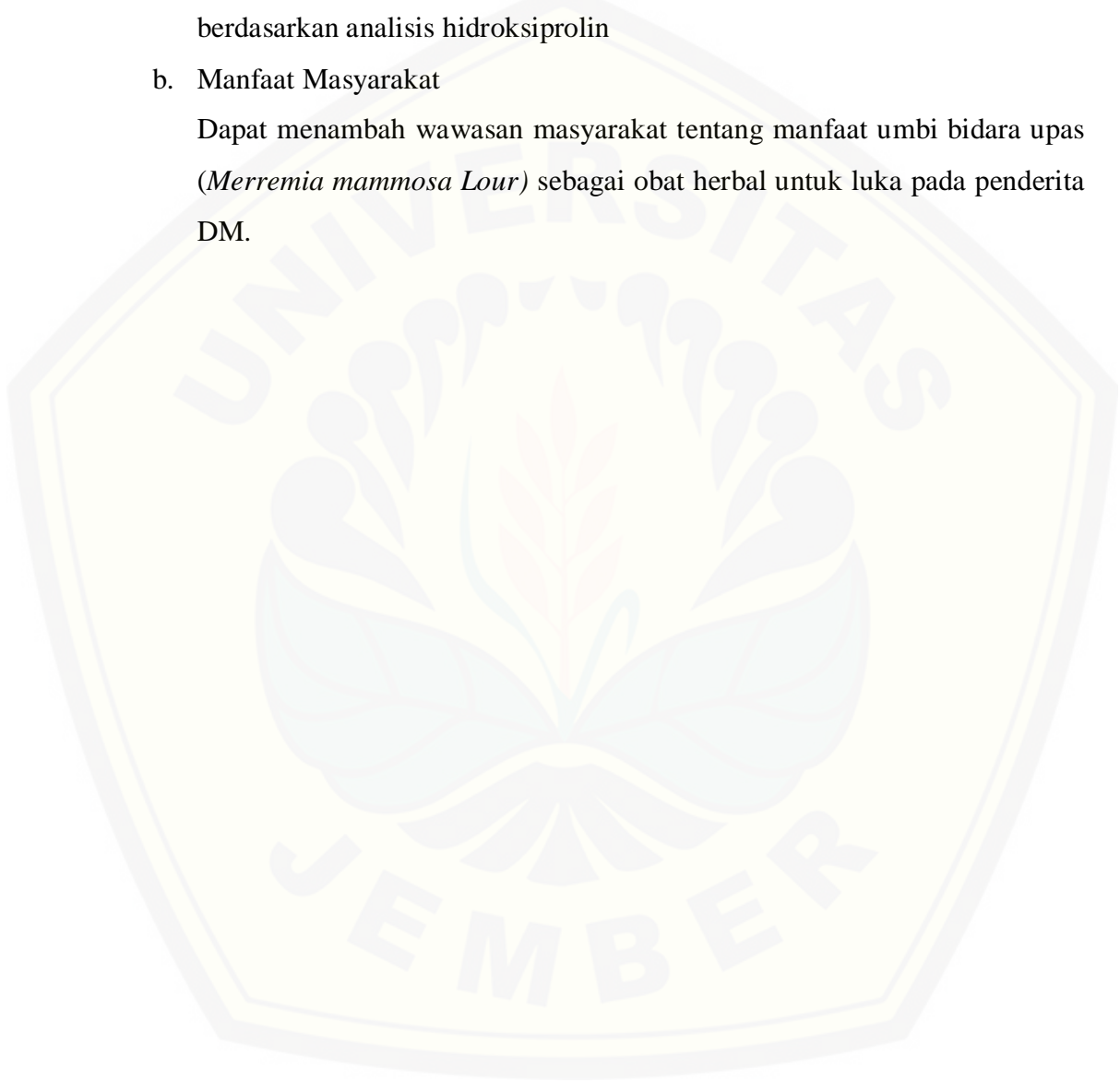
Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

a. Manfaat Keilmuan

Sebagai informasi ilmiah mengenai efek gel fraksi umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) pada penyembuhan luka tikus hiperglikemi berdasarkan analisis hidroksiprolin

b. Manfaat Masyarakat

Dapat menambah wawasan masyarakat tentang manfaat umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) sebagai obat herbal untuk luka pada penderita DM.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa Lour*)

#### 2.1.1 Taksonomi

Klasifikasi dari tumbuhan umbi bidara upas adalah sebagai berikut:

(Plantamor, 2018)

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spematophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Asteridae
Ordo	: Solanales
Famili	: Convolvulaceae
Genus	: <i>Merremia</i>
Spesies	: <i>Merremia mammosa Lour.</i>

#### 2.1.2 Kandungan Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa Lour*)

Umbi bidara upas diketahui mengandung senyawa yang diperlukan untuk penyembuhan luka pada penderita diabetes yaitu flavonoid dan glikosida resin. Kandungan flavonoid dapat berperan sebagai antiinflamasi dan antioksidan. Flavonoid sebagai antiinflamasi akan merangsang makrofag M2 untuk menghasilkan *growth factor* dan sitokin seperti EGF, TGF- $\beta$ , IL-1, IL-4, dan IL-8. Fungsi flavonoid sebagai antioksidan akan menetralkan radikal bebas yang dihasilkan oleh neutrofil dan makrofag M2 yang dapat menghambat migrasi dan proliferasi berbagai tipe sel sehingga akan mempercepat fase inflamasi dan memicu terjadinya proliferasi, selanjutnya dapat meningkatkan sintesis kolagen oleh fibroblas yang akan berperan dalam penutupan luka. Flavonoid sebagai antibakteri sudah terbukti efektif pada beberapa bakteri seperti *E. coli*, *S. typhurium*, *S. epidermis*, dan *S. aureus*. Sedangkan peran glikosida resin sebagai antibakteri dapat menghambat pompa efluks pada bakteri sehingga suatu zat aktif (antibiotik) yang



diberikan pada suatu bakteri dapat bekerja efektif dan sebagai antiinflamasi dapat menghambat enzim siklooksigenasi (COX) yang memulai kaskade inflamasi (Chérigo et al, 2008; Pereda-Miranda et al., 2010; Yoshikawa et al, 2010; Farizal, 2012; Xie et al, 2014; Hidayat et al., 2015).

Beberapa penelitian tentang potensi umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri, telah dilakukan seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Mazni (2008) membuktikan ekstrak etanol umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) dapat menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, Diwasacri (2012) membuktikan fraksi ekstrak metanol umbi bidara upas dapat menghambat *Mycobacterium tuberculosis*, Farizal (2012) yang membuktikan ekstrak etanol umbi bidara upas dan lubis yang menggunakan ekstrak etil asetat umbi bidara upas dapat menghambat *Salmonella typhi*. Sedangkan penelitian tentang potensi umbi bidara upas pada proses penyembuhan luka dibuktikan pada penelitian yang dilakukan oleh Julianto (2015) dan Sofiana et al. (2015) bahwa ekstrak etanol umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) dapat mempercepat penyembuhan luka pada penderita diabetes dan meningkatkan proliferasi fibroblas.

## 2.2 Diabetes Mellitus (DM)

Diabetes mellitus (DM) merupakan sebuah penyakit kronis yang ditandai dengan tingginya kadar gula dalam darah atau hiperglikemi. Penyebabnya dapat berupa berkurangnya sekresi insulin, berkurangnya sensitivitas sel terhadap insulin dan bertambahnya produksi dari glukosa tubuh (Kasper et al., 2015). Menurut American Diabetes Association (ADA) tahun 2018, terdapat 4 jenis klasifikasi DM yaitu:

1. DM tipe 1 yaitu adanya destruksi pada sel  $\beta$  pankreas yang disebabkan oleh penyakit autoimun sehingga menyebabkan defisiensi insulin absolut
2. DM tipe 2 yaitu berkurangnya sekresi insulin yang progresif yang disebabkan resistensi insulin
3. DM Gestasional atau diabetes dalam kehamilan, terjadi karena peningkatan sekresi berbagai hormon yang mempunyai efek metabolic

terhadap toleransi glukosa. Umumnya terjadi pada trimester kedua atau ketiga

4. DM tipe lain yakni penderita yang mengalami hiperglikemia karena kelainan genetik fungsi sel  $\beta$  pankreas, kelainan genetik kerja insulin, endokrinopati, pengaruh obat/zat kimia, serta sindroma genetik lain seperti sindrom Down, Klinefelter, Turner dan sebagainya

Diagnosis DM ditegakkan atas dasar pemeriksaan kadar glukosa darah. Pemantauan hasil pengobatan dapat dilakukan dengan glukometer. Diagnosis tidak dapat ditegakkan atas dasar adanya glukosuria. Berbagai keluhan dapat ditemukan pada penderita DM. Kecurigaan adanya DM perlu dipikirkan apabila terdapat keluhan seperti:

- a. Keluhan klasik DM: poliuria, polidipsia, polifagia, dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan penyebabnya.
- b. Keluhan lain: lemah badan, kesemutan, gatal, penglihatan kabur, dan disfungsi ereksi pada pria, serta pruritus vulva pada wanita.

Diagnosis DM juga dapat ditegakkan melalui beberapa kriteria meliputi:

1. Pemeriksaan glukosa plasma puasa  $\geq 126$  mg/dl. Yang dimaksud puasa adalah kondisi tidak ada asupan kalori minimal 8 jam.
2. Pemeriksaan glukosa plasma  $\geq 200$  mg/dl 2-jam setelah Tes Toleransi Glukosa Oral (TTGO) dengan beban glukosa 72 gram.
3. Pemeriksaan glukosa plasma sewaktu  $\geq 200$  mg/dl dengan keluhan klasik.
4. Pemeriksaan HbA1c  $\geq 6,2\%$  dengan menggunakan metode yang terstandarisasi oleh *National Glycohaemoglobin Standardization Program* (NGSP)(PERKENI, 2015).

### 2.3 Model Tikus Diabetes

Tikus percobaan dapat dikatakan DM apabila mengalami hiperglikemia. Kategori hiperglikemia berdasarkan tingkat keparahan ditunjukkan oleh Tabel 2.3.1.

Tabel 2.3.1 Kategori hiperglikemia berdasarkan tingkat keparahan

Kategori	Kadar Glukosa Darah
Normal	<200 mg/dL
Mild	200 mg/dL-300 mg/dL
Moderate	300 mg/dL-400 mg/dL
Severe	>400 mg/dL

(Sumber: Nakahara et al., 2013)

Terdapat 2 jenis tikus DM, yaitu DM tipe 1 dan 2. Karakteristik utama DM tipe 1 yakni kerusakan sel  $\beta$  pankreas dikarenakan autoimun yang menyebabkan kurangnya produksi insulin. Pada model hewan coba, defisiensi produksi insulin tersebut dapat dicapai dengan berbagai mekanisme, dari ablasi kimia sel  $\beta$  pankreas hingga biakan tikus yang secara spontan memiliki diabetes autoimun. Model tikus DM tipe 1 yang umum digunakan terdapat pada Tabel 2.3.2.

Tabel 2.3.2 Klasifikasi mekanisme induksi model hewan coba DM tipe 1

Mekanisme Induksi	Model
Induksi kimia	Streptozotocin dosis tinggi
	Alloxan
	Streptozotocin dosis rendah multipel
Autoimun spontan	mencit NOD tikus BB
Induksi genetik	mencit AKITA
Induksi virus	virus Coxackie B

(Sumber: King, 2012)

Karakteristik utama DM tipe 2 yakni resistensi insulin dan ketidakmampuan sel  $\beta$  pankreas untuk mengkompensasi. Model hewan coba akan memiliki sifat resistensi insulin dan/atau kegagalan sel  $\beta$  pankreas. Umumnya model tikus DM tipe 2 mengalami obesitas. Model tikus DM tipe 2 yang umum digunakan terdapat pada Tabel 2.3.3.

Tabel 2.3.3 Klasifikasi mekanisme induksi model hewan coba DM tipe 2

Mekanisme Induksi	Model
Model obesitas (monogenik)	mencit Lep <sup>ab/ab</sup> mencit Lep <sup>db/db</sup>
Model obesitas (poligenik)	mencit KK tikus OLETF
Induksi obesitas	mencit/tikus <i>high fat feeding</i> <i>Desert gerbil</i>
Model non obesitas	tikus GK
Induksi genetik	mencit hIAPP

(Sumber: King, 2012)

#### 2.4 Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka merupakan suatu proses yang tersusun atas reaksi molekuler dan seluler yang berawal dari suatu lesi dengan tujuan untuk memulihkan jaringan yang rusak. Proses tersebut terjadi secara dinamis dan berurutan sehingga suatu gangguan, penyimpangan ataupun pemanjangan dari suatu fase akan menyebabkan penyembuhan luka yang lebih lama atau luka kronis. Penyembuhan luka meliputi empat fase yang berurutan, yakni hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan *remodeling* atau resolusi (Guo dan DiPietro, 2010).

Fase hemostasis memiliki tujuan untuk mencegah invasi mikroorganisme dan mempertahankan integritas matriks ekstrasel untuk migrasi sel sel inflamasi maupun fibroblas. Fase ini dimulai tepat setelah terjadinya luka, dengan konstriksi vaskuler dan pembentukan *fibrin clot* oleh trombosit dan fibrin. *Clot* dan jaringan yang rusak tersebut melepaskan sitokin proinflamasi dan beberapa *growth factor* seperti *transforming growth factor* (TGF)- $\beta$ , *platelet-derived growth factor* (PDGF), *fibroblast growth factor* (FGF), dan *epidermal growth factor* (EGF). Sitokin dan *growth factor* tersebut akan menstimulasi sel epitel dan fibroblas serta meningkatkan rekrutmen neutrofil dan monosit pada lokasi luka untuk menginisiasi fase inflamasi (Guo dan DiPietro, 2010).

Fase inflamasi memiliki peran penting untuk membunuh organisme patogen dan membersihkan debris sel. Fase ini diawali dengan influks dari leukosit pada

daerah lesi, terutama neutrofil dalam waktu kurang dari satu jam setelah terjadinya lesi. Neutrofil menghasilkan zat antimikroba seperti *reactive oxygen species* (ROS), peptida kationik dan protease pada lokasi lesi serta berbagai sitokin proinflamasi seperti IL-1 (*interleukin-1*), TNF- $\alpha$  (*tumor necrosis factor alpha*), dan IFN- $\gamma$  (*interferon gamma*). Pada 48 jam setelah lesi, monosit mulai bermigrasi dari pembuluh darah lokal dan menginfiltrasi area lesi kemudian berdiferensiasi menjadi makrofag yang berperan sebagai pengenalan antigen dan membantu neutrofil dalam fagositosis. Ada 2 jenis makrofag yang bermigrasi, yakni makrofag proinflamasi (M1) dan makrofag anti inflamasi dan proangiogenik (M2). M2 tersebut menghasilkan *growth factor* seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF), *transforming growth factor* (TGF- $\beta$ ), *fibroblast growth factor* (FGF) dan *vascular endothelial growth factor* (VEGF) yang memicu proliferasi dari jaringan baru pada lokasi lesi untuk membentuk jaringan granulasi (Guo dan DiPietro, 2010; Gonzales et al., 2016).

Fase proliferaatif bertujuan untuk memperkecil area lesi dengan kontraksi dan fibroplasia. Fase ini tersusun atas beberapa proses, yakni angiogenesis, pembentukan jaringan granulasi, kontraksi luka, dan reepitelisasi yang terjadi pada 48 jam hingga hari ke 14 setelah lesi. Angiogenesis merupakan proses yang meliputi proliferasi sel endotel, ruptur, dan penyusunan kembali membran basal, serta rekrutmen sel-sel perivaskuler. Pembentukan pembuluh darah yang mencakup produksi pembuluh kolateral melalui 2 mekanisme, yakni germinasi dan divisi sel. Pleksus vaskuler yang dihasilkan kemudian mengalami diferensiasi menjadi pembuluh darah besar ataupun kecil. Lalu lapisan endotel diisi oleh sel sel aksesoris dan otot polos. Vaskuler baru terbentuk tersebut sudah dapat berfungsi sebagai media transportasi cairan, oksigen, nutrisi, maupun sel imunitas ke dalam stroma. Pembentukan jaringan granulasi, yang dimulai pada hari ke 4 setelah lesi, ditandai dengan proliferasi fibroblas, sel yang berperan dalam deposisi matriks ekstrasel. Sel fibroblas kemudian direkrut dari lapisan dermis dari batas lesi untuk mensintesis kolagen dan elastin, komponen utama jaringan ikat matur. Kontraksi luka juga dilakukan oleh sel fibroblas yang mengandung banyak sel otot, yakni myofibroblas yang terakumulasi pada tepi lesi sehingga melakukan kontraksi yang mengarah dari

tepi lesi ke tengah. Kemudian dilanjutkan dengan proses reepitelisasi, suatu proses proliferasi dan migrasi oleh sel keratinosit yang diawali dari tepi luka yang bertujuan untuk menutup luka tersebut (Gonzales et al., 2016).

Fase terakhir dari penyembuhan luka ialah fase resolusi, yang dimulai pada hari ke 14 hingga 21 setelah lesi. Tujuan dari fase ini yakni untuk mencapai kekuatan tegang jaringan yang maksimal melalui reorganisasi, degradasi, dan resintesis matriks ekstraseluler. Fase ini ditandai dengan pematangan dari substansi matriks ekstraseluler dan resolusi dari fase inflamasi. Dengan penutupan luka, substansi awal matriks ekstraseluler (kolagen tipe III) mengalami degradasi, sedangkan sintesis kolagen tipe I bertambah. Serabut kolagen akan lebih tebal dan tersusun paralel sehingga memberikan kekuatan tegang yang maksimal. Fase ini diregulasi oleh sitokin anti inflamasi (IL-10 dan TGF- $\beta$ 1) dan regulator sintesis kolagen (TGF- $\beta$ 1 dan FGF) (Gonzales et al., 2016).

## **2.5 Luka Diabetik**

Luka diabetik merupakan suatu komplikasi DM berupa ulserasi disertai/tidak disertai dengan infeksi yang berhubungan dengan abnormalitas neurologis dan penyakit arteri perifer. Lama waktu penyembuhan luka pada pasien DM menyebabkan tingginya risiko amputasi yang dapat mempengaruhi kualitas hidup pasien dan meningkatkan morbiditas (Katsilambros et al, 2010).

### **2.5.1 Patofisiologi Luka Diabetik**

Lama waktu penyembuhan luka pada penderita DM melibatkan berbagai mekanisme seperti peningkatan ROS hingga terjadi stress oksidatif, disfungsi keratinosit dan fibroblas, peningkatan MMP, penurunan angiogenesis, menurunnya imunitas tubuh, dan neuropati. Kondisi hiperglikemia menyebabkan terbentuknya *advance glycation end-product* (AGE) yang dapat meningkatkan stres oksidatif sehingga produksi ROS pada jaringan melebihi kapasitas antioksidan. Oksigen reaktif tersebut akan menghambat migrasi dan proliferasi sel sehingga fase inflamasi akan sulit untuk dilanjutkan ke fase proliferasi. Disfungsi keratinosit menyebabkan gangguan proses epitelisasi sedangkan disfungsi fibroblas

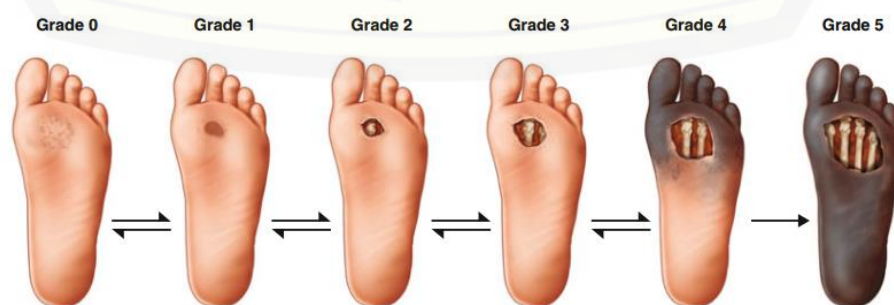
menyebabkan gangguan pada produksi matriks ekstraseluler dan kontraksi luka. Aktivitas *matrix metalloproteinase* (MMP), enzim yang mendegradasi matriks ekstraseluler, meningkat pada penderita DM sehingga sintesis matriks ekstraseluler menjadi tidak efektif. Ekspresi *vascular endothelial growth factor* (VEGF) yang menginduksi angiogenesis menurun pada penderita DM sehingga terjadi gangguan pada neovaskularisasi yang berperan dalam transportasi nutrisi dan oksigen serta migrasi sel fibroblas dan sel imun. Menurunnya imunitas tubuh disebabkan oleh hiperglikemia yang menghambat sifat kemotaksis dan fagositosis dari neutrofil dan makrofag sehingga rentan terjadi infeksi yang akan memperpanjang fase inflamasi. (McLennan, 2006; Guo, 2010; Caskey et al., 2014; Onkonkwo, 2017).

### 2.5.2 Klasifikasi Luka Diabetik

Pada dasarnya sebuah luka diabetik dikatakan “luka neuropatik” apabila terdapat neuropati tetapi tidak ditemukan iskemia, dan dikatakan “luka iskemik” apabila terjadi karena iskemia namun tidak terdapat neuropati serta dikatakan “neuro-iskemik” jika terdapat neuropati bersamaan dengan iskemia. Namun klasifikasi tersebut hanya merupakan klasifikasi kasar untuk evaluasi awal. Berbagai klasifikasi telah dikembangkan baik untuk keperluan klinis maupun penelitian yang mengategorikan luka diabetik berdasarkan ukuran dan kedalaman, lokasi, serta ada atau tidaknya infeksi dan iskemia (Katsilambros et al, 2010).

#### a. Klasifikasi Wagner-Meggitt

Klasifikasi Wagner-Meggitt dapat dilihat pada Tabel 2.5.1 berikut. Penampakan luka diabetik berdasarkan klasifikasi Wagner-Meggitt dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.5 Klasifikasi Wagner-Meggitt

Tabel 2.5.1 Klasifikasi Wagner-Meggitt

<i>Grade</i>	Luka diabetik
<i>Grade 0</i>	Luka tertutup atau selulitis
<i>Grade 1</i>	Luka superfisial terbatas hingga dermis belum mencapai subkutan
<i>Grade 2</i>	Luka dalam sampai tendon dan jaringan persendian tanpa osteomyelitis atau abses
<i>Grade 3</i>	Luka dalam dengan osteomyelitis atau abses
<i>Grade 4</i>	Gangren lokal
<i>Grade 5</i>	Gangren luas

(sumber: Katsilambros et al, 2010)

b. Klasifikasi *University of Texas*

Klasifikasi ini merupakan modifikasi dari klasifikasi Wagner. Klasifikasi *University of Texas* dapat dilihat dalam Tabel 2.5.2 berikut.

Tabel 2.5.2 Klasifikasi *University of Texas*

<i>Stage</i>	<i>Grades</i>			
	0	1	2	3
A	Pre atau post luka diabetik yang telah sembuh	Luka superfisial tanpa melibatkan tulang	Luka terbuka hingga tendon atau kapsul sendi	Luka terbuka hingga tulang atau sendi
B	Luka dengan infeksi	Luka dengan infeksi	Luka dengan infeksi	Luka dengan infeksi
C	Luka dengan iskemia	Luka dengan iskemia	Luka dengan iskemia	Luka dengan iskemia
D	Luka dengan infeksi dan iskemia	Luka dengan infeksi dan iskemia	Luka dengan infeksi dan iskemia	Luka dengan infeksi dan iskemia

(sumber: Katsilambros et al, 2010)



### c. Klasifikasi PEDIS

Klasifikasi ini diajukan oleh *International Working Group on the Diabetic Foot*. Klasifikasi PEDIS dapat dilihat dalam Tabel 2.5.3 berikut.

Tabel 2.5.3 Klasifikasi PEDIS

Penurunan Perfusi	1= tidak ada 2= kerusakan arteri perifer ringan 3= iskemik
Ukuran/Kedalaman	1= <i>full-thickness</i> superfisial, mencapai dermis 2= ulser dalam, melebihi dermis, struktur subkutan, fasia, otot dan tendon 3= seluruh lapisan hingga otot dan atau sendi
Infeksi	1= tidak ada infeksi 2= infeksi pada kulit dan jaringan subkutan 3= eritema >2cm atau infeksi yang melibatkan struktur subkutan tanpa respon imun sistemik 4= infeksi dengan manifestasi sistemik: demam, leukositosis, hipotensi
Penurunan Sensasi	1= tidak ada 2= ada

(sumber: Katsilambros et al, 2010)

### 2.5.3 Tatalaksana Luka Diabetik

Tatalaksana luka diabetik dapat dilakukan dengan debridemen, *offloading*, *dressing*, pemberian antibiotik, dan kontrol glukosa darah.

a. Debridemen, atau pengangkatan debris dan jaringan nekrotik pada luka, merupakan langkah awal pada tatalaksana luka diabetik. Fungsi dari debridemen yaitu menjaga fase granulasi *wound bed* dan stimulasi dari *growth factor*. Beberapa jenis debridemen yang dapat dilakukan antara lain, debridemen *surgical*, debridemen enzimatis, dan debridemen mekanik (Amin dan Doupis, 2016).

b. *Offloading*, atau mengurangi tekanan, dilakukan untuk memperbaiki tekanan abnormal jika luka berada pada kaki sehingga perfusi membaik. Istirahat di tempat tidur dengan pelindung tumit yang memadai adalah metode yang paling efektif untuk mengurangi tekanan di kaki. Tetapi hal tersebut tidak praktis ketika pasien harus berjalan sehingga *ambulatory offloading* harus digunakan. Beberapa jenis *ambulatory offloading* yang dapat

digunakan yaitu *total contact casting (TCC)*, *short leg walkers*, *half shoes*, dan *felted foam dressing* (Goyal, 2014; Amin dan Doupis, 2016).

c. *Dressing*, atau penutup luka, dibutuhkan untuk melindungi luka dari trauma, menyerap eksudat, mencegah infeksi dan mempercepat penyembuhan. Beberapa jenis dressing yang tersedia meliputi *alginates*, *foams*, *hydrocolloids*, *hydrogels*, dan *silver-impregnated dressings* (Goyal, 2014).

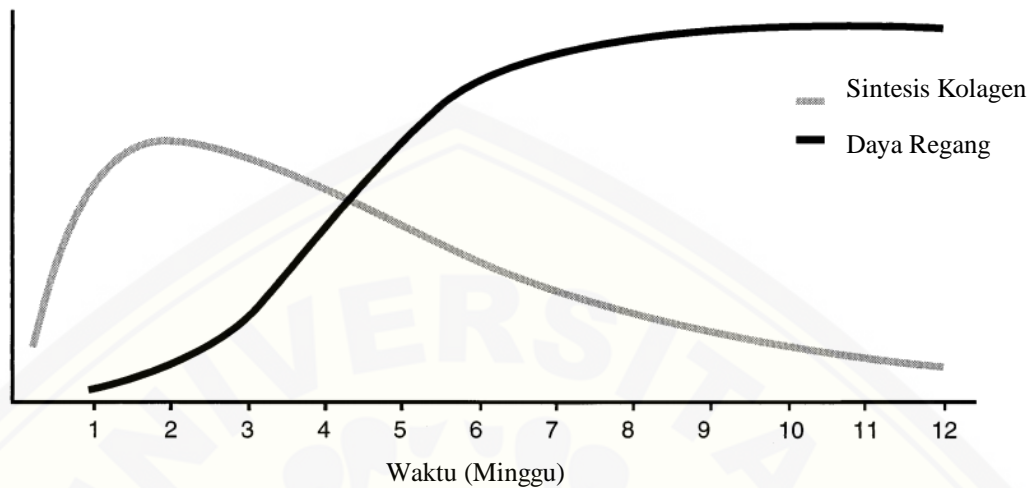
d. Antibiotik dibutuhkan karena luka diabetik sangat rentan terhadap kejadian infeksi yang memperpanjang fase inflamasi sehingga menghambat penyembuhan luka. Antibiotik dapat diberikan secara tunggal ataupun dikombinasikan dengan *dressing*. Antibiotik empiris yang efektif dalam sediaan topikal antara lain neomisin, gentamisin, dan mupirosin. (Amin dan Doupis, 2016).

f. Kontrol glukosa darah merupakan suatu faktor penting dalam penyembuhan luka diabetik. Indikator terbaik dari kontrol glukosa darah yakni tingkat HbA1C. Uji tersebut menggambarkan rerata konsentrasi glukosa selama 90 hari pada sel darah merah. Peningkatan HbA1C lebih dari 12% berhubungan erat dengan penurunan fungsi neutrofil termasuk sifat kemotaksis sehingga semakin tinggi kadar glukosa darah maka respon imun akan semakin menurun. Sebaliknya, penurunan HbA1C sebanyak 1 % berhubungan erat dengan penurunan risiko komplikasi mikrovaskuler, termasuk neuropati, sebanyak 25% (Yazdanpanah 2015).

## 2.6 Hidroksiprolin

Hidroksiprolin merupakan asam amino penanda dari serabut kolagen dan menyusun 13.2% dari protein tersebut. Asam amino tersebut terbentuk dari oksidasi karbon pada posisi gamma dari cincin prolin yang dikatalisis oleh enzim prolin hidroksilase yang menggunakan asam askorbat (vitamin C) sebagai kofaktor. Sering kali hidroksiprolin ditemukan pada posisi Y dari susunan Gly-X-Y kolagen serta berfungsi menstabilkan *triple helix* kolagen dengan membentuk ikatan hidrogen dengan rantai alfa yang berdekatan (Rodwell et al., 2018). Asam amino tersebut melalui tahapan transkripsi, translasi, hidroksilasi, glikosilasi, asosiasi

rantai, formasi heliks, sekresi, hingga akhirnya polimerisasi serta *crosslink* dan terbentuklah serabut-serabut kolagen.



Gambar 2.6 Hubungan sintesis kolagen dengan daya regang jaringan (Stadelmann et al., 1998)

Hidroksiprolin dibentuk pada saat fase proliferaatif penyembuhan luka sebagai bahan dasar dari kolagen. Pemeriksaan hidroksiprolin umumnya dilakukan saat sintesis kolagen berada pada pada tahap tertinggi yakni di antara minggu ke 1 dan 2 tahap penyembuhan luka saat “*lag phase*” peningkatan daya regang jaringan (Gambar 2.1) (Stadelmann et al., 1998). Beberapa penelitian dengan parameter kadar hidroksiprolin yakni penelitian Kumar dan Nema (2017) tentang aktivitas ekstrak air *Sphaeranthus indicus linn.* pada luka tikus diabetik serta penelitian Soni dan Srivastava (2017) tentang aktivitas fraksi etil asetat ekstrak etanol *Cinnamomum tamala* pada luka tikus diabetik.

Pemeriksaan kadar hidroksiprolin dapat dilakukan secara biokimia dengan menggunakan Erlich yang memberikan warna merah sehingga dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 550 nm dengan spektrofotometer (Stoilov et al. 2017). Cara lain untuk memeriksa kadar hidroksiprolin yakni dengan menggunakan metode ELISA yang memberikan warna biru dan diperiksa absorbansinya pada gelombang 450nm. Konsentrasi hidroksiprolin sampel dapat dihitung terhadap kurva standar hidroksiprolin.

## 2.7 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu metode separasi dari zat aktif dari jaringan tumbuhan maupun hewan dengan pelarut tertentu melalui suatu prosedur terstandarisasi. Suatu zat yang berasal dari tumbuhan umumnya merupakan campuran dari metabolit yang relatif kompleks, baik dalam bentuk semisolid atau serbuk kering. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang diisolasi (Velavan, 2015).

Jenis metode ekstraksi adalah sebagai berikut.

### a. Maserasi

Dalam maserasi (untuk ekstrak cairan), serbuk simplisia direndam dalam pelarut dalam wadah tertutup selama beberapa waktu yang ditentukan dengan pengadukan hingga zat yang dicari terlarut. Metode ini cocok untuk digunakan untuk zat yang bersifat termolabil (Velavan, 2015).

### b. Sonikasi (*Ultrasound-Assisted Solvent Extraction*)

Metode ini melibatkan penggunaan ultrasound dengan frekuensi mulai dari 20 kHz hingga 2000 kHz untuk meningkatkan permeabilitas dinding sel dan menghasilkan rongga. Satu kerugian dari metode ini yaitu efek merusak berupa pembentukan radikal bebas dan perubahan yang tidak diinginkan dalam molekul zat aktif tanaman yang disebabkan jika energi ultrasound lebih dari 20 kHz (Velavan, 2015).

### c. Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan membutuhkan banyak waktu (Mukhriani, 2014).

#### d. Soxhlet

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat menggunakan kertas saring) dalam tabung yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu refluks. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugian metode ini yaitu senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Mukhriani, 2014).

#### e. Refluks dan Destilasi Uap

Pada metode refluks, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu. Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial. Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode ini yaitu senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Mukhriani, 2014).

## 2.8 Fraksinasi

Ekstrak awal merupakan campuran dari berbagai senyawa. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas atau ukuran molekul yang sama. Fraksi tersebut dapat berupa yang secara fisik terbagi dengan diskrit seperti 2 fase pada metode partisi cair-cair, atau berupa eluat yang berdekatan dari kromatografi kolom (KK), misalnya pada *size-exclusion chromatography* (SEC), *solid-phase extraction* (SPE) maupun *vacuum liquid chromatography* (VLC) (Mukhriani, 2014; Sarker dan Nahar, 2012).

### 2.8.1 Partisi Cair-Cair

Partisi cair-cair merupakan teknik partisi yang digunakan pada sampel yang berupa cairan dengan menggunakan cairan sebagai media partisi. Metode ini menggunakan prinsip transfer zat antara dua cairan yang tak bercampur dengan memperbanyak kontak kedua cairan tersebut, umumnya dengan dikocok. Awalnya ekstrak kental dan pelarut dimasukkan ke dalam corong pisah. Kemudian setelah beberapa waktu dilakukan pengocokan sehingga terjadi transfer zat dari ekstrak ke pelarut. Lalu lapisan pelarut dikeluarkan, sehingga lapisan yang tersisa dapat dipartisi lagi dengan pelarut yang lain. Umumnya metode ini dilakukan secara bertingkat dengan menggunakan pelarut yang berbeda kepolarannya (polar, semipolar, dan nonpolar) (Moldoveanu dan David, 2015).

### 2.8.2 Solid-Phase Extraction (SPE)

Prinsip dari metode fraksinasi SPE mirip dengan metode partisi cair-cair yang melibatkan partisi suatu zat terlarut diantara dua fase. Dua fase yang terlibat dalam metode SPE yakni fase cair (sampel) dan fase padat (*sorbent*/penyerap). Prinsip pemisahan zat aktif pada metode ini dapat melalui berbagai interaksi yaitu interaksi hidrofilik, interaksi hidrofobik, dan interaksi elektrostatis. Proses fraksinasi menggunakan SPE dibagi menjadi 4 tahapan, yaitu:

1. *Condition*, tabung SPE dialiri dengan pelarut sampel untuk membasahi permukaan cartridge sehingga dapat mengikat matriks sampel yang nantinya dibuang
2. *Transfer*, larutan sampel dilewatkan ke cartridge baik untuk menahan analit yang dituju sementara komponen lain (misalnya matriks sampel) terelusi
3. *Wash*, menghilangkan komponen selain analit yang tidak terelusi pada tahap transfer
4. *Elute*, tahap pengambilan analit yang diteliti (Zwir-Ferenc dan Biziuk, 2006).

### 2.8.3 Size-Exclusion Chromatography (SEC)

SEC merupakan suatu metode pemisahan yang didasarkan ukuran berat molekul. Metode ini dikelompokkan menjadi dua macam yaitu kromatografi permeasi gel yang mengacu pada pemisahan makromolekul yang larut dalam air dan kromatografi filtrasi gel untuk makromolekul yang larut dalam pelarut organik. Metode ini menggunakan kolom kromatografi yang penuh dengan partikel kecil yang memiliki pori. Ruang antar partikel dan poros nantinya akan terisi dengan fase gerak. Sampel nantinya dimasukkan dalam bentuk larutan yang memiliki pelarut yang sama dengan fase gerak. Molekul yang berukuran kecil nantinya dapat melewati lapisan pori yang dalam, sedangkan molekul yang besar akan terelusi. (Podzimek, 2011).

### 2.8.4 Vacuum Liquid Chromatography (VLC)

VLC merupakan suatu teknik kromatografi cair yang menggunakan prinsip penurunan tekanan (vakum) untuk meningkatkan aliran dari fase gerak. VLC menggunakan kolom berukuran pendek yang diisi dengan *dry adsorbent*. Setelah *dry adsorbent* dimasukkan, kolom kromatografi dikondisikan dalam keadaan vakum, kemudian lapisan *adsorbent* ditekan menggunakan sumbat karet agar diperoleh kerapatan kemasan maksimum. Kemudian vakum dihentikan dan pelarut nonpolar (misalnya n-heksana) dituangkan ke lapisan *adsorbent*, lalu vakum dilanjutkan lagi. Kolom dihisap sampai kering dan siap digunakan. Sampel dimasukkan ke dalam kolom dalam keadaan tanpa vakum dan dilarutkan dalam pelarut yang cocok dimulai dari pelarut nonpolar kemudian ditingkatkan kepolarannya secara perlahan. Selanjutnya kolom dihisap sampai kering pada setiap pengumpul fraksi (Maurya et al, 2018).

## 2.9 Gel

Gel merupakan sistem semipadat yang terdiri dari suspensi yang dibuat dari mikropartikel anorganik atau makromolekul organik yang terpenetrasi suatu cairan. Jika massa gel terdiri dari jaringan partikel kecil yang terpisah, gel digolongkan sebagai sistem dua fase. Dalam sistem dua fase, jika ukuran partikel dari fase

terdispersi relatif besar, massa gel dapat dinyatakan sebagai magma. Baik gel maupun magma dapat berupa tiksotropik, membentuk semipadat jika dibiarkan dan menjadi cair pada pengocokan. Sediaan harus dikocok dahulu sebelum digunakan untuk menjamin homogenitas. Sedangkan gel fase tunggal terdiri dari makromolekul organik yang tersebar merata dalam suatu cairan hingga tidak terlihat adanya ikatan antara molekul makro yang terdispersi dan cairan. Gel fase tunggal dapat dibuat dari makromolekul sintetik (misalnya karbomer/*carbopol*) atau dari gom alam (misalnya tragakan) (Kementrian Kesehatan RI, 2014).

Gel merupakan sistem pembawa yang mudah dibuat. Umumnya sediaan gel digunakan pada administrasi obat melalui rute kulit, *buccal*, mata, hidung, telinga, dan vagina. Sistem tersebut dapat menjaga kontak dari zat aktif dan tempat absorpsi dengan baik. Berdasarkan wujud dari agen dispersinya, gel diklasifikasikan menjadi hidrogel, yang terbentuk dari material zat larut air, dan organogel, yang terbentuk dari zat tak larut air. Pada kasus penyembuhan luka, jenis hidrogel lebih dipilih karena memiliki sifat sebagai penjaga kelembaban kulit, dapat menyerap eksudat dan benda asing, juga dapat mengurangi kehilangan cairan dari permukaan kulit serta melindungi kulit untuk mempercepat penyembuhan (Gad, 2008; Andronescu, 2017).

### 2.9.1 Vehicle/Gelling Agents

*Vehicle* merupakan material basis gel yang bertindak sebagai bahan pembawa zat aktif pada sediaan gel. Umumnya *vehicle* memiliki berat molekul yang tinggi dan dapat berupa bahan alam maupun sintesis. Beberapa sifat yang dimiliki *vehicle* yaitu dapat terdispersi dalam air, memiliki sifat *swelling* (penambahan volume dari gel yang disebabkan karena penyerapan air atau cairan lain) dan dapat meningkatkan viskositas gel. Sebuah *gelling agent* yang ideal seharusnya tidak memiliki interaksi dengan komponen gel yang lain, memiliki sifat rheologis (aliran) yang tidak terpengaruh pada perubahan suhu maupun pH saat pembuatan maupun penyiapan, ekonomis, tak berwarna, tak berbau, dan dapat menjaga “sensasi dingin” pada tempat penggunaan. Beberapa *gelling agents* yang sering digunakan untuk pemakaian topikal yaitu karbomer (atau carbopol),



*carboxymethylcellulose sodium* (CMC-Na), dan *hydroxypropylmethylcellulose* (HPMC) (Gad, 2008).

a. *Carbomer*

*Carbomer* sangat sering digunakan sebagai *vehicle* dalam pembuatan gel topikal karena sifat fisik *swelling* yang tinggi. Nama lain dari *carbomer* ialah *carbopol*. *Carbomer* dapat dibentuk melalui *cross-linking acrylic acid* dengan *allyl sucrose* atau *allyl pentaerythritol*. *Carbomer* tersedia dalam bentuk bubuk higroskopik berwarna putih, namun menjadi tidak berwarna ketika digunakan dalam formulasi gel. Dispersi cair *carbomer* memiliki viskositas rendah dan butuh dinetralkan untuk membentuk gel dengan tingkat kekentalan tinggi. Material seperti *sodium hydroxide*, *sodium bicarbonate*, dan *borax* digunakan untuk menetralkan dispersi *carbomer*. Kurang lebih sebanyak 0,4 gram *sodium hydroxide* digunakan untuk menetralkan disperse 1 gram *carbomer*. Namun viskositas gel juga tergantung pada berat molekul *carbomer* dan data *cross-linking*, termasuk penggunaan antioksidan, perlindungan dari cahaya, penyimpanan dalam suhu ruang. Faktor-faktor tersebut membantu untuk memperpanjang waktu dalam mempertahankan viskositasnya. Gel *carbomer* rentan terhadap perubahan warna pada keberadaan sejumlah besar elektrolit, asam kuat, dan polimer kationik. Kaca, plastik, dan wadah berlapis resin yang memiliki sifat tahan korosi baik digunakan untuk mengemas gel *carbomer* (Rowe et al., 2009)

b. *Carboxymethylcellulose Sodium* (CMC-Na)

Na CMC merupakan garam selulosa *sodium polycarbomethyl ether* yang dibentuk dengan menyampurkan *alkaline cellulose* dengan *sodium monochloroacetate*. Na CMC tersedia dalam bentuk bubuk granular berwarna putih dan menjadi tidak berwarna ketika dilarutkan dalam air. Banyak jenis Na CMC dipasarkan secara luas berdasarkan tingkat viskositasnya. Perbedaan tingkat viskositas tersebut disebabkan oleh tingkat substitusi yang merepresentasikan rata-rata jumlah grup *hydroxyl* yang tersubstitusi dalam tiap unit *anhydroglucose*. Selain itu, tingkat substitusi juga menentukan kelarutan Na CMC. Viskositas gel Na CMC terjaga dalam kondisi pH netral, dan akan mengalami penurunan pada pH dibawah 2 atau diatas 10. Viskositas gel Na CMC juga mengalami penurunan pada kondisi suhu

yang meningkat. Kekentalan gel Na CMC berbanding lurus dengan jumlah konsentrasinya (Rowe et al., 2009). Na CMC merupakan polimer anion sehingga sensitif dengan pH dan perubahan ikatan ionik (Vlaila et al., 2016).

c. *Hydroxypropylmethyl Cellulose* (HPMC)

HPMC dibentuk dengan penyampuran *chloromethane* dan *propylene oxide*. HPMC tersedia dalam bubuk berwarna putih hingga putih kekuningan, tidak memiliki rasa dan tidak memiliki aroma. HPMC terlarut dalam air dingin. Persiapan dispersi cair HPMC menggunakan 25% air panas dengan pengadukan kuat, baru setelah mengalami hidrasi komplit air dingin dimasukkan dan dicampurkan. Viskositas gel HPMC tergantung pada konsentrasi material yang digunakan dan berat molekulnya, penambahan pelarut organik seperti etanol atau *dichloromethane* meningkatkan viskositas (Rowe et al., 2009).

### 2.9.2 Formulasi dan Pembuatan Gel

Selain *vehicle* dan aquades, formulasi gel dapat mengandung bahan lain seperti *alkalizing agent*, kosolven, dan pengawet. *Alkalizing agent* berfungsi untuk menjaga pH dari sediaan gel sehingga tidak terlalu asam, misalnya trietanolamin (TEA). Kosolven berfungsi untuk meningkatkan kelarutan zat aktif pada sediaan gel, contoh dari kosolven ialah propilen glikol. Tingginya kadar air pada gel menyebabkan mudahnya kontaminasi mikroba sehingga diperlukan pengawet, misalnya menggunakan dinatrium EDTA. Pembuatan gel diawali dengan mengembangkan gelling agent dengan air panas di dalam mortar kemudian ditambahkan *alkalizing agent* sehingga terbentuk massa gel. Kemudian zat aktif dicampur dengan kosolven. Selanjutnya campuran tersebut ditambahkan dalam massa gel, diaduk dan ditambahkan aquades hingga homogen (Rowe, 2009; Allen et al., 2015).

### 2.9.3 Peran Sediaan Gel dalam Penyembuhan Luka

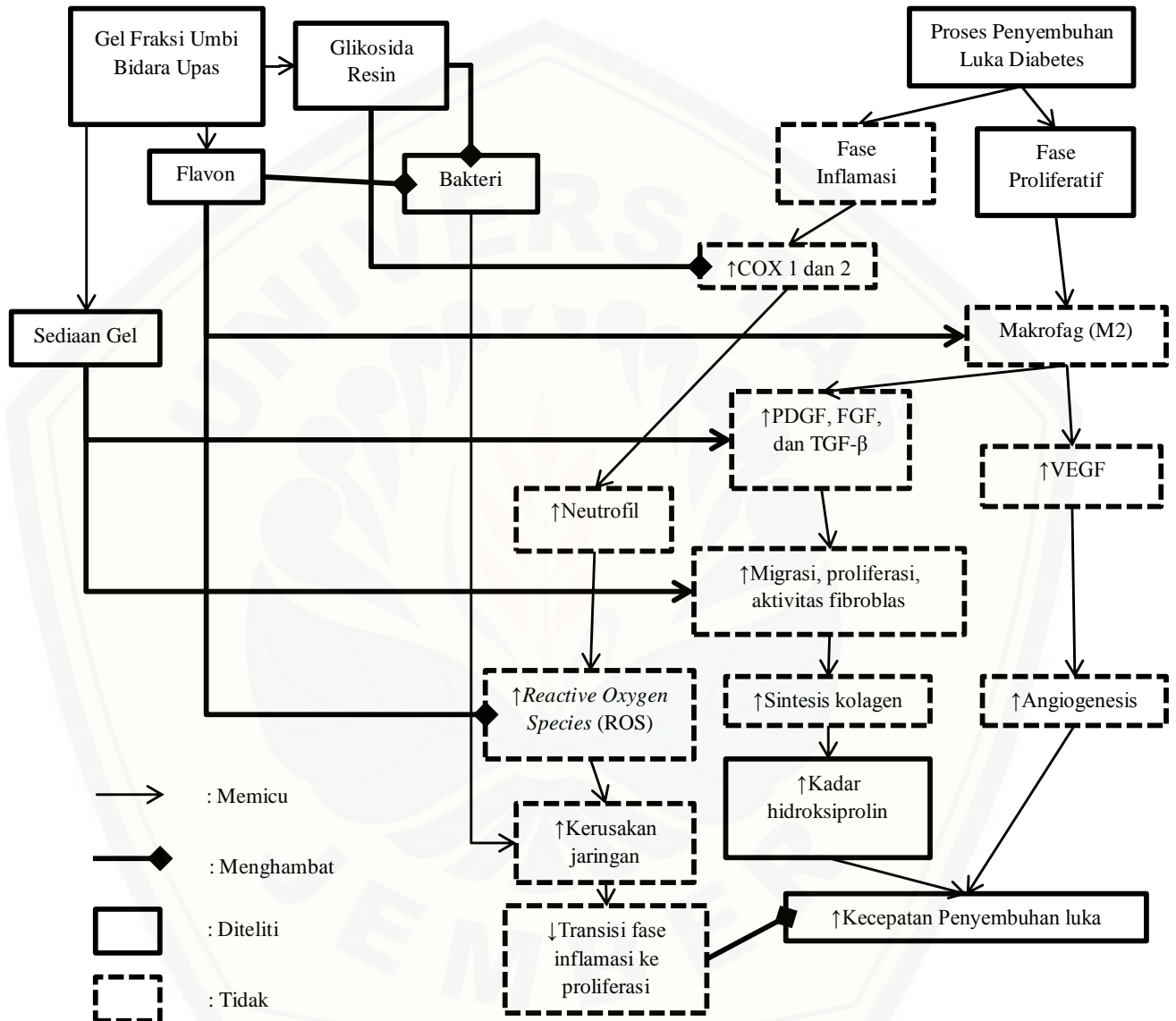
Peran utama sediaan gel yakni membantu melembabkan kulit. Kelembaban merupakan suatu faktor yang penting dalam penyembuhan luka. Lingkungan yang lembab dapat meningkatkan retensi *growth factors* seperti TGF- $\beta$ , PDGF, dan FGF

sehingga respon proliferasi fibroblas dan sintesis matriks ekstraseluler meningkat. Kondisi yang lembab juga akan meningkatkan debridemen autolitik. Gel juga berperan membantu penetrasi obat ke kulit dengan cara mengubah sifat stratum korneum kulit menjadi lebih renggang sehingga obat dapat mencapai lapisan dermis sehingga dapat berefek pada sel-sel fibroblas, makrofag M2 dan sel imun lain yang terdapat disana. Selain itu gel juga dapat melindungi kulit dari lingkungan eksternal. (Verma et al., 2013; Ousey et al., 2016)

Pada kasus luka diabetik selain gangren, jenis hidrogel lebih dipilih karena memiliki sifat sebagai penjaga kelembaban kulit, dapat menyerap eksudat dan benda asing, juga dapat mengurangi kehilangan cairan dari permukaan kulit serta melindungi kulit untuk mempercepat penyembuhan (Powers et al., 2013).

### 2.10 Kerangka Teori

Kerangka teori penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 2.9



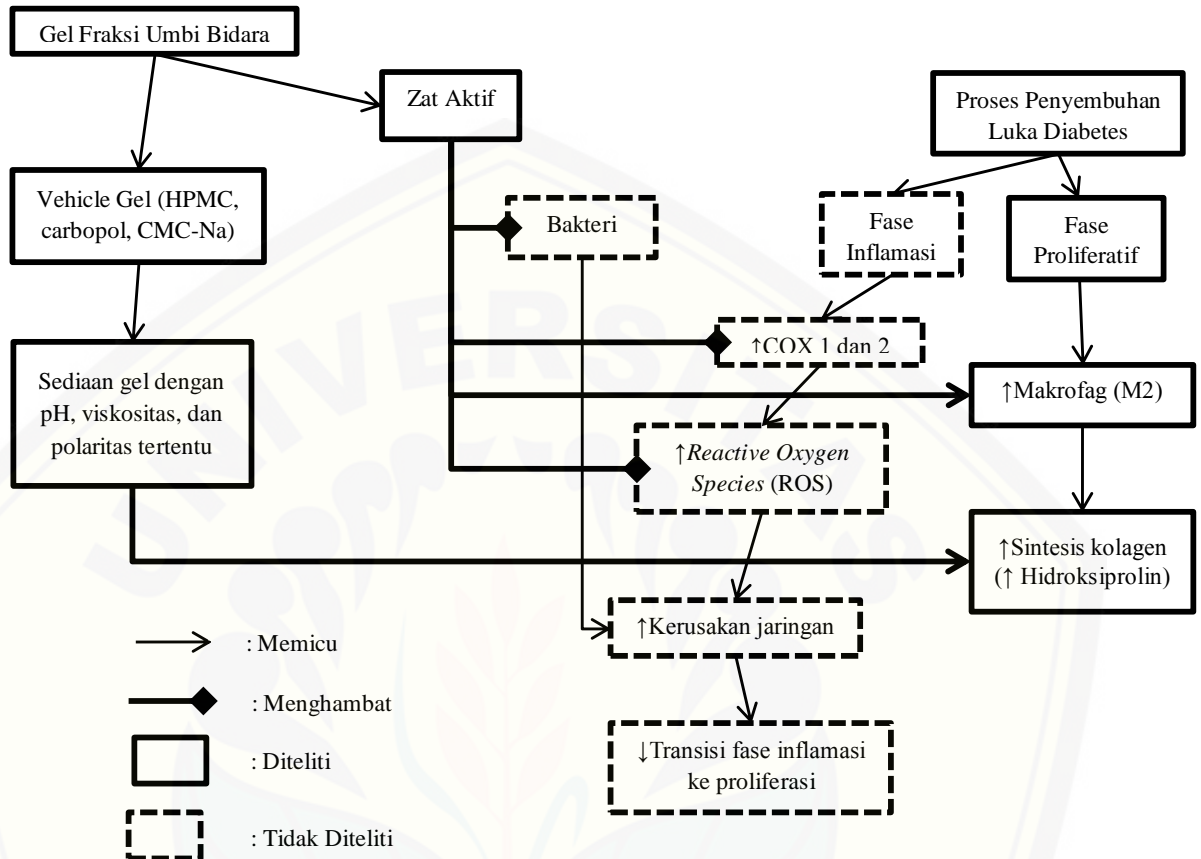
Gambar 2.9 Kerangka Teori

Gel fraksi umbi bidara upas memiliki kandungan yang dapat mempengaruhi penyembuhan luka pada penderita DM, yakni flavon dan glikosida resin. Flavon mempunyai sifat antioksidan yang berperan oksigen reaktif (ROS) yang berlebihan. Pada fase inflamasi, ROS dihasilkan oleh sel neutrofil untuk membunuh organisme

patogen yang menginfeksi luka, tetapi tingginya kadar ROS dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan lokal luka. Jika kerusakan jaringan tersebut terjadi terus menerus, maka asam arakidonat akan dihasilkan sehingga menimbulkan aktivasi kaskade inflamasi yang berujung pada perpanjangan fase inflamasi. Sebagai antibakteri, flavon bersifat sitotoksik terhadap bakteri, sedangkan glikosida resin dapat menghambat mekanisme resistensi pada bakteri. Flavon dan glikosida resin berperan sebagai antiinflamasi melalui inhibisi enzim siklooksigenase (COX) sehingga dapat mempercepat luka memasuki fase proliferasi. Pada fase proliferasi, makrofag M2 mensekresi PDGF, FGF, dan TGF- $\beta$  yang mengawali pembentukan jaringan granulasi dan regenerasi jaringan, serta sel-sel mesenkim mulai mensekresi VEGF yang akan meningkatkan pembentukan neovaskuler (angiogenesis) sehingga akan mempermudah migrasi sel-sel fibroblas maupun *growth factor* ke jaringan yang terluka. *Growth factor* tersebut menstimulasi migrasi, proliferasi serta aktivitas fibroblas dalam melakukan sintesis kolagen. Saat terjadi peningkatan aktivitas sintesis kolagen oleh fibroblas, sintesis hidroksiprolin yang bertindak sebagai bahan dasar kolagen oleh sel juga bertambah sehingga terjadi peningkatan kadar hidroksiprolin. Dengan adanya peningkatan aktivitas fibroblas dan kadar kolagen dalam matriks ekstraseluler, maka akan terjadi peningkatan kontraksi luka yang akan mempercepat penyembuhan luka. Flavon akan merangsang makrofag M2 untuk menghasilkan *growth factor* dan sitokin seperti EGF, TGF- $\beta$ , IL-1, IL-4, dan IL-8 yang menunjang fase proliferasi penyembuhan luka. Sediaan gel dapat meningkatkan retensi *growth factors* seperti TGF- $\beta$ , PDGF, dan FGF sehingga respon proliferasi fibroblas dan sintesis matriks ekstraseluler meningkat dan meningkatkan penetrasi zat aktif ke lapisan dermis sehingga dapat bekerja pada target. (Chérigo et al., 2008; Guo dan DiPietro, 2010; Yoshikawa et al, 2010; Farizal, 2012; Verma et al., 2013; Xie et al., 2014; Hidayat et al., 2015; Gonzales et al., 2016).

## 2.11 Kerangka Konsep

Kerangka konsep penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 2.10



Gambar 2.10 Kerangka konsep

Pembuatan model luka diabetik diawali dengan induksi tikus menggunakan STZ sehingga tikus menjadi diabetes. Kemudian dilakukan eksisi pada punggung tikus. Selama proses penyembuhan luka diabetik berlangsung, tikus diberi perlakuan berupa gel fraksi umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour.*). Gel fraksi umbi bidara upas mengandung *vehicle* gel (berupa HPMC, carbopol, dan CMC-Na) dan zat aktif (berupa glikosida resin dan flavon). Setiap *vehicle* gel memiliki sifat yang berbeda sehingga menghasilkan sediaan gel dengan viskositas, pH, dan polaritas yang berbeda. Sediaan gel dapat meningkatkan retensi *growth factors* sehingga respon proliferasi fibroblas dan sintesis matriks ekstraseluler meningkat dan meningkatkan penetrasi zat aktif ke lapisan dermis. Zat aktif pada gel nantinya berperan pada penyembuhan luka khususnya pada fase inflamasi dan

proliferatif. Zat aktif pada gel merangsang makrofag M2 untuk menghasilkan *growth factor* yang nantinya dapat mempercepat penyembuhan luka melalui peningkatan sintesis kolagen oleh fibroblas. Kolagen tersusun atas beberapa rantai alfa yang mengandung hidroksiprolin. Kadar hidroksiprolin pada jaringan kulit inilah yang nantinya diukur.

### 2.12 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini yakni, Hipotesis dari penelitian ini yakni,

- a. Terdapat efek gel HPMC fraksi umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) pada penyembuhan luka tikus hiperglikemi berupa peningkatan kadar hidroksiprolin dibandingkan kontrol negatif.
- b. Terdapat efek gel carbopol fraksi umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) pada penyembuhan luka tikus hiperglikemi berupa peningkatan kadar hidroksiprolin dibandingkan kontrol negatif.
- c. Terdapat efek gel CMC-Na fraksi umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) pada penyembuhan luka tikus hiperglikemi berupa peningkatan kadar hidroksiprolin dibandingkan kontrol negatif.
- d. HPMC merupakan *vehicle* yang terbaik untuk formulasi gel fraksi umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) pada penyembuhan luka tikus diabetes berdasarkan analisis hidroksiprolin

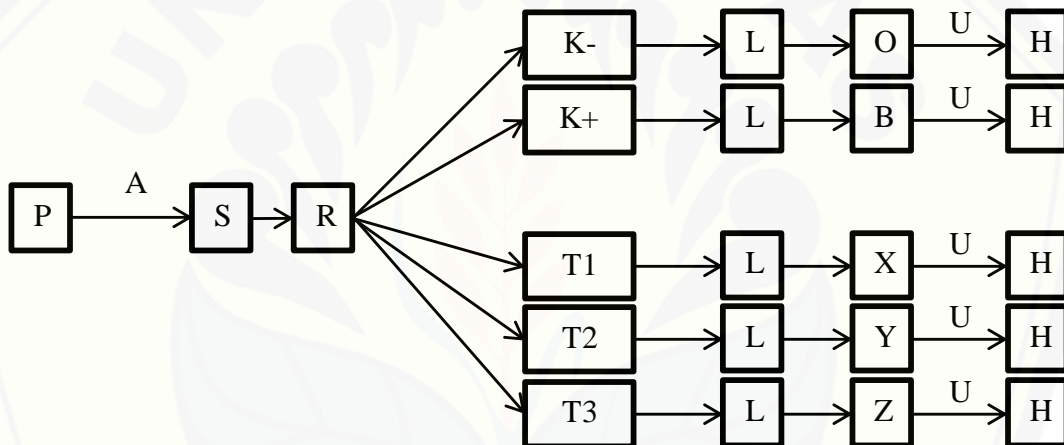
### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah *quasi experimental laboratories*.

#### 3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah *posttest only control group design*. Rancangan penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1



Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

P : Populasi

R : Randomisasi

K(-) : Kontrol Negatif berupa aquades

K(+) : Kontrol Positif berupa sediaan gel yang berisi neomisin dan ekstrak placenta

T1 : Perlakuan 1 berupa gel fraksi umbi bidara upas dengan vehicle HPMC

T2 : Perlakuan 2 berupa gel fraksi umbi bidara upas dengan vehicle Carbopol

T3 : Perlakuan 3 berupa gel fraksi umbi bidara upas dengan vehicle CMC-Na

A : Adaptasi selama 7 hari dan pengukuran BB pada hari ke 7



- S : Pemberian STZ dosis 40mg/kgBB kemudian *Dextrose* 10% 50ml per tikus pada hari ke 8
- L : Pembuatan luka eksisi 2x2 cm di punggung tikus pada hari ke 14
- O : Pemberian aquades setiap 2 hari sekali dimulai pada hari ke 15 hingga hari ke 24
- B : Pemberian *Bioplacenton*<sup>®</sup> setiap 2 hari sekali dimulai pada hari ke 15 hingga hari ke 24
- X : Pemberian gel HPMC setiap 2 hari sekali dimulai pada hari ke 15 hingga hari ke 24
- Y : Pemberian gel carbopol setiap 2 hari sekali dimulai pada hari ke 15 hingga hari ke 24
- Z : Pemberian gel Na-CMC setiap 2 hari sekali dimulai pada hari ke 15 hingga hari ke 24
- U : Pengukuran luas luka setiap 2 hari sekali dimulai hari ke 15 hingga hari ke 24
- H : Pengambilan jaringan kulit untuk dilihat kadar hidrosiprolin pada hari ke 25

### 3.3 Populasi dan Sampel

#### 3.3.1 Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini ialah tikus putih galur Wistar jantan yang didapat dari peternakan di Surabaya.

#### 3.3.2 Sampel

Sampel dalam penelitian ini ialah tikus putih galur Wistar jantan berusia 2-3 bulan dengan berat antara 150-200 gram.

#### 3.3.3 Besar Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini diambil dengan teknik *simple random sampling* dari populasi tikus dan dibagi menjadi 5 kelompok menggunakan *random*

*assignment*. Besar sampel yang diambil dalam penelitian ditentukan menggunakan rumus *Resource Equation* (Arifin dan Zahiruddin, 2017) adalah sebagai berikut.

Jumlah replikasi minimal ( $r$ ) yakni  $r = 10/t + 1$

$$r_{\min} = 10/5 + 1$$

$$r_{\min} = 2 + 1$$

$$r_{\min} = 3$$

$r_{\min}$  = jumlah replikasi minimal

$t$  = jumlah perlakuan ( $t=5$ )

Jumlah replikasi maksimal ( $r$ ) yakni  $r = 20/t + 1$

$$r_{\max} = 20/5 + 1$$

$$r_{\max} = 4 + 1$$

$$r_{\max} = 5$$

$r_{\max}$  = jumlah replikasi maksimal

$t$  = jumlah perlakuan ( $t=5$ )

Sampel minimal ( $N$ ) yakni  $N_{\min} = r_{\min} \times t = 3 \times 5 = 15$

Sampel maksimal ( $N$ ) yakni  $N_{\max} = r_{\max} \times t = 5 \times 5 = 25$

Perlakuan pada penelitian ini terdiri dari 5 kelompok perlakuan dengan jumlah minimal dan maksimal replikasi berturut-turut 3 dan 5 per kelompok. Untuk memenuhi persyaratan tersebut peneliti memilih sampel sebanyak 4 replikasi per kelompok atau dengan total 20 ekor tikus.

a. Kriteria inklusi

- 1) Tikus jenis Wistar
- 2) Jenis kelamin jantan
- 3) Usia 2-3 bulan
- 4) Berat 150-200 gram
- 5) Sehat dan aktif selama masa adaptasi
- 6) Kadar glukosa darah  $\geq 200\text{mg/dl}$  pada hari ke 5 pasca induksi

b. Kriteria eksklusi

- 1) Mati sebelum hari ke-25
- 2) Sakit selama masa adaptasi (gerakan tidak aktif)
- 3) Terdapat tanda-tanda infeksi pada luka

### 3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di beberapa tempat. Pemeliharaan dan pemberian perlakuan di Laboratorium Biomedik Hewan Coba Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Pembuatan gel fraksi bidara upas di Laboratorium Farmasetika Universitas Jember. Pengukuran kadar hidroksprolin dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Penelitian ini dilakukan selama 25 hari.

### 3.5 Variabel Penelitian

#### 3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini yakni jenis *vehicle* yang digunakan dalam pembuatan gel fraksi umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*).

#### 3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini yakni kadar hidroksprolin jaringan kulit tikus.

#### 3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini yaitu

- a. Jenis kelamin, usia, berat badan, dan pemeliharaan hewan coba
- b. Lama dan jenis perlakuan
- c. Dosis induksi streptozotocin (STZ) 40mg/kgBB

### 3.6 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini ditunjukkan pada Tabel 3.1

Tabel 3.1 Definisi operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Hasil Ukur	Skala Ukur
1	Gel umbi bidara upas ( <i>Merremia mammosa Lour</i> )	Gel umbi bidara upas ( <i>Merremia mammosa Lour</i> ) yang digunakan pada penelitian ini menggunakan bahan aktif berupa fraksi air dari ekstrak etanol umbi bidara upas ( <i>Merremia mammosa Lour</i> ) yang dibuat di Laboratorium Farmasetika Universitas Jember. Frekuensi gel yang diberikan pada kelompok perlakuan yakni setiap 2 hari sekali dari hari ke-15 hingga hari ke-24 mengacu pada Sakinah et al. (2018).		
2	Vehicle gel	Vehicle merupakan material basis gel yang bertindak sebagai bahan pembawa zat aktif pada sediaan gel (Gad, 2008). Ada tiga jenis vehicle yang digunakan pada penelitian ini yakni <i>hydroxylpropylmethylcellulose</i> (HPMC), carbopol, dan <i>carboxymethylcellulose sodium</i> (CMC-Na)		Nominal
3	Kadar Hidroksiprolin	Hidroksiprolin yang dimaksud pada penelitian ini merupakan suatu asam amino hasil oksidasi prolin yang dikatalisis oleh enzim prolil hidroksilase yang menggunakan vitamin C sebagai kofaktor (Rodwell et al., 2018). Jaringan kulit tikus direaksikan dengan <i>General Hydroxyproline Assay Kit</i> ® sehingga menghasilkan warna biru. Absorbansinya diperiksa menggunakan spektrofotometer gelombang 450nm dan disesuaikan dengan kurva standar sehingga didapatkan kadar hidroksiprolin dengan satuan ng/ml.	Kadar hidroksiproin (ng/ml)	Rasio
4	Luka Tikus Diabetes	Luka yang diberikan pada tikus diabetes seluas 2x2 cm di punggung tikus dengan modifikasi metode Morton sedalam lapisan subkutan kulit atau grade 2 Wagner-Meggitt (Anyakudo dan Erinfolemi, 2015). Sedangkan tikus dinyatakan hiperglikemia jika kadar glukosa darahnya melebihi 200 mg/dl (Nakahara et al., 2013).		

### 3.7 Alat dan Bahan

#### 3.7.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu

- a. Alat untuk pemeliharaan tikus yaitu bak plastik, alas kandang dari kawat, botol minum, tempat makan, dan penutup kawat dilapisi kassa sebagai penutup kandang.
- b. Alat untuk induksi STZ yaitu gelas beaker, pengaduk, spuit, neraca ohaus, dan handscoon.
- c. Alat untuk pembuatan gel fraksi bidara upas yaitu mortar dan pistil
- d. Alat untuk pemberian luka eksisi yaitu stempel cetakan luka 2 x 2 cm, spuit, gunting bedah, pinset, dan handscoon.
- e. Alat untuk mengukur luas penyembuhan luka yakni menggunakan mika dan spidol.
- f. Alat untuk pengambilan jaringan kulit yaitu gunting bedah, pinset, pot organ, dan handscoon.
- g. Alat untuk pengukuran kadar hidroksiprolin jaringan kulit yaitu timbangan digital, gelas beaker, pipet, gelas ukur, *magnetic stirrer*, *vortex*, oven, stopwatch, inkubator, spatula, tabung reaksi, rak tabung reaksi, kuvet, dan spektrofotometer.

#### 3.7.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu

- a. Bahan untuk pemeliharaan tikus yaitu makanan pellet, air tawar, dan serbuk kayu.
- b. Bahan untuk induksi STZ yaitu larutan STZ dalam buffer sitrat.
- c. Bahan untuk pembuatan gel fraksi bidara upas yaitu HPMC, carbopol, Na-CMC, trietanolamin, propilen glikol, fraksi air, dan aquades
- d. Bahan untuk pemberian luka eksisi yaitu ketamine dan xylazin.
- e. Bahan untuk mengukur luas penyembuhan luka yakni menggunakan mika dan spidol.

- f. Bahan untuk pengambilan jaringan kulit yaitu buffer formalin.
- g. Bahan untuk pengukuran kadar hidroksiprolin jaringan kulit yaitu aquades, HCl, Chloramin T, buffer sitrat, HClO<sub>4</sub>, dan reagen erlich.

### 3.8 Prosedur Penelitian

#### 3.8.1 Uji Kelayakan Etik

Subyek yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus yang dalam pelaksanaannya harus mendapat sertifikat kelayakan etik, sehingga perlu diajukan ke komisi etik kedokteran, prosedur ini diharapkan akan menjamin keamanan bagi peneliti maupun hewan coba, melindungi hewan coba, serta memperjelas tujuan dan kewajiban peneliti.

#### 3.8.2 Pemilihan Hewan Coba

Jumlah hewan coba adalah 20 ekor tikus (*Rattus wistar*) dibagi menjadi 5 kelompok secara randomisasi dengan sesuai dengan kriteria inklusi.

#### 3.8.3 Adaptasi Hewan Coba

Tikus diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari di Laboratorium Biomedik Hewan Coba Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk menyesuaikan dengan lingkungan baru. Makanan pelet dan minuman diberikan secara *ad libitum* pada semua kandang.

#### 3.8.4 Induksi Hewan Coba

Induksi STZ (Streptozotosin) dilakukan secara intraperitoneal. Sebelum dilakukan induksi, tikus dipuasakan selama 5 jam. Dosis STZ yang digunakan adalah dosis rendah, yaitu 40 mg/kgBB yang dilarutkan di dalam buffer sitrat dengan konsentrasi 0,05 M. pH 4,5 pada hari ke-8. Setelah induksi, setiap tikus diberi *dextrose* 10% selama 24 jam untuk mencegah *fatal hypoglycemia* (Furman, 2015).

### 3.8.5 Pembagian Kelompok Perlakuan

Jumlah kelompok pada penelitian ini adalah 5 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
Kelompok K-	Pemberian aquades
Kelompok K+	Pemberian gel dengan bahan aktif ekstrak placenta dan neomisin
Kelompok T1	Pemberian gel HPMC umbi bidara upas 10%
Kelompok T2	Pemberian gel Carbopol umbi bidara upas 10%
Kelompok T3	Pemberian gel CMC-Na umbi bidara upas 10%

### 3.8.6 Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) sesuai dengan prosedur ekstraksi metode ultrasonik yang dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Jember. Umbi bidara upas sebanyak 10 kg dipotong-potong kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah kering diblender untuk mendapatkan 1 kg serbuk simplisia. Sebanyak 1 kg serbuk simplisia diekstraksi dengan ultrasound menggunakan pelarut etanol 70% selama 1 jam. Kemudian disaring dengan corong Buchner sehingga diperoleh filtrat. Residu diekstraksi ulang satu kali. Filtrat yang dihasilkan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak etanol kental.

### 3.8.7 Pembuatan Fraksi

Pembuatan fraksi ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) sesuai dengan prosedur fraksinasi ekstrak yang dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Jember. Sebanyak 120 gram ekstrak kental diambil untuk dilakukan fraksinasi menggunakan 3 macam pelarut yang berbeda polaritasnya yaitu air, n-heksana, dan etil asetat dengan tahapan sebagai berikut:

- a. Ekstrak etanol kental sebanyak 120 gram ditambahkan dengan 240 mL aquades kemudian diaduk hingga homogen

- b. Ditambahkan 360 mL n-heksana dalam corong pisah lalu dikocok 30 menit dan didiamkan sampai lapisan n-heksana dan air terpisah, kemudian seluruh lapisan n-heksana diambil. Tahap ini diulang dua kali
- c. Lapisan n-heksana yang didapatkan dipekatkan dengan *rotary evaporator* untuk mendapatkan fraksi n-heksana
- d. Sedangkan lapisan air ditambahkan 360 mL etil asetat dalam corong pisah, kemudian dikocok 30 menit dan didiamkan sampai lapisan etil asetat dan air terpisah. Seluruh lapisan etil asetat diambil. Tahap ini diulang dua kali
- e. Lapisan etil asetat yang didapatkan dipekatkan dengan *rotary evaporator* untuk mendapatkan fraksi etil asetat
- f. Sedangkan lapisan air kemudian dipekatkan dengan *freeze drying* untuk mendapatkan fraksi air.
- g. Ekstrak yang tidak dapat larut dalam air, n-heksana, dan etil asetat dianggap sebagai lapisan etanol yang tidak digunakan dalam penelitian ini

#### 3.8.8 Pembuatan Gel

Proses pembuatan basis gel dimulai dengan mengembangkan gelling agent dalam air panas dalam mortar, kemudian diaduk hingga homogen, selanjutnya ditambahkan trietanolamin (TEA) sedikit-sedikit sampai terbentuk massa gel. Fraksi terpilih dicampurkan dengan propilen glikol hingga homogen. Campuran fraksi dan propilen glikol tersebut selanjutnya dicampurkan ke dalam basis gel dan diaduk sampai homogen. Sisa aquadest ditambahkan ke dalam gel sedikit demi sedikit hingga homogen. Bahan untuk pembuatan gel terdapat pada Tabel 3.3.



Tabel 3.3 Bahan Pembuatan Gel dari Fraksi Umbi Bidara Upas

Bahan	Fungsi	T1	T2	T3
HPMC		1,5g	-	-
Carbopol	Vehicle	-	1,5g	-
CMC Na		-	-	5g
Trietanolamin	Alkalizing agent	0,5g	0,5g	0,5g
Propilen glikol	Kosolven	20g	20g	20g
Fraksi air	Bahan aktif	10g	10g	10g
Aquades	Pelarut	68g	68g	64,5g

Keterangan:

T1: Komposisi gel HPMC umbi bidara upas 10%

T2: Komposisi gel Carbopol umbi bidara upas 10%

T3: Komposisi gel CMC-Na umbi bidara upas 10%

### 3.8.9 Pemeriksaan Kadar Glukosa

Pemeriksaan kadar glukosa darah dengan cara mengambil darah dengan menusuk ekor tikus menggunakan jarum kemudian darah yang keluar diperiksa dengan *glucotest* merk *easy touch*. Pemeriksaan dilakukan pada hari ke-13 (5 hari setelah induksi STZ) dan 25 (sebelum terminasi).

### 3.8.10 Pemberian Luka Eksisi

Pemberian luka Eksisi pada tikus dilakukan pada hari ke 14 didahului dengan pemberian ketamin dosis 80 mg/KgBB dan xylazin 10 mL/KgBB secara intramuskular (Badr, 2013). Pemberian kombinasi ketamin dan xylazin sebagai keperluan anestesi hewan coba untuk mengurangi rasa nyeri akibat pemberian luka. Ketamin sebagai analgesik dan xylazin akan menyebabkan relaksasi pada otot (Yudaniyanti et al., 2010). Ditunggu hingga tikus tertidur, kemudian rambut tikus dicukur bersih pada bagian punggung tikus yang akan dieksisi. Diberi stempel cetakan luka 2x2 cm, kemudian dilakukan eksisi sesuai dengan ukuran cetakan. Jaringan yang diambil adalah jaringan kulit dari lapisan epidermis sampai lapisan subkutis (*full-thickness*) (Sakinah et al., 2018).

### 3.8.11 Pemberian Gel Fraksi Umbi Bidara Upas

Pemberian gel fraksi dilakukan setiap 2 hari sekali dimulai 24 jam setelah pemberian luka selama 10 hari atau pada hari ke-15 sampai hari ke-24 (Sakinah et al., 2018).

### 3.8.12 Pengambilan Jaringan Kulit

Pada hari ke 25, hewan coba diterminasi menggunakan kloroform. Kemudian jaringan kulit diambil sesuai dengan luas luka sedalam lapisan subkutis. Jaringan kulit disimpan dalam botol yang sudah berisi buffer formalin 10%.

### 3.8.13 Pengukuran Kadar Hidroksiprolin

Jaringan kulit diambil sebanyak 40 mg. Kemudian dilakukan prosedur homogenisasi jaringan kulit sebagai berikut

1. Membilas jaringan kulit dengan PBS (pH=7.4) untuk menghilangkan darah kemudian menimbang masing-masing jaringan kulit sebanyak 40 mg sebelum homogenisasi.
2. Memotong dan menggerus jaringan di dalam PBS (pH=7.4) dengan alu dan mortar di atas es.
3. Kemudian melakukan sentrifugasi pada 2000-3000 RPM selama 20 menit kemudian diambil supernatan nya.

Pengukuran kadar hidroksiprolin sesuai dengan prosedur yang tercantum pada *General Hydroxyproline Assay Kit*<sup>®</sup> (BT LABORATORY, CHINA), dengan prosedur sebagai berikut.

1. Mempersiapkan semua pereaksi, larutan standar, dan sampel sesuai instruksi. Bawa semua reagen ke kamar suhu sebelum digunakan. Pengujian dilakukan pada suhu kamar.
2. Tentukan jumlah strip yang diperlukan untuk pengujian. Pasang strip yang akan digunakan. Strip yang tidak digunakan harus disimpan pada 2-8 ° C.
3. Menambahkan standar 50µl ke sumur standar. Catatan: Jangan menambahkan antibodi ke standar dengan baik karena larutan standar mengandung antibodi yang terbiotinilasi.

4. Menambahkan sampel 40 $\mu$ l ke dalam sumur sampel dan kemudian tambahkan 10 $\mu$ l antibodi anti-hidroksiprolin ke dalam sumur sampel, lalu tambahkan 50 $\mu$ l streptavidin-HRP ke sumur sampel dan sumur standar (bukan sumur blanko). Campur dengan baik. Tutupi plat dengan *sealer*. Inkubasi 60 menit pada suhu 37 ° C.
5. Melepaskan *sealer* dan cuci plat 5 kali dengan *wash buffer*. Basahi sumur dengan setidaknya 0,35 ml *wash buffer* selama 30-60 detik untuk setiap pencucian.
6. Menambahkan larutan substrat A 50 $\mu$ l ke setiap lubang lalu tambahkan larutan substrat B 50 $\mu$ l ke masing-masing sumur. Inkubasi plat yang ditutup dengan *sealer* baru selama 10 menit pada suhu 37 ° C dalam keadaan gelap.
7. Tambahkan 50 $\mu$ l *stop solution* ke masing-masing sumur, warna biru akan segera berubah menjadi kuning.
8. Tentukan kerapatan optik (nilai OD) masing-masing sumur menggunakan *ELISA reader*, atur pada 450 nm dalam 10 menit setelah menambahkan *stop solution*.

Kurva hidroksiprolin standar dibuat dengan konsentrasi hidroksiprolin standar 0; 7,5; 15; 30; 60; 120; dan 240 ng/ mL. Sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang 450 nm. Nilai hasil absorbansi sampel dimasukkan dalam formula kurva standar dan didapatkan nilai akhir hidroksiprolin dalam satuan ng/ml.

### 3.9 Metode Analisis Data

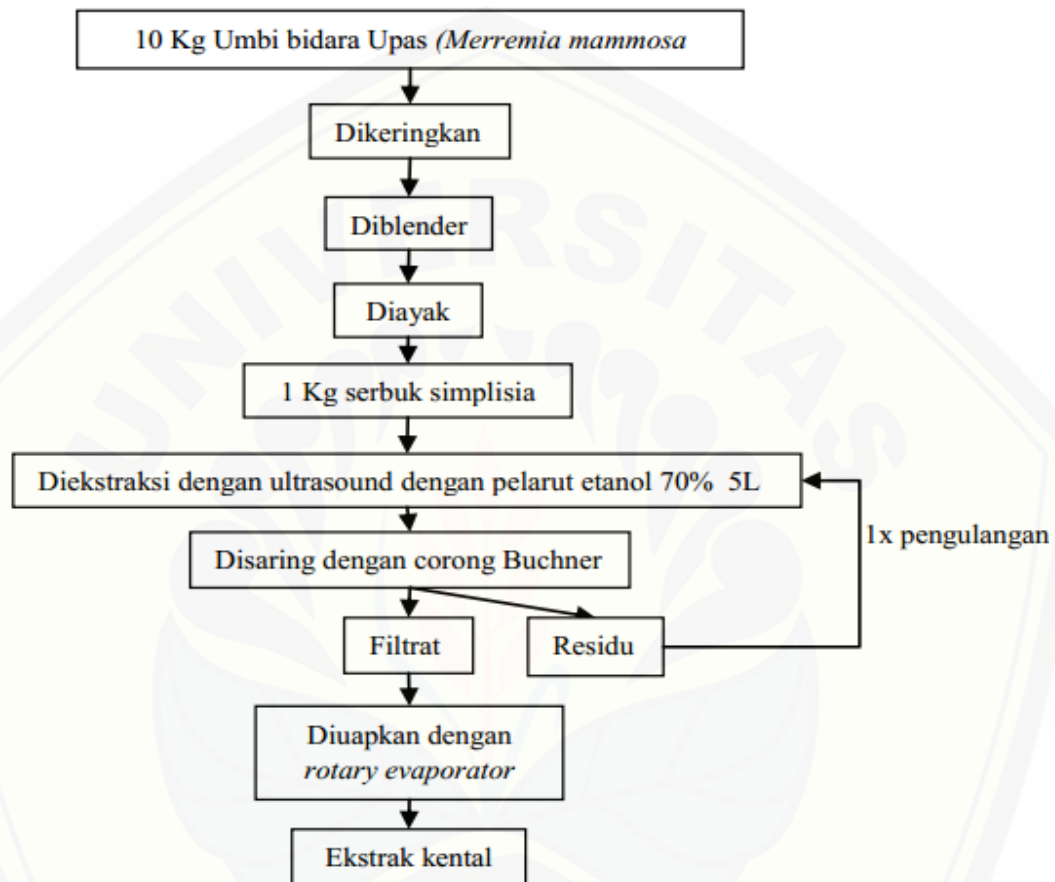
Metode analisis data penelitian ini menggunakan program analisis data. Sebelum uji statistik dilakukan, normalitas data diuji menggunakan uji *Shapiro Wilk* dan homogenitas data menggunakan *Levene's test*. Jika data terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* ( $p < 0.05$ ) dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Bonferroni*, jika tidak maka dilanjutkan dengan uji *Kruskal Wallis* ( $p < 0.05$ ) dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Mann-Whitney* ( $p < 0.05$ ).

### 3.10 Alur Penelitian

Tahapan penelitian ini ialah sebagai berikut:

#### a. Skema Proses Esktraksi Umbi Bidara Upas

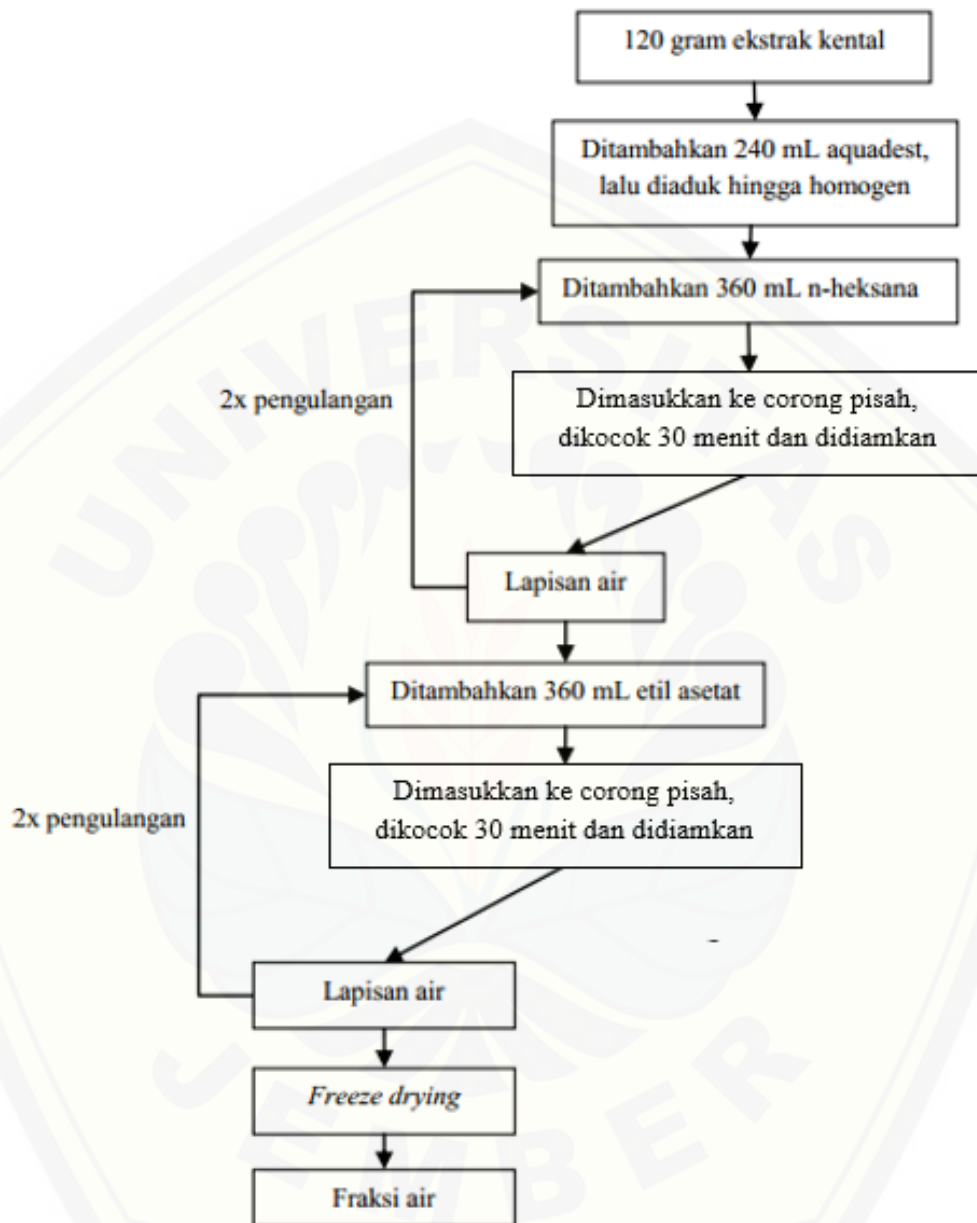
Skema proses ekstraksi umbi bidara upas ditunjukkan pada Gambar 3.2



Gambar 3.2 Skema Proses Ekstraksi Umbi Bidara Upas

## b. Skema Prosedur Fraksinasi Ekstrak Umbi Bidara Upas

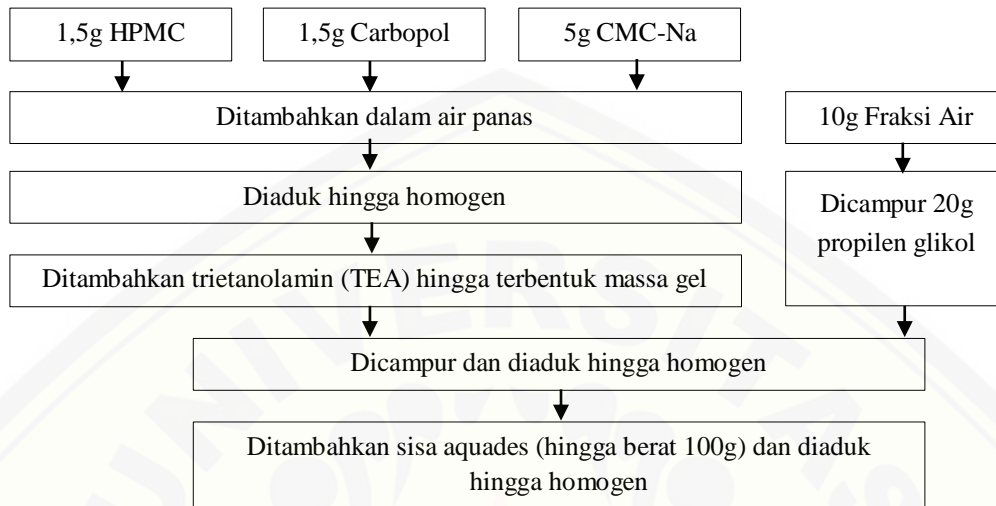
Skema proses fraksinasi umbi bidara upas ditunjukkan pada Gambar 3.3



Gambar 3.3 Skema Proses Fraksinasi Umbi Bidara Upas

### c. Skema Prosedur Pembuatan Gel dari Fraksi Umbi Bidara Upas

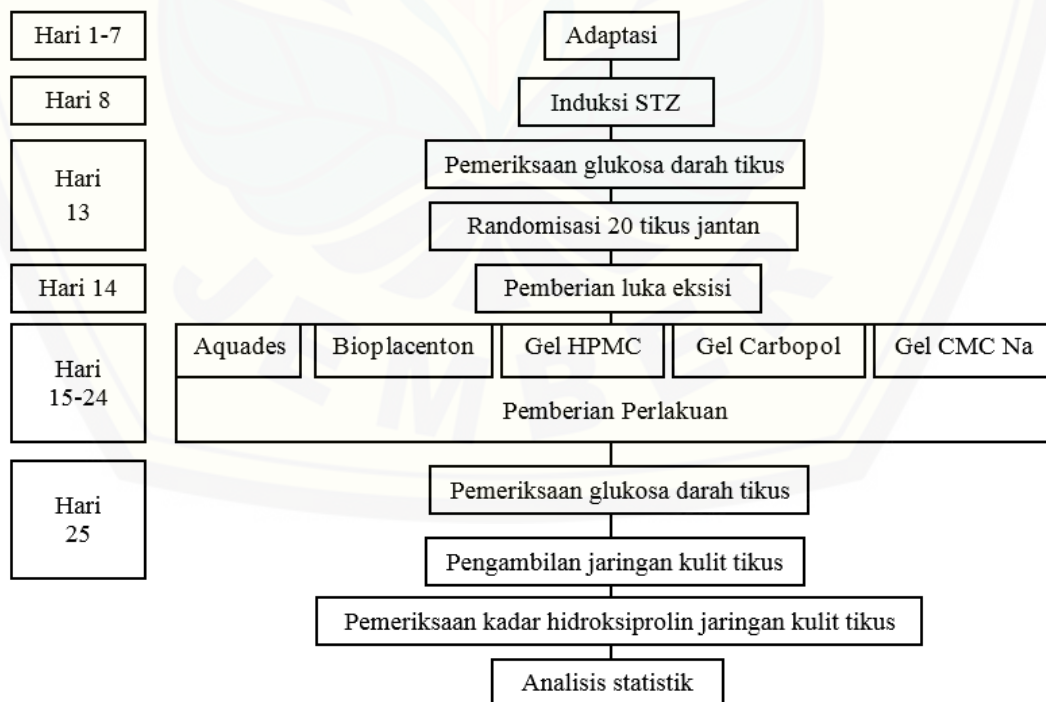
Skema prosedur pembuatan gel dari fraksi umbi bidara upas ditunjukkan pada Gambar 3.4



Gambar 3.4 Skema Prosedur Pembuatan Gel dari Fraksi Umbi Bidara Upas

### d. Skema Perlakuan terhadap Tikus Diabetes

Skema perlakuan terhadap tikus diabetes ditunjukkan pada Gambar 3.5



Gambar 3.5 Skema Perlakuan terhadap Tikus Diabetes

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan dan pembahasan sebelumnya, dapat diambil kesimpulan bahwa dari HPMC, carbopol dan CMC-Na sebagai *vehicle* memberikan efek yang sama baiknya untuk formulasi gel fraksi umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) pada penyembuhan luka tikus diabetes berdasarkan analisis hidroksiprolin.

### 5.2 Saran

#### 5.2.1 Saran Teoritis

Pemilihan *vehicle* HPMC, carbopol, atau CMC-Na dalam formulasi gel fraksi umbi bidara upas dapat ditinjau dari uji stabilitas fisik gel, uji toksisitas gel, dan/atau uji pelepasan obat.

#### 5.2.2 Saran Praktis

Penderita luka diabetik derajat 2 dapat mempertimbangkan pemilihan obat topikal yang memiliki aktivitas komprehensif dalam penyembuhan luka.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Amin, N. and J. Doupis. 2016. Diabetic foot disease: from the evaluation of the “foot at risk” to the novel diabetic ulcer treatment modalities. *World journal of diabetes*, 7(7), p.153.
- Allen, L. V, N. G. Popovich, and H. Ansel. 2013. *Ansel’s Pharmaceutical Dosage forms and drug delivery systems*. Philadelphia: Lippincott Williams
- Andronescu, E., and A. M. Grumezescu. 2017. *Nanostructures in Therapeutic Medicine Series Nanostructures for Drug Delivery*. Amsterdam: Elsevier
- Anyakudo, M.M.C. and A. B. Erinfolami. 2015. Glycemic and Wound Healing Effects of Aqueous Mesocarp Extract of Unripe Carica papaya (Linn) in Diabetic and Healthy Rats. *World Journal of Nutrition and Health*, 3(3), pp.47-52.
- Arifin, W. N., and W. M. Zahiruddin. 2017. Sample size calculation in animal studies using resource equation approach. *Malays J Med Sci*. 24(5):101–105.
- Badr, Gamal. 2013. Camel whey protein enhances diabetic wound healing in a streptozotocin-induced diabetic mouse model: The critical role of  $\beta$ -Defensin-1, -2 and -3. *Lipids in Health and Disease*, 12(1), 1–11.
- Blacker, T.S. and Duchon, M.R.. 2016. Investigating mitochondrial redox state using NADH and NADPH autofluorescence. *Free Radical Biology and Medicine*, 100, pp.53-65.
- Caskey, R. C., C. Zgheib, M. Morris, M. Allukian, W. Dorsett-Martin, J. Xu, and K. W. Liechty. 2014. Dysregulation of collagen production in diabetes following recurrent skin injury: Contribution to the development of a chronic wound. *Wound Repair and Regeneration*, 22(4), 515–520.
- Chakraborty, P.D. and Bhattacharyya, D.. 2012. Aqueous extract of human placenta. In Recent Advances in Research on the Human Placenta. *InTech*.
- Chérigo, L., R. Pereda-Miranda, M. Fragosó-Serrano, N. Jacobo-Herrera, G. W. Kaatz, and S. Gibbons. 2008. Inhibitors of Bacterial Multidrug Efflux Pumps from the Resin Glycosides of *Ipomoea murucoides*. *Journal of Natural Products*, 71(6), 1037–1045.
- Diwasacri, Harya Anindita. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Ekstrak Metanol Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier F.) Pada *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv ATCC 27294. *Disertasi*. Surabaya: Universitas Airlangga
- 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
- Fukai, T. and Ushio-Fukai, M., 2011. Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases. *Antioxidants & redox signaling*, 15(6), pp.1583-1606.
- Furman, Brian. L. 2015. Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats. *Current Protocols in Pharmacology*, 70, 5.47.1-5.47.20.
- Gad, S.C. 2008. *Pharmaceutical manufacturing handbook: production and processes (Vol. 5)*. New Jersey: John Wiley & Sons.

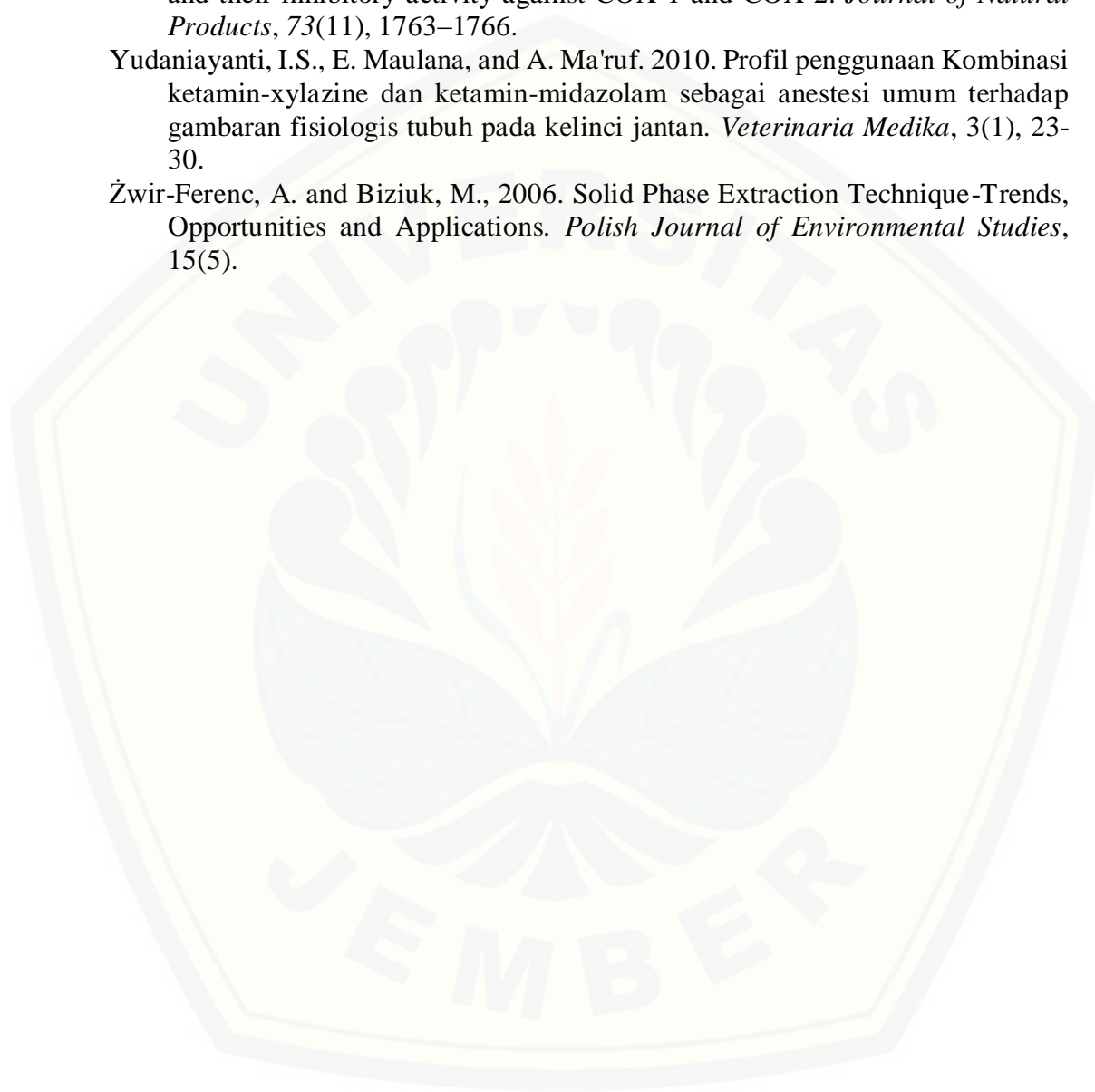


- Gibson, Mark. 2016. *Pharmaceutical preformulation and formulation: a practical guide from candidate drug selection to commercial dosage form*. CRC Press.
- Gonzalez, A. C. D. O., Z. D. A. Andrade, T. F. Costa, and A. R. A. P. Medrado. 2016. Wound healing - A literature review. *Anais Brasileiros de Dermatologia*.
- Goodman, L.S., L.L. Brunton, B. Chabner, and B.C. Knollmann. 2011. *Goodman & Gilman's pharmacological basis of therapeutics*. New York: McGraw-Hill Medical.
- Goyal, Ghanshyam. 2014. Management of diabetic foot. *Journal of Clinical Diabetology*. 1:2-7
- Guo, S., and DiPietro, L. A. 2010. Critical review in oral biology and medicine: Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*, 89(3), 219–229.
- Gupta, R., A. Garg, P. Sharma, and P. Pandey. 2016. Wound healing and antioxidant effect of leaves on incision Calliandra haematocephala and excision wound models. *Asian Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(2), pp.34-39.
- Hidayat, F. K., U. Elfiah, dan K. D. Sofiana. 2015. Perbandingan Jumlah Makrofag pada Luka Insisi Full Thickness antara Pemberian Ekstrak Umbi Bidara Upas dengan NaCl pada Tikus Wistar Jantan. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*, 1(1), 9–13.
- Kasper, D., A. Fauci, S. Hause, D. Longo, J. Jameson, and J. Loscalzo. 2015. *Harrison's Principles of Internal Medicine 19/E (Vol. 1 and Vol. 2)*.
- Katsilambros, N., E. Dounis, K. Makrilakis, N. Tentolouris, and P. Tsapogas. 2010. Atlas of the diabetic foot. John Wiley & Sons.
- Kementrian Kesehatan RI<sup>(a)</sup>. 2014. Infodatin: Situasi dan Analisis Diabetes. Jakarta: Kemenkes RI
- Kementrian Kesehatan RI<sup>(b)</sup>. 2014. Farmakope Indonesia. Edisi V. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan
- King, Aileen J. F. 2012. The use of animal models in diabetes research. *British Journal of Pharmacology*.
- Kumar, R., and Nema, R. K. 2017. Wound Healing Activity Of Flower Head Aqueous Extract Of Sphaeranthus Indicus Linn. In Diabetic Rats. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 6(17), 1144-1157.
- Julianto, I Gede. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour)) terhadap Proses Penyembuhan Luka dan Kadar Gula Darah pada Tikus Wistar Jantan Hiperglikemi. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember
- Maurya, A., K. Kalani, S. C. Verma, R. Singh, and A. Srivastava. 2018. Vacuum Liquid Chromatography: Simple, Efficient and Versatile Separation Technique for Natural Products, *Organic and Medicinal Chemistry*, 7(2), 2–4.
- Mazni, Roby. 2008. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* Chois) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli* Serta Brine Shrimp Lethality Test. *Disertasi*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta
- McLennan, S., D. K. Yue, and S. M. Twigg. 2006. Molecular aspects of wound healing in diabetes. Primary Intention: The Australian Journal of Wound Management, 14(1), p.8.

- Moldoveanu, S. and David, V. 2015. *Modern Sample Preparation For Chromatography*. Amsterdam: Elsevier
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, VII(2), 361–367.
- Mun'im, A., Azizahwati, dan A. Fimani. 2011. Pengaruh Pemberian Infusa Daun Sirih Merah (*Piper cf. fragile*, Benth) secara Topikal Terhadap Penyembuhan Luka pada Tikus Putih Diabet. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 7(5)
- Nakahara, Y., T. Sano, Y. Kodama, K. Ozaki, and T. Matsuura. 2013. Glycemic control with insulin prevents progression of dental caries and caries-related periodontitis in diabetic WBN/KobSlc rats. *Toxicologic pathology*, 41(5), pp.761-769.
- Okonkwo, U. A., and Dipietro, L. A. 2017. Diabetes and Wound Angiogenesis, 1–15.
- Ousey, K., K. F. Cutting, A. A. Rogers, and M. G. Rippon. 2016. The importance of hydration in wound healing: reinvigorating the clinical perspective. *Journal of Wound Care*, 25(3), 122–130.
- Pereda-Miranda, R., D. Rosas-Ramírez, and J. Castaneda-Gomez. 2010. *Resin glycosides from the morning glory family*. In Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe/Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, Vol. 92 (pp. 77-153). Springer, Vienna.
- PERKENI. 2015. Konsensus pengelolaan dan pencegahan diabetes melitus tipe 2 di indonesia. Jakarta: PB PERKENI
- Plantamor. Klasifikasi Bidara Upas (*Merremia mammosa Lour*). <http://www.plantamor.com>. Diakses 20 September 2018
- Pinzur, M. S. 2016. *The Diagnosis and Treatment of Diabetic Foot Infections. In The Surgical Management of the Diabetic Foot and Ankle*. Springer, Cham.
- Podzimek, S. 2011. *Light Scattering, Size Exclusion Chromatography and Asymmetric Flow Field Flow Fractionation: Powerful Tools for the Characterization of Polymers, Proteins and Nanoparticles*. Canada: Wiley.
- Powers, J. G., C. Higham, K. Broussard, and T. J. Phillips. 2016. Wound healing and treating wounds. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 74(4), 607–625.
- Prameswari, Mega Citra. 2017. Pengaruh Fraksinasi Ekstrak Umbi Bidara Upas (*Merremia Mammosa Lour*) Terhadap Penyembuhan Luka Pada Penderita Diabetes. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember
- Ratnadewi, A. A. I., L. D. Wahyudi, J. Rochman, Susilowati, A. S. Nugraha, dan T. A. Siswoyo. 2018. Revealing anti-diabetic potency of medicinal plants of Meru Betiri National Park, Jember – Indonesia. *Arabian Journal of Chemistry*, 25(4), 314–315.
- Rismana, E., I. Rosidah, Y. Prasetyawan, dan O. Bunga. 2013. Efektivitas khasiat pengobatan luka bakar sediaan gel mengandung fraksi ekstrak pagagan berdasarkan analisis hidroksiprolin dan histopatologi pada kulit kelinci. *Buletin Penelitian Kesehatan*, 41(1), 45–60.
- Rodwell, V. W., D. A. Bender, K. M. Botham, P. J. Kennelly, and P. A. Weil. 2018. *Harper's Illustrated Biochemistry 31<sup>th</sup> Edition*. New York: McGraw Hill Education

- Rowe, R.C., P. J. Sheskey, and S. C. Owen. 2009. *Handbook of pharmaceutical excipients, Sixth Edition*. London: Pharmaceutical press.
- Sakinah, E. N., E. U. Ulfa, and A. C. N. Marchianti. 2018. The Effectiveness of *Merremia mammosa* (Lour.) Extract Fractions as Diabetic Wound Healers on Diabetic Rat Model. *Hiroshima J. Med. Sci.*, 67(37), pp. 70–77.
- Sarker, S. D., and Nahar, L. 2012. An Introduction to Natural Products Isolation. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 965, pp. 1–25).
- Sarkar, U., A. Raha, P. Mukherjee, M. Paul, and A. Bagchi. 2018. Development and evaluation of Metronidazole containing topical gel using different gelling agents. *Asian Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 4(6), pp.785-789.
- Shokri, J. and Adibkia, K., 2013. Application of cellulose and cellulose derivatives in pharmaceutical industries. In Cellulose-medical, pharmaceutical and electronic applications. *InTech*.
- Sofiana, K. D., U. Elfiah, dan E. Umayah. 2015. Pengaruh Ekstrak Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour) Terhadap Penyembuhan Luka Tikus Jantan Hiperglikemi. <http://repository.unej.ac.id> [Diakses pada 20 September 2018].
- Soni, R., & Srivastava, D. N. 2017. Wound Repair and Regenerating Effect of Eugenol Isolated from Ethyl Acetate Soluble Fraction of Ethanolic Extract of *Cinnamomum tamala* Leaves in STZ Diabetic Rats. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 7(7), 235-237.
- Stadelmann, W. K., A.G. Digenis, and G.R. Tobin. 1998. Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. *The American Journal of Surgery*, 176(2), 26S-38S.
- Stoilov, I., B. C. Starcher, R. P. Mecham, and T. J. Broekelmann. 2018. Measurement of elastin, collagen, and total protein levels in tissues. In *Methods in Cell Biology*, 143, 1–39.
- Tas, C., Y. Özkan, A. Savaser, and T. Baykara. 2003. In vitro release studies of chlorpheniramine maleate from gels prepared by different cellulose derivatives. *Il Farmaco*, 58(8), pp.605-611.
- Tellechea, A., E. Leal, A. Veves, and E. Carvalho. 2010. Inflammatory and Angiogenic Abnormalities in Diabetic Wound Healing: Role of Neuropeptides and Therapeutic Perspectives. *The Open Circulation and Vascular Journal*, 3(2), 43–55.
- Velavan, S. 2015. Phytochemical Techniques - A Review. *World Journal of Science and Research*. 1(2): 80-91.
- Verma, A., S. Singh, R. Kaur, and U. K. Jain. 2013. Topical Gels as Drug Delivery Systems: A Review. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 23(2); 374-382
- Vlaia, L., G. Coneac, I. Olariu, V. Vlaia. and D. Lupuleasa. 2016. Cellulose-Derivatives-Based Hydrogels as Vehicles for Dermal and Transdermal Drug Delivery. In Emerging Concepts in Analysis and Applications of Hydrogels. *InTech*.
- Wiraja, V.V.D., T. S. Hambali, and S. E. Lambri. 2007. The comparison of 0.05% sodium fluoride and 0.2% chlorhexidine usage and aquadest to the plaque index on fixed orthodontic patients. *Padjadjaran Journal of Dentistry*, 19(1).
- WHO. 2016. Global Reports on Diabetes. France: World Health Organization

- Xie, Y., W. Yang, F. Tang, X. Chen, and L. Ren. 2014. Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism. *Current Medicinal Chemistry*, 22(1), 132–149.
- Yoshikawa, K., C. Yagi, H. Hama, M. Tanaka, S. Arihara, and T. Hashimoto. 2010. Ipomotaosides A-D, resin glycosides from the aerial parts of ipomoea batatas and their inhibitory activity against COX-1 and COX-2. *Journal of Natural Products*, 73(11), 1763–1766.
- Yudaniayanti, I.S., E. Maulana, and A. Ma'ruf. 2010. Profil penggunaan Kombinasi ketamin-xylazine dan ketamin-midazolam sebagai anestesi umum terhadap gambaran fisiologis tubuh pada kelinci jantan. *Veterinaria Medika*, 3(1), 23-30.
- Żwir-Ferenc, A. and Biziuk, M., 2006. Solid Phase Extraction Technique-Trends, Opportunities and Applications. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15(5).



**LAMPIRAN****3.1 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 : 1.269 /H25.1.11/KE/2018

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 JENIS *VEHICLE* GEL FRAKSI UMBI BIDARA UPAS (*Merremia mammosa Lour*) PADA PENYEMBUHAN LUKA TIKUS DIABETES BERDASARKAN ANALISIS HIDROKSIPROLIN**

Nama Peneliti Utama : Mizan Maulana.  
*Name of the principal investigator*

NIM : 152010101115

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

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

Jember, 18.01.2019  
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 : *Replacement, Reduce, Refinement*)
2. Mohon diperhatikan kontrol kualitas vehicles gel fraksi air ekstrak etanol umbi bidara upas yang digunakan dalam penelitian.
3. Mohon diperhatikan kemungkinan terjadi infeksi pada luka yang dibuat pada hewan coba sehingga dapat mengurangi bias penelitian .
4. Mohon diperhatikan pembuatan luka diabetik dilakukan oleh orang yang terampil secara cepat dan tepat agar tidak melukai hewan coba.
5. Pembacaan dan pengukuran kadar hidroksiprolin jaringan tikus kornea dilakukan oleh orang kompeten.
6. Mohon diperhatikan pembuangan limbah medis dan limbah B3 agar tidak mencemari lingkungan.

Mengetahui  
Ketua Komisi Etik Penelitian



dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Jember, 10 Januari 2019

Reviewer

dr. Ayu Munawaroh Aziz, M.Biomed

### 3.2 Rekomendasi Bebas Plagiasi

 **KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI**  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
Jl. Kalimantan I/37 Kampus Tegal Boto, Telp. (0331) 337877, Fax (0331) 324446  
Jember 68121.

---

**REKOMENDASI BEBAS PLAGIASI**

Nomor : 81 /H25.1.11/KBSI/2019

Komisi bimbingan Skripsi dan Ilmiah, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya peningkatan kualitas dan originalitas karya tulis ilmiah mahasiswa berupa skripsi, telah melakukan pemeriksaan plagiasi atas skripsi yang berjudul :

**EFEKTIVITAS JENIS VEHICLE GEL FRAKSI UMBI BIDARA UPAS (MERREMIA MAMMOSA LOUR) PADA PENYEMBUHAN LUKA TIKUS HIPERGLIKEMI BERDASARKAN ANALISIS HIDROKSIPROLIN**

Nama Penulis : Mizan Maulana  
NIM. : 152010101115  
Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Telah menyetujui dan dinyatakan "**BEBAS PLAGIASI**"

Surat Rekomendasi ini dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 18 Februari 2019  
Ketua,  
Komisi Bimbingan Skripsi & Ilmiah


  
**Dr. dr. Yunita Armiyanti, M.Kes**  
NIP. 19740604 200112 2 002

## 4.1 Hasil Pemeriksaan GDA Tikus

GDA (mg/dL)					
hari ke-7		hari ke-13		hari ke-24	
C(-)		C(-)		C(-)	
1	112	1	244	1	459
2	108	2	345	2	284
3	103	3	435	3	363
4	83	4	600	4	420
C(+)		C(+)		C(+)	
1	90	1	331	1	420
2	115	2	375	2	521
3	72	3	454	3	429
4	83	4	545	4	459
T1		T1		T1	
1	103	1	324	1	458
2	147	2	345	2	381
3	88	3	498	3	332
4	76	4	555	4	347
T2		T2		T2	
1	98	1	273	1	270
2	78	2	342	2	221
3	80	3	505	3	420
4	60	4	600	4	564
T3		T3		T3	
1	90	1	331	1	372
2	92	2	409	2	574
3	106	3	439	3	387
4	95	4	527	4	528



## 4.2 Hasil Pemeriksaan Hidroksiprolin dan Kurva Standar Hidroksiprolin


**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA**  
**LABORATORIUM ILMU FAAL**  
 Jalan Veteran – Kampus Sumbersari Malang – 65145  
 Telp. (0341) 569117, 567192, 551011 - Psw.213 – Fax. (021)0341) 564755 E-mail: Sekr\_fkubj@u.brawijaya.ac.id

---

**SURAT KETERANGAN HASIL UJI**  
No. 279 /UN10.7/UL/2019

Nama Peneliti : Mizan M  
 Kode Sampel : GSL/S-00684  
 NIM :  
 Sampel : Saliva  
 Tanggal Penerimaan : 25 Januari 2019  
 Volume Sampel : 100 µL

Sehubungan dengan pemeriksaan terhadap sampel uji Saudara, maka berikut kami sampaikan hasil pemeriksaan seperti di bawah ini :

No	KODE	ABS	[hydroxyproline], ng/ml
1	C+3	0.879	25.606
2	T1.1	1.02	35.898
3	C-3	0.715	13.635
4	C-1	0.688	11.664
5	T3.2	0.91	27.869
6	T1.2	0.867	24.730
7	T1.3	1.61	78.964
8	T2.1	0.887	26.190
9	T3.1	1.776	91.080
10	C+2	0.844	23.051
11	T2.3	0.804	20.131
12	T3.4	0.859	24.146
13	T2.2	1.008	35.022
14	C+4	1.057	38.599
15	C-2	0.616	6.409
16	T3.3	0.912	28.015
17	T2.4	0.8	19.839
18	C-4	0.769	17.577

standart  
Hydroxyproline.  
ng/mL

120	2,188
60	1,326
30	0,882
15	0,735
7,5	0,685



### 4.3 Luas Luka Tikus Hari ke-10

Tikus	Luas Luka Diabetik Hari ke-10 (mm <sup>2</sup> )
K-1	80
K-2	153
K-3	90
K-4	107
K+2	98
K+3	93
K+4	47
T1.1	25
T1.2	62
T1.3	49
T2.1	60
T2.2	63
T2.3	55
T2.4	46
T3.1	106
T3.2	20
T3.3	26
T3.4	50

Kelompok	Rerata Luas luka (mm <sup>2</sup> )	SE
K-	107.50	16.16
K+	79.33	16.23
T1	45.33	10.84
T2	56.00	3.72
T3	50.50	19.60

#### 4.4 Uji Statistika GDA Tikus

```

GET
  FILE='D:\Studi\Fakultas Kedokteran\akademik\Semester
7\Skripsi\data\data gda dan hyp.sav'.
DATASET NAME DataSet1 WINDOW=FRONT.
EXAMINE VARIABLES=Induksi Terminasi BY Perlakuan
  /PLOT BOXPLOT STEMLEAF HISTOGRAM NPLOT
  /COMPARE GROUPS
  /STATISTICS DESCRIPTIVES
  /CINTERVAL 95
  /MISSING LISTWISE
  /NOTOTAL.

```

#### Explore

##### Notes

Output Created	01-FEB-2019 16:25:41	
Comments		
Input	Data	D:\Studi\Fakultas Kedokteran\akademik\Semester 7\Skripsi\data\data gda dan hyp.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	18
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values for dependent variables are treated as missing.
	Cases Used	Statistics are based on cases with no missing values for any dependent variable or factor used.

Syntax	EXAMINE VARIABLES=Induksi Terminasi BY Perlakuan /PLOT BOXPLOT STEMLEAF HISTOGRAM NPLOT /COMPARE GROUPS /STATISTICS DESCRIPTIVES /CINTERVAL 95 /MISSING LISTWISE /NOTOTAL.	
Resources	Processor Time	00:00:05.73
	Elapsed Time	00:00:05.82

[DataSet1] D:\Studi\Fakultas Kedokteran\akademik\Semester 7\Skripsi\data\data gda dan hyp.sav

### Jenis Gel

#### Case Processing Summary

		Valid		Cases Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
GDA (mg/dl)	C-	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	C+	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	T1	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	T2	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	T3	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
GDA (mg/dl)	C-	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	C+	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	T1	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	T2	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	T3	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%

#### Descriptives

		Jenis Gel		Statistic	Std. Error
GDA (mg/dl)	C-	Mean		406.0000	75.52152
		Lower Bound		165.6568	

	95% Confidence Interval for Mean	Upper Bound	646.3432	
	5% Trimmed Mean		404.2222	
	Median		390.0000	
	Variance		22814.000	
	Std. Deviation		151.04304	
	Minimum		244.00	
	Maximum		600.00	
	Range		356.00	
	Interquartile Range		289.50	
	Skewness		.551	1.014
	Kurtosis		.076	2.619
C+	Mean		458.0000	49.11551
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	246.6730	
		Upper Bound	669.3270	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		454.0000	
	Variance		7237.000	
	Std. Deviation		85.07056	
	Minimum		375.00	
	Maximum		545.00	
	Range		170.00	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		.211	1.225
	Kurtosis		.	.
T1	Mean		389.0000	54.83612
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	153.0592	
		Upper Bound	624.9408	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		345.0000	
	Variance		9021.000	
	Std. Deviation		94.97895	
	Minimum		324.00	
	Maximum		498.00	
	Range		174.00	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		1.637	1.225

		Kurtosis	.	.
T2		Mean	430.0000	74.67597
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound 192.3477 Upper Bound 667.6523	
		5% Trimmed Mean	429.2778	
		Median	423.5000	
		Variance	22306.000	
		Std. Deviation	149.35193	
		Minimum	273.00	
		Maximum	600.00	
		Range	327.00	
		Interquartile Range	286.00	
		Skewness	.157	1.014
		Kurtosis	-3.220	2.619
T3		Mean	426.5000	40.50000
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound 297.6109 Upper Bound 555.3891	
		5% Trimmed Mean	426.2222	
		Median	424.0000	
		Variance	6561.000	
		Std. Deviation	81.00000	
		Minimum	331.00	
		Maximum	527.00	
		Range	196.00	
		Interquartile Range	154.50	
		Skewness	.176	1.014
		Kurtosis	.850	2.619
GDA (mg/dl)	C-	Mean	381.5000	38.00987
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound 260.5356 Upper Bound 502.4644	
		5% Trimmed Mean	382.6111	
		Median	391.5000	
		Variance	5779.000	
		Std. Deviation	76.01973	
		Minimum	284.00	
		Maximum	459.00	
		Range	175.00	

	Interquartile Range		145.50	
	Skewness		-.623	1.014
	Kurtosis		-.649	2.619
C+	Mean		469.6667	27.08833
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	353.1150	
	Mean	Upper Bound	586.2184	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		459.0000	
	Variance		2201.333	
	Std. Deviation		46.91837	
	Minimum		429.00	
	Maximum		521.00	
	Range		92.00	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		.970	1.225
	Kurtosis		.	.
T1	Mean		390.3333	36.67121
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	232.5498	
	Mean	Upper Bound	548.1168	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		381.0000	
	Variance		4034.333	
	Std. Deviation		63.51640	
	Minimum		332.00	
	Maximum		458.00	
	Range		126.00	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		.647	1.225
	Kurtosis		.	.
T2	Mean		368.7500	77.63738
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	121.6732	
	Mean	Upper Bound	615.8268	
	5% Trimmed Mean		366.1111	
	Median		345.0000	
	Variance		24110.250	
	Std. Deviation		155.27476	
	Minimum		221.00	



	Maximum	564.00	
	Range	343.00	
	Interquartile Range	294.75	
	Skewness	.604	1.014
	Kurtosis	-1.849	2.619
T3	Mean	465.2500	50.48329
	95% Confidence Interval for Lower Bound	304.5896	
	Mean Upper Bound	625.9104	
	5% Trimmed Mean	464.3889	
	Median	457.5000	
	Variance	10194.250	
	Std. Deviation	100.96658	
	Minimum	372.00	
	Maximum	574.00	
	Range	202.00	
	Interquartile Range	186.75	
	Skewness	.158	1.014
	Kurtosis	-4.889	2.619

**Tests of Normality**

		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Jenis Gel	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
GDA (mg/dl)	C-	.174	4	.	.985	4	.930
	C+	.185	3	.	.998	3	.922
	T1	.345	3	.	.839	3	.212
	T2	.222	4	.	.948	4	.703
	T3	.189	4	.	.991	4	.965
GDA (mg/dl)	C-	.194	4	.	.971	4	.848
	C+	.257	3	.	.961	3	.622
	T1	.225	3	.	.984	3	.756
	T2	.238	4	.	.940	4	.651
	T3	.281	4	.	.861	4	.264

a. Lilliefors Significance Correction

### GDA (mg/dl)

DATASET ACTIVATE DataSet1.

```
SAVE OUTFILE='D:\Studi\Fakultas Kedokteran\akademik\Semester
7\Skripsi\data\data gda dan hyp.sav'
/COMPRESSED.
ONEWAY Induksi Terminasi BY Perlakuan
/MISSING ANALYSIS
/POSTHOC=LSD BONFERRONI ALPHA(0.05).
```

### Oneway

Notes		
Output Created		01-FEB-2019 16:28:25
Comments		
Input	Data	D:\Studi\Fakultas Kedokteran\akademik\Semester 7\Skripsi\data\data gda dan hyp.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	18
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each analysis are based on cases with no missing data for any variable in the analysis.
Syntax		ONEWAY Induksi Terminasi BY Perlakuan  /MISSING ANALYSIS  /POSTHOC=LSD BONFERRONI ALPHA(0.05).
Resources	Processor Time	00:00:00.03
	Elapsed Time	00:00:00.04

**ANOVA**

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
GDA (mg/dl)	Between Groups	8514.611	4	2128.653	.148	.9
	Within Groups	187559.000	13	14427.615		
	Total	196073.611	17			
GDA (mg/dl)	Between Groups	33892.611	4	8473.153	.830	.5
	Within Groups	132721.833	13	10209.372		
	Total	166614.444	17			

**Post Hoc Tests**

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable	(I) Jenis Gel	(J) Jenis Gel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
						Lower Bound	Upper Bound	
GDA (mg/dl)	LSD	C-	C+	-52.00000	91.73935	.580	-250.1908	146.1908
			T1	17.00000	91.73935	.856	-181.1908	215.1908
			T2	-24.00000	84.93414	.782	-207.4890	159.4890
			T3	-20.50000	84.93414	.813	-203.9890	162.9890
		C+	C-	52.00000	91.73935	.580	-146.1908	250.1908
			T1	69.00000	98.07349	.494	-142.8749	280.8749
			T2	28.00000	91.73935	.765	-170.1908	226.1908
			T3	31.50000	91.73935	.737	-166.6908	229.6908
		T1	C-	-17.00000	91.73935	.856	-215.1908	181.1908
			C+	-69.00000	98.07349	.494	-280.8749	142.8749
			T2	-41.00000	91.73935	.662	-239.1908	157.1908
			T3	-37.50000	91.73935	.689	-235.6908	160.6908
	T2	C-	24.00000	84.93414	.782	-159.4890	207.4890	
		C+	-28.00000	91.73935	.765	-226.1908	170.1908	
		T1	41.00000	91.73935	.662	-157.1908	239.1908	
		T3	3.50000	84.93414	.968	-179.9890	186.9890	
T3	C-	20.50000	84.93414	.813	-162.9890	203.9890		
	C+	-31.50000	91.73935	.737	-229.6908	166.6908		

			T1	37.50000	91.73935	.689	-160.6908	235.6908
			T2	-3.50000	84.93414	.968	-186.9890	179.9890
Bonfe	C-		C+	-52.00000	91.73935	1.000	-361.3880	257.3880
rroni			T1	17.00000	91.73935	1.000	-292.3880	326.3880
			T2	-24.00000	84.93414	1.000	-310.4377	262.4377
			T3	-20.50000	84.93414	1.000	-306.9377	265.9377
	C+		C-	52.00000	91.73935	1.000	-257.3880	361.3880
			T1	69.00000	98.07349	1.000	-261.7497	399.7497
			T2	28.00000	91.73935	1.000	-281.3880	337.3880
			T3	31.50000	91.73935	1.000	-277.8880	340.8880
	T1		C-	-17.00000	91.73935	1.000	-326.3880	292.3880
			C+	-69.00000	98.07349	1.000	-399.7497	261.7497
			T2	-41.00000	91.73935	1.000	-350.3880	268.3880
			T3	-37.50000	91.73935	1.000	-346.8880	271.8880
	T2		C-	24.00000	84.93414	1.000	-262.4377	310.4377
			C+	-28.00000	91.73935	1.000	-337.3880	281.3880
			T1	41.00000	91.73935	1.000	-268.3880	350.3880
			T3	3.50000	84.93414	1.000	-282.9377	289.9377
	T3		C-	20.50000	84.93414	1.000	-265.9377	306.9377
			C+	-31.50000	91.73935	1.000	-340.8880	277.8880
			T1	37.50000	91.73935	1.000	-271.8880	346.8880
			T2	-3.50000	84.93414	1.000	-289.9377	282.9377
GDA	LSD	C-	C+	-88.16667	77.17167	.274	-254.8859	78.5526
(mg/dl)			T1	-8.83333	77.17167	.911	-175.5526	157.8859
			T2	12.75000	71.44708	.861	-141.6020	167.1020
			T3	-83.75000	71.44708	.262	-238.1020	70.6020
	C+		C-	88.16667	77.17167	.274	-78.5526	254.8859
			T1	79.33333	82.49999	.354	-98.8971	257.5637
			T2	100.91667	77.17167	.214	-65.8026	267.6359
			T3	4.41667	77.17167	.955	-162.3026	171.1359
	T1		C-	8.83333	77.17167	.911	-157.8859	175.5526
			C+	-79.33333	82.49999	.354	-257.5637	98.8971
			T2	21.58333	77.17167	.784	-145.1359	188.3026
			T3	-74.91667	77.17167	.349	-241.6359	91.8026
	T2		C-	-12.75000	71.44708	.861	-167.1020	141.6020
			C+	-100.91667	77.17167	.214	-267.6359	65.8026
			T1	-21.58333	77.17167	.784	-188.3026	145.1359

	T3	-96.50000	71.44708	.200	-250.8520	57.8520
T3	C-	83.75000	71.44708	.262	-70.6020	238.1020
	C+	-4.41667	77.17167	.955	-171.1359	162.3026
	T1	74.91667	77.17167	.349	-91.8026	241.6359
	T2	96.50000	71.44708	.200	-57.8520	250.8520
Bonfe C-	C+	-88.16667	77.17167	1.000	-348.4257	172.0923
rroni	T1	-8.83333	77.17167	1.000	-269.0923	251.4257
	T2	12.75000	71.44708	1.000	-228.2030	253.7030
	T3	-83.75000	71.44708	1.000	-324.7030	157.2030
	C-	88.16667	77.17167	1.000	-172.0923	348.4257
C+	T1	79.33333	82.49999	1.000	-198.8952	357.5619
	T2	100.91667	77.17167	1.000	-159.3423	361.1757
	T3	4.41667	77.17167	1.000	-255.8423	264.6757
	C-	8.83333	77.17167	1.000	-251.4257	269.0923
T1	C+	-79.33333	82.49999	1.000	-357.5619	198.8952
	T2	21.58333	77.17167	1.000	-238.6757	281.8423
	T3	-74.91667	77.17167	1.000	-335.1757	185.3423
	C-	-12.75000	71.44708	1.000	-253.7030	228.2030
T2	C+	-100.91667	77.17167	1.000	-361.1757	159.3423
	T1	-21.58333	77.17167	1.000	-281.8423	238.6757
	T3	-96.50000	71.44708	1.000	-337.4530	144.4530
	C-	83.75000	71.44708	1.000	-157.2030	324.7030
T3	C+	-4.41667	77.17167	1.000	-264.6757	255.8423
	T1	74.91667	77.17167	1.000	-185.3423	335.1757
	T2	96.50000	71.44708	1.000	-144.4530	337.4530

ONEWAY Induksi Terminasi BY Perlakuan  
 /STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY  
 /MISSING ANALYSIS.

## Oneway

### Notes

Output Created

01-FEB-2019 16:43:20

Comments

Input	Data	D:\Studi\Fakultas Kedokteran\akademik\Semester 7\Skripsi\data\data gda dan hyp.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	18
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each analysis are based on cases with no missing data for any variable in the analysis.
Syntax	ONEWAY Induksi Terminasi BY Perlakuan /STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY /MISSING ANALYSIS.	
Resources	Processor Time	00:00:00.05
	Elapsed Time	00:00:00.28

**Descriptives**

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
GDA (mg/dl)	C-	4	406.0000	151.04304	75.52152	165.6568	646.3432	244.00	600.00
	C+	3	458.0000	85.07056	49.11551	246.6730	669.3270	375.00	545.00
	T1	3	389.0000	94.97895	54.83612	153.0592	624.9408	324.00	498.00
	T2	4	430.0000	149.35193	74.67597	192.3477	667.6523	273.00	600.00
	T3	4	426.5000	81.00000	40.50000	297.6109	555.3891	331.00	527.00
	Total	18	421.7222	107.39526	25.31331	368.3158	475.1286	244.00	600.00
GDA (mg/dl)	C-	4	381.5000	76.01973	38.00987	260.5356	502.4644	284.00	459.00
	C+	3	469.6667	46.91837	27.08833	353.1150	586.2184	429.00	521.00
	T1	3	390.3333	63.51640	36.67121	232.5498	548.1168	332.00	458.00

T2	4	368.7500	155.27476	77.63738	121.6732	615.8268	221.00	564.00
T3	4	465.2500	100.96658	50.48329	304.5896	625.9104	372.00	574.00
Total	18	413.4444	98.99924	23.33434	364.2133	462.6756	221.00	574.00

### Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
GDA (mg/dl)	1.188	4	13	.362
GDA (mg/dl)	3.086	4	13	.054

### ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
GDA (mg/dl)	Between Groups	8514.611	4	2128.653	.148	.961
	Within Groups	187559.000	13	14427.615		
	Total	196073.611	17			
GDA (mg/dl)	Between Groups	33892.611	4	8473.153	.830	.530
	Within Groups	132721.833	13	10209.372		
	Total	166614.444	17			

#### 4.5 Uji Statistika Kadar Hidroksiprolin Tikus

```

GET
  FILE='D:\Studi\Fakultas Kedokteran\akademik\Semester
7\spss1.sav'.
DATASET NAME DataSet1 WINDOW=FRONT.
EXAMINE VARIABLES=Hidroksiprolin BY Perlakuan
  /PLOT BOXPLOT STEMLEAF HISTOGRAM NPLOT
  /COMPARE GROUPS
  /STATISTICS DESCRIPTIVES
  /CINTERVAL 95
  /MISSING LISTWISE
  /NOTOTAL.

```

#### Explore

Notes		
Output Created		01-FEB-2019 05:21:58
Comments		
Input	Data	D:\Studi\Fakultas Kedokteran\akademik\Semester 7\spss1.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	18
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values for dependent variables are treated as missing.
	Cases Used	Statistics are based on cases with no missing values for any dependent variable or factor used.



Syntax	EXAMINE VARIABLES=Hidroksiprolin BY Perlakuan /PLOT BOXPLOT STEMLEAF HISTOGRAM NPLOT /COMPARE GROUPS /STATISTICS DESCRIPTIVES /CINTERVAL 95 /MISSING LISTWISE /NOTOTAL.
Resources	Processor Time 00:00:03.84 Elapsed Time 00:00:03.60

[DataSet1] D:\Studi\Fakultas Kedokteran\akademik\Semester 7\spss1.sav

### Jenis Gel

#### Case Processing Summary

	Jenis Gel	Valid		Cases Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Kadar hyp (ng/ml)	C-	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	C+	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	T1	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	T2	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	T3	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%

#### Descriptives

	Jenis Gel	Statistic	Std. Error
Kadar hyp (ng/ml)	C-	Mean	12.32125
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound 4.92959
		Upper Bound	19.71291
		5% Trimmed Mean	12.35772
		Median	12.64950

	Variance		21.579	
	Std. Deviation		4.645267	
	Minimum		6.409	
	Maximum		17.577	
	Range		11.168	
	Interquartile Range		8.869	
	Skewness		-.396	1.014
	Kurtosis		.732	2.619
C+	Mean		29.08533	4.813675
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	8.37376	
	Mean	Upper Bound	49.79690	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		25.60600	
	Variance		69.514	
	Std. Deviation		8.337529	
	Minimum		23.051	
	Maximum		38.599	
	Range		15.548	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		1.551	1.225
	Kurtosis		.	.
T1	Mean		46.53067	16.534024
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	-24.60950	
	Mean	Upper Bound	117.67083	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		35.89800	
	Variance		820.122	
	Std. Deviation		28.637770	
	Minimum		24.730	
	Maximum		78.964	
	Range		54.234	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		1.440	1.225
	Kurtosis		.	.
T2	Mean		25.29550	3.557274
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	13.97467	
	Mean	Upper Bound	36.61633	

	5% Trimmed Mean	25.05828	
	Median	23.16050	
	Variance	50.617	
	Std. Deviation	7.114548	
	Minimum	19.839	
	Maximum	35.022	
	Range	15.183	
	Interquartile Range	12.902	
	Skewness	1.149	1.014
	Kurtosis	.224	2.619
T3	Mean	42.77750	16.125702
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-8.54168
		Upper Bound	94.09668
	5% Trimmed Mean	41.12911	
	Median	27.94200	
	Variance	1040.153	
	Std. Deviation	32.251403	
	Minimum	24.146	
	Maximum	91.080	
	Range	66.934	
	Interquartile Range	50.237	
	Skewness	1.981	1.014
	Kurtosis	3.941	2.619

### Tests of Normality

	Jenis Gel	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar hyp (ng/ml)	C-	.194	4	.	.989	4	.955
	C+	.328	3	.	.869	3	.294
	T1	.311	3	.	.897	3	.375
	T2	.266	4	.	.862	4	.268
	T3	.426	4	.	.679	4	.006

a. Lilliefors Significance Correction

**Kadar hyp (ng/ml)**

```

NPAR TESTS
  /K-W=Hidroksiprolin BY Perlakuan(1 5)
  /MISSING ANALYSIS.

```

**NPar Tests**

Notes		
Output Created		01-FEB-2019 05:24:09
Comments		
Input	Data	D:\Studi\Fakultas Kedokteran\akademik\Semester 7\spss1.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPAR TESTS /K-W=Hidroksiprolin BY Perlakuan(1 5) /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00.02
	Elapsed Time	00:00:00.01
	Number of Cases Allowed <sup>a</sup>	449389

a. Based on availability of workspace memory.

## Kruskal-Wallis Test

Ranks			
	Jenis Gel	N	Mean Rank
Kadar hyp (ng/ml)	C-	4	2.50
	C+	3	11.00
	T1	3	13.67
	T2	4	9.00
	T3	4	12.75
	Total	18	

### Test Statistics<sup>a,b</sup>

Kadar hyp (ng/ml)	
Chi-Square	10.459
df	4
Asymp. Sig.	.033

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Jenis Gel

NPAR TESTS  
 /M-W= Hidroksiprolin BY Perlakuan(1 2)  
 /MISSING ANALYSIS.

## NPar Tests

### Notes

Output Created	01-FEB-2019 05:24:46	
Comments		
Input	Data	D:\Studi\Fakultas Kedokteran\akademik\Semester 7\spss1.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	18

Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPAR TESTS /M-W= Hidroksiprolin BY Perlakuan(1 2) /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00.00
	Elapsed Time	00:00:00.06
	Number of Cases Allowed <sup>a</sup>	449389

a. Based on availability of workspace memory.

## Mann-Whitney Test

	Ranks			
	Jenis Gel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar hyp (ng/ml)	C-	4	2.50	10.00
	C+	3	6.00	18.00
	Total	7		

### Test Statistics<sup>a</sup>

	Kadar hyp (ng/ml)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Jenis Gel

b. Not corrected for ties.

NPAR TESTS

/M-W= Hidroksiprolin BY Perlakuan(1 3)

/MISSING ANALYSIS.

## NPar Tests

Notes		
Output Created		01-FEB-2019 05:25:23
Comments		
Input	Data	D:\Studi\Fakultas Kedokteran\akademik\Semester 7\spss1.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	18
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPART TESTS /M-W= Hidroksiprolin BY Perlakuan(1 3) /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00.00
	Elapsed Time	00:00:00.01
	Number of Cases Allowed <sup>a</sup>	449389

a. Based on availability of workspace memory.

## Mann-Whitney Test

### Ranks

	Jenis Gel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar hyp (ng/ml)	C-	4	2.50	10.00
	T1	3	6.00	18.00
	Total	7		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Kadar hyp (ng/ml)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Jenis Gel

b. Not corrected for ties.

**NPAR TESTS**

/M-W= Hidroksiprolin BY Perlakuan(1 4)  
/MISSING ANALYSIS.

**NPar Tests**

**Notes**

Output Created	01-FEB-2019 05:26:04	
Comments		
Input	Data	D:\Studi\Fakultas Kedokteran\akademik\Semester 7\spss1.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	18
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax	NPAR TESTS /M-W= Hidroksiprolin BY Perlakuan(1 4) /MISSING ANALYSIS.	
Resources	Processor Time	00:00:00.00
	Elapsed Time	00:00:00.01



Number of Cases Allowed <sup>a</sup>	449389
--------------------------------------	--------

a. Based on availability of workspace memory.

### Mann-Whitney Test

		Ranks		
	Jenis Gel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar hyp (ng/ml)	C-	4	2.50	10.00
	T2	4	6.50	26.00
	Total	8		

### Test Statistics<sup>a</sup>

	Kadar hyp (ng/ml)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Jenis Gel

b. Not corrected for ties.

```

NPAR TESTS
  /M-W= Hidroksiprolin BY Perlakuan(1 5)
  /MISSING ANALYSIS.
    
```

### NPar Tests

### Notes

Output Created	01-FEB-2019 05:26:34	
Comments		
Input	Data	D:\Studi\Fakultas Kedokteran\akademik\Semester 7\spss1.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	18

Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPAR TESTS /M-W= Hidroksiprolin BY Perlakuan(1 5) /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00.02
	Elapsed Time	00:00:00.01
	Number of Cases Allowed <sup>a</sup>	449389

a. Based on availability of workspace memory.

### Mann-Whitney Test

		Ranks		
	Jenis Gel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar hyp (ng/ml)	C-	4	2.50	10.00
	T3	4	6.50	26.00
	Total	8		

### Test Statistics<sup>a</sup>

	Kadar hyp (ng/ml)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Jenis Gel

b. Not corrected for ties.

NPAR TESTS  
 /M-W= Hidroksiprolin BY Perlakuan(2 3)  
 /MISSING ANALYSIS.

## NPar Tests

Notes		
Output Created		01-FEB-2019 05:27:02
Comments		
Input	Data	D:\Studi\Fakultas Kedokteran\akademik\Semester 7\spss1.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	18
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPARTESTS /M-W= Hidroksiprolin BY Perlakuan(2 3) /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00.02
	Elapsed Time	00:00:00.01
	Number of Cases Allowed <sup>a</sup>	449389

a. Based on availability of workspace memory.

## Mann-Whitney Test

### Ranks

	Jenis Gel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar hyp (ng/ml)	C+	3	3.00	9.00
	T1	3	4.00	12.00
	Total	6		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Kadar hyp (ng/ml)
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	9.000
Z	-.655
Asymp. Sig. (2-tailed)	.513
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.700 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Jenis Gel

b. Not corrected for ties.

**NPAR TESTS**

```
/M-W= Hidroksiprolin BY Perlakuan(2 4)
/MISSING ANALYSIS.
```

**NPar Tests****Notes**

Output Created	01-FEB-2019 05:27:28	
Comments		
Input	Data	D:\Studi\Fakultas Kedokteran\akademik\Semester 7\spss1.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	18
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax	<pre>NPAR TESTS /M-W= Hidroksiprolin BY Perlakuan(2 4) /MISSING ANALYSIS.</pre>	
Resources	Processor Time	00:00:00.00
	Elapsed Time	00:00:00.01

Number of Cases Allowed <sup>a</sup>	449389
--------------------------------------	--------

a. Based on availability of workspace memory.

### Mann-Whitney Test

		Ranks		
	Jenis Gel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar hyp (ng/ml)	C+	3	4.67	14.00
	T2	4	3.50	14.00
	Total	7		

### Test Statistics<sup>a</sup>

	Kadar hyp (ng/ml)
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-.707
Asymp. Sig. (2-tailed)	.480
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.629 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Jenis Gel

b. Not corrected for ties.

NPAR TESTS  
 /M-W= Hidroksiprolin BY Perlakuan(2 5)  
 /MISSING ANALYSIS.

### NPar Tests

#### Notes

Output Created	01-FEB-2019 05:28:08	
Comments		
Input	Data	D:\Studi\Fakultas Kedokteran\akademik\Semester 7\spss1.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	18

Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPAR TESTS /M-W= Hidroksiprolin BY Perlakuan(2 5) /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00.02
	Elapsed Time	00:00:00.01
	Number of Cases Allowed <sup>a</sup>	449389

a. Based on availability of workspace memory.

## Mann-Whitney Test

		Ranks		
	Jenis Gel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar hyp (ng/ml)	C+	3	3.33	10.00
	T3	4	4.50	18.00
	Total	7		

### Test Statistics<sup>a</sup>

	Kadar hyp (ng/ml)
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-.707
Asymp. Sig. (2-tailed)	.480
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.629 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Jenis Gel

b. Not corrected for ties.

NPAR TESTS

/M-W= Hidroksiprolin BY Perlakuan(3 4)

/MISSING ANALYSIS.

## NPar Tests

Notes		
Output Created		01-FEB-2019 05:28:33
Comments		
Input	Data	D:\Studi\Fakultas Kedokteran\akademik\Semester 7\spss1.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	18
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPART TESTS /M-W= Hidroksiprolin BY Perlakuan(3 4) /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00.00
	Elapsed Time	00:00:00.01
	Number of Cases Allowed <sup>a</sup>	449389

a. Based on availability of workspace memory.

## Mann-Whitney Test

Ranks				
	Jenis Gel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar hyp (ng/ml)	T1	3	5.33	16.00
	T2	4	3.00	12.00
	Total	7		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Kadar hyp (ng/ml)
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	12.000
Z	-1.414
Asymp. Sig. (2-tailed)	.157
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.229 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Jenis Gel

b. Not corrected for ties.

## NPAR TESTS

/M-W= Hidroksiprolin BY Perlakuan(3 5)

/MISSING ANALYSIS.

**NPar Tests**

Notes		
Output Created		01-FEB-2019 05:28:52
Comments		
Input	Data	D:\Studi\Fakultas Kedokteran\akademik\Semester 7\spss1.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	18
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPAR TESTS /M-W= Hidroksiprolin BY Perlakuan(3 5) /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00.00
	Elapsed Time	00:00:00.01
	Number of Cases Allowed <sup>a</sup>	449389

a. Based on availability of workspace memory.



## Mann-Whitney Test

	Ranks			
	Jenis Gel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar hyp (ng/ml)	T1	3	4.33	13.00
	T3	4	3.75	15.00
	Total	7		

### Test Statistics<sup>a</sup>

	Kadar hyp (ng/ml)
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-.354
Asymp. Sig. (2-tailed)	.724
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.857 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Jenis Gel

b. Not corrected for ties.

NPAR TESTS  
 /M-W= Hidroksiprolin BY Perlakuan(4 5)  
 /MISSING ANALYSIS.

## NPar Tests

### Notes

Output Created	01-FEB-2019 05:29:18	
Comments		
Input	Data	D:\Studi\Fakultas Kedokteran\akademik\Semester 7\spss1.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	18
	Missing Value Handling	Definition of Missing

Cases Used		Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPARTESTS /M-W= Hidroksiprolin BY Perlakuan(4 5) /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00.02
	Elapsed Time	00:00:00.01
	Number of Cases Allowed <sup>a</sup>	449389

a. Based on availability of workspace memory.

### Mann-Whitney Test

	Ranks			
	Jenis Gel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar hyp (ng/ml)	T2	4	3.50	14.00
	T3	4	5.50	22.00
	Total	8		

### Test Statistics<sup>a</sup>

	Kadar hyp (ng/ml)
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.155
Asymp. Sig. (2-tailed)	.248
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Jenis Gel

b. Not corrected for ties.

ONEWAY Hidroksiprolin BY Perlakuan  
/STATISTICS HOMOGENEITY  
/MISSING ANALYSIS.

**Oneway****Notes**

Output Created		01-FEB-2019 17:10:05
Comments		
Input	Data	D:\Studi\Fakultas Kedokteran\akademik\Semester 7\Skripsi\data\data gda dan hyp.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	18
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each analysis are based on cases with no missing data for any variable in the analysis.
Syntax		ONEWAY Hidroksiprolin BY Perlakuan /STATISTICS HOMOGENEITY /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00.02
	Elapsed Time	00:00:00.01

**Test of Homogeneity of Variances**

Kadar hyp (ng/ml)

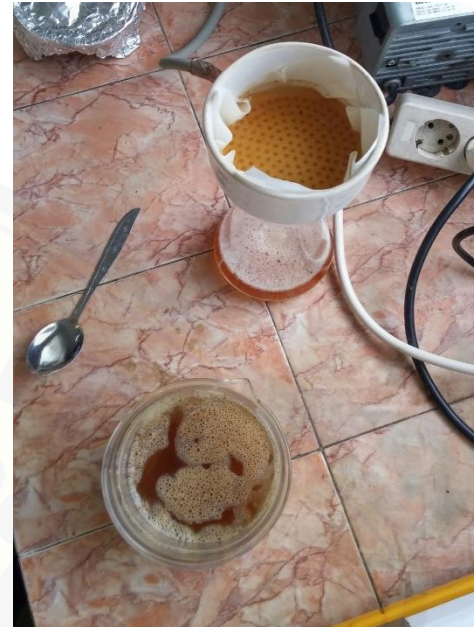
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.260	4	13	.020

#### 4.6 Dokumentasi Penelitian

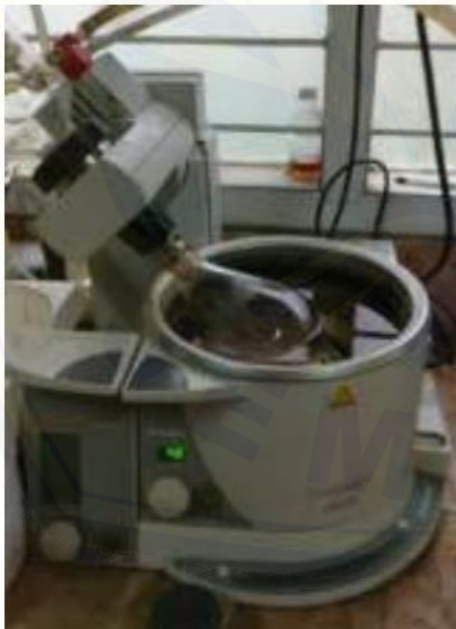
##### a. Proses ekstraksi dan fraksinasi



Proses maserase dengan ultrasonik



Penyaringan



Proses penguapan dengan *rotary evaporator*



Hasil *freeze drying*

b. Proses pembuatan gel



Penimbangan fraksi bidara upas



Pengembangan *vehicle*



Gel yang sudah jadi

c. Perlakuan terhadap hewan coba



Kandang pemeliharaan hewan coba



Induksi ketamine dan xylazine



Pemotongan rambut punggung tikus



Eksisi kulit tikus

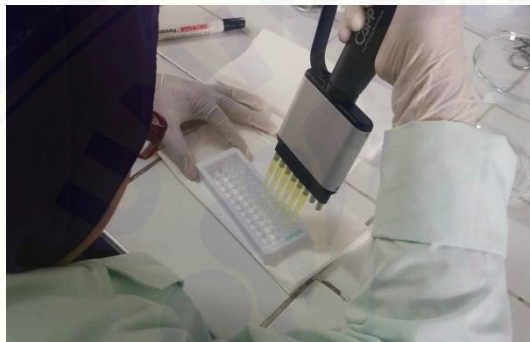
d. Pemeriksaan kadar hidroksiprolin



Preparasi sampel homogenat kulit



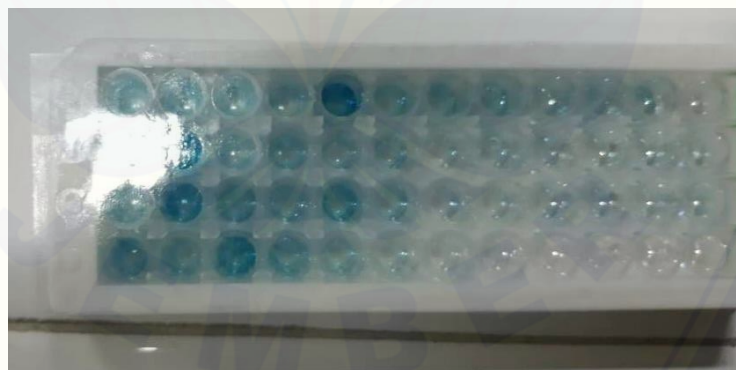
Sentrifugasi homogenat kulit



Aplikasi reagen ELISA kit pada sampel



Inkubasi sampel



Hasil ELISA sampel