



**PENGARUH EKSTRAK ETANOL BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten).  
Steenis) TERHADAP PROFIL HISTOPATOLOGI PENYEMBUHAN  
LUKA TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

**SKRIPSI**

Oleh

**Rosarina Nurul Firdausi  
NIM 102210101030**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**



**PENGARUH EKSTRAK ETANOL BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten).  
Steenis) TERHADAP PROFIL HISTOPATOLOGI PENYEMBUHAN  
LUKA TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Fakultas Farmasi (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

**Rosarina Nurul Firdausi  
NIM 102210101030**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**

**PERSEMBAHAN**

Skripsi ini penulis persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang senantiasa mencurahkan kasih sayang dan rahmat-Nya kepada setiap makhluk-Nya pada setiap waktu hingga akhir zaman.
2. Ayah dan ibu tercinta yang telah memberikan segala yang terbaik yang dimiliki kepada penulis sejak lahir hingga akhir waktu.
3. Seluruh guru dalam pendidikan formal maupun non-formal yang telah senantiasa memberikan ilmu dan bekal terbaik untuk menjalani kehidupan.
4. Semua teman yang pernah ada dalam kehidupan penulis dan almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

**MOTTO**

Carilah ilmu dan harta supaya kamu bisa memimpin. Ilmu akan memudahkanmu memimpin orang-orang di atas, sedangkan harta akan memudahkanmu memimpin orang yang di bawah (masyarakat umum).

(Ali bin Abi Thalib)

Bantinglah otak untuk mencari ilmu sebanyak-banyaknya guna mencari rahasia besar yang terkandung di dalam benda besar yang bernama dunia ini, tetapi pasanglah pelita dalam hati sanubari, yaitu pelita kehidupan jiwa.

(Al Ghazali)

Sedikit pengetahuan yang dilaksanakan jauh lebih berharga daripada banyak pengetahuan tapi tidak digunakan.

(Khalil Gibran)

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rosarina Nurul Firdausi

NIM : 102210101030

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Etanol Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten). Steenis) terhadap Profil Histopatologi Penyembuhan Luka Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Aloksan” 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 di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 7 April 2015

Yang menyatakan,

Rosarina Nurul Firdausi

NIM 102210101030

**SKRIPSI**

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten).  
Steenis) TERHADAP PROFIL HISTOPATOLOGI PENYEMBUHAN  
LUKA TIKUS WISTAR JANTAN YANG  
DIINDUKSI ALOKSAN**

Oleh

Rosarina Nurul Firdausi  
NIM 102210101030

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si., Apt

Dosen Pembimbing Anggota : Fifteen Aprila Fajrin, S.Farm., M.Farm., Apt

**PENGESAHAN**

Karya ilmiah Skripsi berjudul “Pengaruh Ekstrak Etanol Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten). Steenis) terhadap Profil Histopatologi Penyembuhan Luka Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Aloksan” telah diuji dan disahkan pada:

Hari : Selasa

Tanggal : 7 April 2015

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

**Tim Pembimbing**

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Evi Umayah U, S.Si., M.Si., Apt  
NIP. 197807282005012001

Fifteen Aprila F, S.Farm., M.Farm., Apt  
NIP. 198204152006042002

**Tim Penguji**

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Afifah Machlaurin, S.Farm., M.Sc., Apt  
NIP. 198501262008012003

Ayik Rosita P, S.Farm., M.Farm., Apt  
NIP. 198102012006042001

Mengesahkan

Dekan,

Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt

NIP. 197604142002122001



**RINGKASAN**

**Pengaruh Ekstrak Etanol Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten). Steenis) terhadap Profil Histopatologi Penyembuhan Luka Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Aloksan:** Rosarina Nurul Firdausi, 102210101030; 2015; 78 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember

Jumlah penderita Diabetes Melitus (DM) terus meningkat dari tahun ke tahun. Diperkirakan terdapat 382 juta jiwa penderita DM di seluruh dunia pada tahun 2013. Jumlah ini akan meningkat menjadi 592 juta jiwa pada tahun 2035. Di Indonesia, prevalensi DM diperkirakan sebesar 6,7%, sedangkan berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar tahun 2013 prevalensi DM sebesar 6,9%. Seiring dengan berjalannya waktu DM dapat menyebabkan komplikasi yang serius, salah satunya adalah ulkus diabetik. Pada tahun 2008, diperkirakan terdapat 8,0% penderita DM yang mengalami ulkus diabetik.

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui aktivitas binahong dalam penyembuhan ulkus diabetik dilihat dari profil histopatologinya. Tanaman yang dapat menyembuhkan luka adalah binahong (*Anredera cordifolia* (Ten). Steenis). Secara farmakologi binahong memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antifungi, antibakteri, antidiabetes, dan antiinflamasi. Kandungan metabolit sekundernya antara lain alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin.

Jenis penelitian yang dilakukan adalah *true experimental laboratories* dengan rancangan penelitian *post test control group design*. Tahapan penelitian yang dilakukan meliputi ekstraksi, karakterisasi ekstrak, dan uji aktivitas. Serbuk binahong diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi bertingkat menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan etanol 70%. Ekstrak yang diperoleh ditentukan %rendemen dan dikarakterisasi, meliputi susut pengeringan, kadar flavonoid total, dan profil kromatografi lapis tipis. Pengujian aktivitas ekstrak binahong dilakukan secara *in vivo* pada tikus wistar jantan diabetes. Sebanyak 25 hewan uji diinduksi menggunakan aloksan dengan dosis 150 mg/kg BB sehingga hewan uji diabetes (glukosa darah  $\geq 200$  mg/dl). Hewan uji yang



telah diabetes kemudian dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kontrol positif, kontrol negatif, kelompok perlakuan 1, kelompok perlakuan 2, dan kelompok perlakuan 3. Hewan uji dianestesi menggunakan ketamin dengan dosis 50 mg/kg BB dan dieksisi kulit punggungnya dengan diameter 2,5 cm. Kelompok kontrol positif diberikan salep mupirosin dosis 100 mg, kelompok kontrol negatif tidak diberikan perlakuan, kelompok perlakuan 1 diberikan ekstrak etanol binahong dosis 100 mg, kelompok perlakuan 2 diberikan ekstrak etanol binahong dosis 200 mg, dan kelompok perlakuan 3 diberikan ekstrak etanol binahong dosis 400 mg. Perlakuan dilakukan selama 20 hari. Pada hari ke-21 hewan uji dikorbankan dan dibuat preparat jaringan penyembuhan luka. Setiap preparat diamati perkembangan kesembuhan luka secara histologi, yaitu pembentukan pembuluh darah baru, kolagen, dan jaringan epitel yang selanjutnya dianalisis secara deskriptif kualitatif dengan memperbandingkan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

Hasil penelitian menunjukkan nilai %rendemen ekstrak etanol binahong sebesar 25,81%. Hasil dari karakterisasi ekstrak adalah nilai susut pengeringan sebesar  $49,29\% \pm 0,28\%$ ; kadar flavonoid total sebesar  $1,10\% \pm 0,53\%$ ; serta profil KLT dengan 5 bercak noda pada  $Rf_1$  0,37;  $Rf_2$  0,48;  $Rf_3$  0,72;  $Rf_4$  0,93; dan  $Rf_5$  0,97. Secara makroskopis penyembuhan pada kelompok kontrol positif 96,69%; kontrol negatif 56,92%; ekstrak binahong dosis 100 mg 65,32%; ekstrak binahong dosis 200 mg 93,32%; dan ekstrak binahong dosis 400 mg 96,90%. Histopatologi pada kelompok kontrol positif menunjukkan terbentuknya kolagen dan jaringan epitel dengan jumlah pembuluh darah sedikit. Pada kelompok kontrol negatif belum terbentuk jaringan epitel, jumlah kolagen sedikit, dan pembuluh darah banyak. Pada kelompok ekstrak binahong dosis 100 mg jaringan epitel dan kolagen terbentuk sedikit dan jumlah pembuluh darah masih banyak. Pada kelompok ekstrak binahong dosis 200 mg jaringan epitel dan kolagen terbentuk banyak dengan jumlah pembuluh darah sedikit. Kolagen yang terbentuk di beberapa bagian telah *mature*. Pada kelompok ekstrak binahong dosis 400 mg jaringan epitel dan kolagen banyak terbentuk dengan jumlah pembuluh darah sedikit. Terdapat kolagen yang telah *mature* dan kelenjar keringat telah terbentuk.

Pemberian ekstrak etanol binahong pada ulkus diabetik dapat memperbaiki proses penyembuhan luka. Hal ini dapat diketahui dari peningkatan pembentukan jaringan epitel dan kolagen yang disertai penurunan jumlah pembuluh darah baru. Perbaikan ini semakin meningkat seiring dengan semakin meningkatnya dosis ekstrak etanol binahong yang diberikan.



## PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah *Subhanallahu wa Ta'ala* atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Etanol Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten). Steenis) terhadap Profil Histopatologi Penyembuhan Luka Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Aloksan”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan ini tidak lepas dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
2. Dosen Pembimbing Utama Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si., Apt dan Dosen Pembimbing Anggota Fifteen Aprila Fajrin, S.Farm., M.Farm., Apt yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, semangat, dan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi.
3. Dosen Penguji I Afifah Machlaurin, S.Farm., M.Sc., Apt dan Dosen Penguji II Ayik Rosita Puspaningtyas, S.Farm., M.Farm., Apt yang telah memberikan saran dan kritiknya demi kebaikan penyusunan skripsi ini.
4. Dosen Pembimbing Akademik Bawon Triatmoko, S.Farm., Apt dan Diana Holiday, SF., M.Farm., Apt yang telah memberikan bimbingan, dorongan, arahan, dan semangat kepada penulis selama masa kuliah.
5. Ayah dan Ibu yang dengan penuh kesabaran terus memberikan semangat, do'a, harapan dan segala yang penulis butuhkan untuk menyelesaikan penyusunan skripsi.
6. Laboran seluruh laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Jember Bu Widi, Mbak Anggra, Mbak Dinik, Mbak Indri, Bu Itus, Mbak Titin, Bu Wayan, dan Mbak Hani yang telah memberikan segenap bantuan kepada penulis
7. Rekan kerja Shinta dan Siska. Kalian adalah rekan kerja terhebat.
8. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Hanya doa yang dapat penulis panjatkan semoga segala kebaikan dan dukungan yang diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Allah SWT. Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 7 April 2015

Penulis



**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	xi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xiii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xviii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan</b> .....	3
<b>1.4 Manfaat</b> .....	3
<b>BAB 2. TINJUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>2.1 Tinjauan Umum tentang Binahong</b> .....	4
2.1.1 Deskripsi .....	4
2.1.2 Klasifikasi .....	5
2.1.3 Asal dan Habitat .....	6
2.1.4 Kandungan .....	6
2.1.5 Khasiat .....	6
<b>2.2 Tinjauan Umum tentang Metode Ekstraksi</b> .....	7
2.2.1 Ekstraksi .....	7
2.2.2 Larutan Ekstraksi .....	8
2.2.3 Maserasi .....	8



2.2.4 Perkolasi .....	9
2.2.5 Soxhletasi .....	9
<b>2.3 Tinjauan Umum tentang Diabetes Melitus .....</b>	<b>9</b>
2.3.1 Definisi dan Patogenesis .....	9
2.3.2 Klasifikasi .....	10
2.3.3 Komplikasi .....	12
2.3.4 Metode Pengukuran Glukosa Darah .....	14
<b>2.4 Tinjauan Umum tentang Aloksan sebagai Diabetogen .....</b>	<b>16</b>
<b>2.5 Tinjauan Umum tentang Kulit .....</b>	<b>17</b>
2.5.1 Anatomi Kulit .....	17
2.5.2 Fungsi Kulit .....	20
2.5.3 Fisiologi Kulit .....	21
2.5.4 Klasifikasi Luka .....	22
<b>2.6 Tinjauan Umum tentang Ulkus Diabetik .....</b>	<b>23</b>
2.6.1 Definisi .....	23
2.6.2 Klasifikasi .....	23
2.6.3 Epidemiologi .....	24
2.6.4 Tanda dan Gejala .....	24
2.6.5 Patofisiologi untuk Tujuan Pengobatan .....	24
<b>2.7 Tinjauan Umum tentang Mekanisme Penyembuhan Luka ...</b>	<b>25</b>
<b>2.8 Tinjauan Umum tentang Mupirosin .....</b>	<b>29</b>
<b>2.9 Tinjauan Umum tentang Histopatologi .....</b>	<b>30</b>
2.9.1 Persiapan Jaringan .....	30
2.9.2 Pewarnaan .....	32
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>33</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian .....</b>	<b>33</b>
<b>3.2 Rancangan Penelitian .....</b>	<b>33</b>
<b>3.3 Jumlah Sampel .....</b>	<b>34</b>
<b>3.4 Variabel Penelitian .....</b>	<b>34</b>
<b>3.5 Definisi Operasional .....</b>	<b>35</b>
<b>3.6 Tempat dan Waktu Penelitian .....</b>	<b>35</b>



<b>3.7 Alat dan Bahan</b> .....	35
3.7.1 Alat .....	35
3.7.2 Bahan .....	36
<b>3.8 Prosedur Penelitian</b> .....	36
3.8.1 Pembuatan Ekstrak Binahong .....	36
3.8.2 Profil Ekstrak .....	37
3.8.2.1 Susut pengeringan .....	37
3.8.2.2 Kadar flavonoid total .....	37
3.8.2.3 Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	38
3.8.3 Pembuatan Sediaan Aloksan .....	38
3.8.4 Adaptasi Hewan Uji .....	38
3.8.5 Persiapan Hewan Uji .....	38
3.8.6 Perlakuan Hewan Uji .....	39
3.8.7 Pembuatan Preparat Jaringan .....	39
3.8.8 Pembuatan Sediaan Hematoksilin-Eosin .....	40
3.8.9 Pewarnaan Jaringan .....	41
<b>3.9 Analisis Data</b> .....	42
<b>3.10 Skema Kerja Penelitian</b> .....	43
3.10.1 Skema Alur Pembuatan Ekstrak Etanol Binahong .....	42
3.10.2 Skema Alur Perlakuan Hewan Uji .....	43
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	44
<b>4.1 Hasil</b> .....	44
4.1.1 Pembuatan Ekstrak Binahong .....	44
4.1.2 Profil Ekstrak .....	44
4.1.3 Histopatologi Penyembuhan Luka .....	45
<b>4.2 Pembahasan</b> .....	50
<b>BAB 5. PENUTUP</b> .....	55
<b>5.1 Kesimpulan</b> .....	55
<b>5.2 Saran</b> .....	55
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	56
<b>LAMPIRAN</b> .....	62

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Tanaman binahong .....	5
2.2 Struktur kimia aloksan .....	16
2.3 Anatomi kulit .....	18
2.4 Lapisan epidermis kulit .....	19
2.5 Struktur mupirosin .....	30
3.1 Rancangan penelitian .....	33
4.1 Profil KLT binahong dengan eluen etil asetat $P$ : asam format $P$ : air (5:1:1) menggunakan penampak noda sitroborat $LP$ dan dilihat di bawah lampu UV 366 nm.....	45
4.2 Profil histopatologi kulit normal beserta bagian-bagiannya dengan perbesaran 100 kali .....	46
4.3 Profil histopatologi kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan perbesaran 400 kali .....	48
4.4 Kelenjar keringat yang telah muncul pada area perbatasan area luka dan kulit normal pada pemberian ekstrak binahong dosis 400 mg dengan perbesaran 400 kali .....	53

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
4.1 Epitelisasi, kolagen, dan angiogenesis kelompok kontrol dan kelompok perlakuan .....	49



**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
A. Perhitungan Persentase Rendemen .....	62
B. Perhitungan Susut Pengeringan .....	62
C. Perhitungan Penentuan Kadar Flavonoid Total .....	62
D. Kadar Glukosa Darah Hewan Uji .....	65
E. Dokumentasi Penelitian .....	66
E.1 Rotavapor ekstrak binahong .....	66
E.2 Ekstrak etanol binahong .....	66
E.3 Larutan standar dan larutan uji penentuan kadar total flavonoid .....	67
E.4 Pengukuran kadar flavonoid .....	67
E.5 Luka hari ke-0 .....	67
E.6 Luka hari ke-21 .....	67
F. Determinasi Binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> ) .....	68

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) merupakan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang ditandai dengan naiknya kadar glukosa dalam darah (hiperglikemia) akibat sekresi insulin yang kurang, aksi insulin menurun, atau keduanya. Beberapa tanda yang menunjukkan hiperglikemia antara lain poliuria, polidipsia, penurunan berat badan, kadang-kadang disertai juga dengan polifagia dan kemampuan penglihatan menurun (kabur) (ADA, 2006).

Diperkirakan terdapat 382 juta jiwa penderita DM di seluruh dunia pada tahun 2013. Jumlah ini akan meningkat menjadi 592 juta jiwa pada tahun 2035. Di Indonesia, prevalensi DM diperkirakan sebesar 6,7% (IDF, 2014). Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013 prevalensi DM sebesar 6,9% (Kemenkes, 2013).

DM dapat mempengaruhi berbagai organ tubuh dan dengan berjalannya waktu dapat menyebabkan komplikasi yang serius. Komplikasi DM dapat diklasifikasikan menjadi mikrovaskular dan makrovaskular. Komplikasi mikrovaskular meliputi neuropati, nefropati, dan retinopati. Komplikasi makrovaskular meliputi kardiovaskular, strok, dan PVD (*Peripheral Vascular Disease*). PVD dapat menyebabkan luka sukar sembuh, gangren, dan amputasi (Deshpande *et al*, 2008).

Ulkus diabetik merupakan luka yang terjadi pada pasien DM dimana luka yang terjadi dapat mencapai lapisan dermis kulit (Alexiadou dan Doupis, 2012). Pasien yang menderita DM memiliki tingkat risiko terjadinya ulkus yang lebih besar dibandingkan pada pasien normal. Pada tahun 2006 dan 2007 sebanyak 8,1% penderita DM kemudian mengalami ulkus diabetik. Jumlah ini menurun pada tahun 2008 menjadi 8,0%. Biaya yang diperlukan untuk pengobatan ulkus diabetik diperkirakan sekitar 3.096-107.900 dolar Amerika. Besarnya biaya yang diperlukan tergantung pada tingkat keparahan ulkus (Hunt *et al*, 2011).



Penelitian untuk menemukan obat yang efektif untuk penyembuhan ulkus diabetik terus dikembangkan. Penelitian juga diarahkan pada tumbuh-tumbuhan, salah satunya adalah tanaman binahong (Moeloek, 2005). Selama ini binahong dikenal memiliki aktivitas penyembuhan luka, namun belum banyak penelitian yang dilakukan mengenai penyembuhan luka oleh binahong pada kondisi DM (Sumartiningsih, 2011).

Binahong merupakan tumbuhan asli Paraguay hingga Brazil selatan dan Argentina utara (Wagner *et al*, 1999). Persebarannya meliputi daerah tropis dan subtropis, salah satunya di Indonesia (Kottaimuthu, 2011). Secara farmakologi binahong memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Rahmawati *et al*, 2013; Selawa *et al*, 2013), antifungi (Kumalasari dan Sulistyaningsih, 2011), antibakteri (Aini, 2012; Perwira, 2013), antidiabetes (Makalalag *et al*, 2013), dan antiinflamasi (Kurniawan *et al*, 2014). Kandungan metabolit sekundernya antara lain alkaloid, saponin, steroid, triterpenoid, polifenol, dan flavonoid yang diduga berperan dalam aktivitas penyembuhan luka (Anasta *et al*, 2013).

Penyembuhan luka dapat diamati secara makroskopis maupun mikroskopis (Suwiti, 2010). Parameter penyembuhan luka secara makroskopis antara lain luas luka yang semakin mengecil dan lama penyembuhan. Penyembuhan luka secara mikroskopis dapat dilihat melalui histopatologi (Manjas *et al*, 2010). Telah dilakukan penelitian tentang ekstrak *n*-heksana binahong sebagai penyembuhan ulkus diabetik dilihat dari parameter fisik (makroskopis) dan hasilnya menunjukkan bahwa binahong memiliki aktivitas penyembuhan ulkus diabetik (Nofitasari, 2013). Dengan hasil tersebut, maka akan dilakukan penelitian tentang “Pengaruh Ekstrak Etanol Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten). Steenis) terhadap Profil Histopatologi Penyembuhan Luka Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Aloksan” untuk mengetahui apakah kemampuan penyembuhan luka ekstrak etanol binahong dapat diterapkan pada ulkus diabetes.

Pada penelitian ini digunakan ekstrak etanol untuk melihat apakah pada ekstrak etanol binahong juga memiliki aktivitas penyembuhan luka seperti pada ekstrak *n*-heksana. Penyembuhan dilihat secara mikroskopis untuk melihat apakah penyembuhan luka oleh ekstrak etanol binahong sama seperti pada sediaan yang



telah beredar. Sediaan topikal untuk mengobati luka antara lain salep mupirosin. Mupirosin merupakan antibakteri yang dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*, bakteri yang sering dijumpai di luka. Luka yang bersih dari bakteri akan mempercepat proses penyembuhan luka.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah :

- a. Apakah ada perbedaan gambaran histopatologi luka tikus diabetes yang diberi perlakuan dibandingkan dengan kontrol?
- b. Bagaimana gambaran histopatologi pada luka tikus diabetes yang diberi ekstrak etanol binahong dengan beberapa dosis?

## 1.3 Tujuan

Tujuan dari dilakukannya penelitian ini adalah :

- a. Untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol binahong pada profil histopatologi luka diabetes dengan dosis yang berbeda.
- b. Untuk menjelaskan perbedaan gambaran histopatologi dalam penyembuhan luka oleh ekstrak etanol binahong dibandingkan dengan kontrol.

## 1.4 Manfaat

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini antara lain :

- a. Menambah data tentang manfaat binahong untuk penyembuhan luka.
- b. Sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya.
- c. Mencari alternatif pengobatan ulkus diabetik.

## **BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 Tinjauan Umum tentang Binahong**

#### **2.1.1 Deskripsi**

Tanaman binahong (Gambar 2.1), termasuk tumbuhan menjalar, berumur panjang (perennial), dengan panjang 3-6 meter. Akar berbentuk rimpang dan berdaging lunak. Batang lunak, berwarna merah, berbentuk silindris, saling membelit, permukaan halus, kadang membentuk semacam umbi yang melekat di ketiak daun dengan bentuk tak beraturan dan bertekstur kasar. Daun tunggal, bertangkai sangat pendek (subsessile), tersusun berseling, berwarna hijau, bentuk jantung (cordata), panjang 5 - 10 cm, lebar 3 - 7 cm, helaian daun tipis lemas, ujung runcing, pangkal berlekuk (emarginatus), tepi rata, permukaan licin, bisa dimakan (Plantamor, 2012). Bunga majemuk berbentuk tandan dengan panjang 7-25 cm, bertangkai panjang, muncul di ketiak daun. Bunga tersusun atas braktea yang berwarna krem keputih-putihan berjumlah lima helai tidak berlekatan, panjang helai 0,5 - 1 cm, berbau harum. Putik berwarna putih, kaku berbentuk elips pada bagian bawah, ujung rata, panjang 0,2-0,3 cm, lebar 0,1-0,2 cm. Benang sari berwarna putih, filamen terletak di ujung, serbuk tersebar. Tumbuhan berbunga pada bulan Juni-Oktobre (Kottaimuthu, 2011). Biji tidak diketahui karena belum ada pengamatan. Perbanyakan dapat dilakukan secara generatif (biji), namun lebih sering berkembang atau dikembangbiakkan secara vegetatif melalui akar rimpangnya (Plantamor, 2012).



Gambar 2.1 Tanaman binahong (Sumber: BPOM, 2008)

#### 2.1.2 Klasifikasi

Klasifikasi dari tumbuhan binahong adalah (Plantamor, 2012) :

- Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
- Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
- Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
- Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
- Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
- Sub Kelas : Hamamelidae
- Ordo : Caryophyllales
- Famili : Basellaceae
- Genus : *Anredera*
- Spesies : *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis

Nama umum dari *Anredera cordifolia* dalam bahasa Inggris adalah madeira vine atau heartleaf madeiravine, dalam bahasa China disebut Teng Sang Chi, dan dalam bahasa Indonesia dikenal dengan nama Binahong (Plantamor, 2012). Sinonim dari tumbuhan binahong adalah *Boussingaultia cordifolia* Ten., *Boussingaultia gracilis* Miers; *Boussingaultia gracilis* var. *pseudobasselloides* Haum (Wagner *et al.* 1999).

### 2.1.3 Asal dan Habitat

Binahong merupakan tumbuhan asli Paraguay hingga Brazil selatan dan Argentina utara. Binahong tumbuh di daerah hutan dan semak belukar. Temperatur di daerah ini berkisar antara 20-30°C pada bulan Januari dan 10-30°C pada bulan Juli. Curah hujan rata-rata di daerah ini sekitar 50-200 cm. Binahong tersebar luas di daerah-daerah tropis, termasuk salah satunya di Indonesia. Di beberapa wilayah seperti Hawai'i, Australia, New Zealand, dan Afrika Selatan tumbuhan ini dikenal sebagai tumbuhan pengganggu karena kecepatan tumbuh yang tidak terkontrol sehingga mengganggu tumbuhan lain (Starr *et al*, 2003).

### 2.1.4 Kandungan

Senyawa kimia yang terkandung dalam binahong secara umum antara lain alkaloid, saponin, steroid/triterpenoid, polifenol, tanin dan flavonoid yang diduga berperan dalam aktivitas penyembuhan luka (Anasta *et al*, 2013). Dalam ekstrak n-heksan mengandung senyawa kimia steroid dan triterpenoid. Dalam ekstrak etil asetat dan etanol mengandung senyawa kimia alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin (Rahmawati *et al*, 2013).

Dari penelitian yang dilakukan oleh Titis (2013), diketahui bahwa alkaloid yang terkandung dalam binahong adalah senyawa betanidin. Dari penelitian yang dilakukan oleh Rahmawati (2013), diketahui bahwa flavonoid yang terkandung dalam binahong adalah 3,5,3',4'- Tetrahidroksiflavonol dan memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Saponin yang terdapat pada binahong merupakan golongan triterpenoid, yaitu boussingosides A1 yang memiliki aktivitas sebagai antihiperqlikemia (Espada *et al*, 1990).

### 2.1.5 Khasiat

Tumbuhan binahong telah lama digunakan sebagai obat tradisional di Indonesia. Tumbuhan ini dikenal sebagai obat untuk penyembuhan luka (Sumartiningsih, 2011). Beberapa penelitian telah dilakukan untuk membuktikan secara ilmiah aktivitas ini, seperti yang dilakukan oleh Miladiyah dan Prabowo (2012) dalam penelitiannya tentang penyembuhan luka oleh ekstrak etanol



binahong pada marmut secara topikal. Hasilnya menunjukkan bahwa ada perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol negatif.

Penelitian lainnya dilakukan pada luka bakar (Persada *et al*, 2014; Budianto dan Permadi, 2014), luka sayat (Hartono *et al*, 2011) dan gagal ginjal (Sukandar *et al*, 2011). Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa adanya percepatan penyembuhan luka dan perbaikan jaringan. Selain memiliki aktivitas sebagai penyembuhan luka, binahong juga memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Rahmawati *et al*, 2013; Selawa *et al*, 2013), antifungi (Kumalasari dan Sulistyarningsih, 2011), antibakteri (Aini, 2012; Perwira, 2013), antidiabetes (Makalalag *et al*, 2013), dan antiinflamasi (Kurniawan *et al*, 2014).

## 2.2 Tinjauan Umum tentang Metode Ekstraksi

### 2.2.1 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan substansi dari campurannya dengan pelarut yang sesuai. Ekstraksi dapat dibedakan menjadi beberapa jenis. Berdasarkan bentuk campuran yang diekstraksi dapat dibedakan menjadi dua jenis ekstraksi, yaitu ekstraksi padat-cair dan ekstraksi cair-cair. Ekstraksi padat-cair jika substansi yang diekstraksi terdapat di campuran padat. Ekstraksi cair-cair jika substansi yang diekstraksi terdapat di campuran cair. Berdasarkan proses pelaksanaannya dapat dibedakan menjadi dua jenis ekstraksi, yaitu ekstraksi berkesinambungan dan ekstraksi bertahap. Dalam ekstraksi berkesinambungan pelarut yang digunakan tetap sedangkan pada ekstraksi bertahap pelarut yang digunakan baru (Kristanti *et al*, 2008).

Pemilihan metode ekstraksi bergantung pada senyawa kimia yang ingin diisolasi. Proses ekstraksi dapat diulang kembali hingga pelarut yang digunakan tidak berwarna. Hal ini mengindikasikan bahwa seluruh senyawa yang memiliki bobot molekul rendah telah terekstraksi. Ekstrak yang diperoleh kemudian dijernihkan dengan penyaringan dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* (*rotavapor*) (Kristanti *et al*, 2008).

Bahan yang digunakan dalam proses ekstraksi hendaknya merupakan bahan segar. Apabila hal ini tidak dapat dilakukan, maka bahan dapat dikeringkan

terlebih dahulu. Metode yang digunakan dalam pengeringan jangan sampai merusak senyawa-senyawa kimia dalam tumbuhan. Metode pengeringan yang baik adalah dilakukan dengan cepat pada suhu kamar dan sirkulasi udara lancar (Kristanti *et al*, 2008).

### 2.2.2 Larutan Ekstraksi

Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi disesuaikan dengan tujuan ekstraksi. Pelarut yang digunakan pada metode klasik adalah etanol mendidih untuk mengekstraksi bahan-bahan segar. Alkohol merupakan pelarut yang paling umum digunakan untuk ekstraksi. Alkohol dapat digunakan pada ekstraksi pendahuluan karena alkohol dapat menarik sebagian besar senyawa-senyawa yang terdapat dalam tumbuhan. Selain alkohol dapat pula digunakan dua pelarut yang tidak saling campur. Yang sering digunakan adalah air dan pelarut organik, seperti petroleum, eter, dan kloroform. Dapat juga menggunakan beberapa pelarut secara berganti-ganti, mulai dari eter lalu eter minyak bumi dan kloroform (memisahkan lipid dan terpenoid). Kemudian digunakan alkohol dan etil asetat (untuk senyawa yang lebih polar) (Harborne, 1987; Evans, 2002).

### 2.2.3 Maserasi

Maserasi merupakan salah satu contoh ekstraksi padat-cair dan merupakan ekstraksi bertahap. Pada metode ini ekstraksi dilakukan dengan cara merendam padatan selama beberapa waktu pada pelarut yang sesuai. Proses perendaman dapat dilakukan dengan pemanasan hingga pendidihan atau tanpa pemanasan. Setelah direndam beberapa waktu dilakukan penyaringan dan residu yang diperoleh dapat dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama (remaserasi) atau pelarut yang berbeda. Jika pelarut yang digunakan berbeda dari pelarut sebelumnya, maka residu harus dikeringkan terlebih dahulu. Keuntungan dari metode maserasi adalah mudah dilakukan, alat yang digunakan sederhana dan murah, dalam satu waktu dapat mengekstraksi dalam jumlah banyak. Kerugian dari metode ini adalah membutuhkan waktu yang lama, jumlah pelarut yang diperlukan banyak, dan kurang efektif (Kristanti *et al*, 2008).



## 2.2.4 Perkolasi

Perkolasi merupakan salah satu contoh metode ekstraksi berkesinambungan. Ekstraksi dilakukan dengan cara melewatkan pelarut secara perlahan-lahan sehingga pelarut dapat menembus sampel yang berada di dalam kertas agak tebal dan berpori. Keuntungan dari metode ini adalah lebih efektif dibandingkan metode maserasi karena pelarut yang digunakan selalu baru dan jumlah pelarut yang dibutuhkan lebih sedikit. Kerugiannya adalah dibutuhkan alat khusus dan jumlah sampel sedikit (Kristanti *et al*, 2008).

## 2.2.5 Soxhletasi

Soxhletasi termasuk dalam metode ekstraksi berkesinambungan. Alat soxhlet terdiri dari tiga bagian, yaitu kondensor, tempat sampel, dan tempat pelarut. Sampel dibungkus dengan kertas tebal dan berpori (kertas saring) kemudian diletakkan di dalam tempat sampel. Pelarut dimasukkan dalam labu kemudian dipanaskan hingga mendidih. Pelarut yang mendidih kemudian menguap dan setelah sampai di kondensor, uap pelarut akan mengembun dan jatuh ke tempat sampel. Pelarut ini akan merendam sampel dan setelah mencapai ketinggian tertentu, pelarut jatuh kembali ke tempat pelarut. Keuntungan dari metode ini adalah lebih efektif dibandingkan perkolasi dan maserasi, waktu yang diperlukan lebih cepat, dan pelarut yang diperlukan lebih sedikit. Kerugiannya adalah butuh alat khusus dan sampel yang dapat diekstraksi sedikit (Kristanti *et al*, 2008).

## 2.3 Tinjauan Umum tentang Diabetes Melitus

### 2.3.1 Definisi dan Patogenesis

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

polidipsia, penurunan berat badan dan kadang-kadang disertai juga dengan polifagia dan kemampuan penglihatan menurun (kabur) (ADA, 2006).

Terdapat beberapa patogenesis DM yang telah diketahui hingga saat ini. Pertama, adanya kelainan pada sistem imun tubuh sehingga imun justru menyerang sel  $\beta$  pankreas. Kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas ini menyebabkan penurunan jumlah insulin yang dihasilkan. Penurunan jumlah insulin yang dihasilkan kemudian mengakibatkan adanya kekurangan sehingga metabolisme dari karbohidrat, protein, dan lemak menjadi tidak sempurna. Pada tingkat kerusakan sel  $\beta$  yang lebih parah insulin tidak dihasilkan, akibatnya metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak tidak berlangsung. Kedua kondisi inilah yang kemudian memicu terjadinya hiperglikemia yang dapat berlanjut pada diabetes (ADA, 2006).

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

### 2.3.2 Klasifikasi

Terdapat tiga tipe diabetes (ADA, 2006) :

a. DM tipe 1.

DM tipe ini dikenal juga dengan *Insulin Dependent Diabetes Mellitus (IDDM)*. Prevalensi terjadinya diabetes tipe ini sekitar 5-10% dari total diabetes. DM ini diperantarai oleh adanya gangguan pada sistem imun. Sel-sel imun justru menyerang dan merusak sel  $\beta$  pankreas sehingga insulin yang dihasilkan sedikit atau tidak ada sama sekali. Marker dari adanya kerusakan

sel  $\beta$  oleh imun adalah antibodi sel pulau Langerhans, antibodi insulin, antibodi *glutamic acid decarboxylase* (GAD<sub>65</sub>), dan antibodi tirosin fosfatase IA-2 dan IA-2 $\beta$ . Kecepatan perusakan sel  $\beta$  oleh imun dapat berbeda-beda pada tiap individu. Secara umum, kecepatan perusakan pada anak-anak dan remaja lebih cepat dibandingkan dewasa. Satu-satunya terapi yang dapat dilakukan pada diabetes tipe ini adalah dengan memasukkan insulin ke dalam tubuh (*insulin replacement therapy*).

b. DM tipe 2.

DM ini dikenal juga dengan nama *Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (NIDDM). Prevalensi DM ini mencapai 90-95% dari total DM. Pada DM tipe ini tidak terjadi kerusakan sel  $\beta$  dan insulin tetap dihasilkan. Penyebab dari DM ini adalah adanya resistensi insulin, kekurangan insulin, atau keduanya yang secara umum diakibatkan oleh obesitas. DM ini sering tidak terdeteksi hingga bertahun-tahun. Kenaikan glukosa yang meningkat secara bertahap membuat pasien tidak merasakan adanya perubahan. Timbulnya tanda-tanda DM juga seringkali diabaikan oleh pasien dan dianggap hal yang wajar. Resiko DM ini meningkat sejalan dengan bertambahnya usia dan berat badan serta kurangnya aktivitas fisik. Wanita yang memiliki riwayat *Gestational Diabetes Mellitus* (GDM) dan seseorang yang menderita hipertensi dan dislipidemia memiliki tingkat resiko yang lebih besar.

c. *Gestational Diabetes Mellitus* (GDM).

GDM didefinisikan sebagai intoleransi glukosa darah yang terjadi selama masa kehamilan. Definisi ini tidak memperhatikan apakah diperlukan insulin atau hanya perubahan pola makan sebagai pengobatan atau kondisi ini berlangsung setelah masa kehamilan. Definisi ini tidak mengesampingkan intoleransi glukosa yang terjadi sebelum atau bersamaan masa kehamilan. Kerusakan toleransi glukosa normal terjadi selama masa kehamilan, terutama pada trimester ketiga.

### 2.3.3 Komplikasi

DM dapat menyebabkan komplikasi yang dengan bertambahnya waktu dapat berkembang menjadi komplikasi yang serius. Komplikasi ini dapat diklasifikasikan menjadi komplikasi akut dan komplikasi kronis. Komplikasi akut DM yang dapat terjadi antara lain (Aubert, 1995):

a. *Diabetic ketoacidosis* (DKA).

Merupakan salah satu komplikasi akut DM yang sering terjadi terutama pada DM tipe 1. Komplikasi ini jarang ditemukan pada DM tipe 2, jika ditemukan merupakan tanda dari defisiensi insulin. DKA didefinisikan sebagai kekurangan insulin absolut dengan hiperglikemia (kadar glukosa biasanya  $>200$  mg/dl) dengan peningkatan lipolisis, produksi keton, hiperketonemia, dan asidosis. Faktor yang menyebabkan terjadinya DKA adalah infeksi, penyakit akut lain, kurangnya edukasi tentang DM dan olahraga, pengawasan glukosa darah yang buruk, rendahnya perawatan diri sendiri, masalah fisiologis, dan penyebab lain yang tidak diketahui.

b. *Hyperosmolar non-ketotic coma* (HNC).

Didefinisikan sebagai tingkat kekurangan insulin relatif dan hiperglikemia, biasanya  $>1000$  mg/dl yang disertai peningkatan osmolaritas serum ( $>300$  mosm/kg), dehidrasi, dan pingsan. Dapat meningkat hingga terjadi koma dengan tanpa disertai ketosis atau asidosis. Pasien ini memiliki insulin yang cukup untuk mencegah lipolisis dan ketosis. Komplikasi ini terjadi pada DM tipe 2. Faktor penyebabnya antara lain dehidrasi, pengobatan seperti steroid dan thiazid, penyakit akut, penyakit vaskular otak, dan bertambahnya usia.

c. *Lactic acidosis* (LA).

Merupakan peningkatan asam laktat dengan asidosis dan tanpa ketoasidosis. Dimungkinkan terdapat keton dengan konsentrasi rendah. Terkadang LA kombinasi dengan DKA. Faktor penyebab LA adalah hipoksia dan beberapa obat seperti fenformin (biguanid).



d. *Hypoglycemia*

Terjadi pada pasien DM yang mendapat terapi sulfonilurea. Penyebab terjadinya antara lain kesalahan dosis, menunda makan, olahraga, variasi absorpsi insulin, variabilitas ikatan insulin, degradasi dan aksi, gangguan regulasi balik, dan mungkin pemakaian insulin.

Komplikasi kronis dibagi lagi menjadi komplikasi mikrovaskular dan komplikasi makrovaskular. Komplikasi mikrovaskular meliputi retinopati, neuropati, dan nefropati. Neuropati perifer dapat menyebabkan *foot ulcer*, sedangkan neuropati autonom dapat menyebabkan gastroparesis, disfungsi ereksi, dan *silent Myocardial Infarction* (MI). Komplikasi makrovaskular antara lain *Cardiovascular Disease* (CVD), penyakit ginjal, stroke, hipertensi, peritoneal dialisis, dan ulkus diabetik (Dunning, 2005).

Retinopati dapat memburuk dengan bertambahnya waktu. Awal mula terjadinya retinopati adalah adanya mikroaneurisma (diameter  $<100\ \mu\text{m}$ ) pada ujung kapiler retina. Titik-titik hemoragi muncul ketika eritrosit keluar dari mikroaneurisma. Permeabilitas pembuluh retina menjadi abnormal dan terjadi kebocoran cairan yang mengakibatkan terbentuknya eksudat keras. Mikroaneurisma, titik hemoragi, dan eksudat keras merupakan penyebab dari retinopati, terutama retinopati nonproliferatif. Retinopati nonproliferatif yang terjadi di dekat makula akan menyebabkan edema makular, tetapi hal ini tidak menyebabkan kebutaan. Makular edema terjadi ketika kebocoran cairan dari pembuluh yang abnormal di dekat makula menghalangi cahaya ke makula sehingga ketajaman penglihatan berkurang (Nathan, 1993).

Retinopati yang semakin parah akan menyebabkan iskemia dan infark pada bagian saraf retina. Sebagai respon adanya iskemia, akan dibentuk pembuluh baru (neovaskularisasi). Pembuluh baru akan berproliferasi keluar dari retina menuju rongga vitreous (retinopati proliferatif). Pembuluh ini tipis dan mudah pecah yang dapat menyebabkan perdarahan pada vitreous. Perdarahan vitreous dapat mengaburkan penglihatan, tetapi setelah satu hingga tiga bulan akan direabsorpsi. Selanjutnya terjadi fibroproliferasi yang akan menyebabkan kebutaan (Nathan, 1993).



Nefropati adalah komplikasi spesifik DM yang menyebabkan kematian terbesar. Tanda klinis awal terjadinya nefropati adalah microalbuminuria (30-300 mg albumin tiap 24 jam), yang terjadi lima tahun setelah menderita DM. Setelah 5 hingga 10 tahun DM akan terjadi proteinuria (>500 mg protein per liter yang setara dengan >300 mg albumin tiap 24 jam) yang dapat berkembang menjadi gagal ginjal. Hipertensi dapat pula terjadi selama periode ini. 5-10 tahun kedua, akan terjadi sindrom nefrotik dan penurunan laju filtrasi glomerular yang berakhir pada gagal ginjal (Nathan, 1993).

Bentuk umum neuropati diabetik adalah neuropati perifer dan neuropati sensorimotor simetris. Bentuk lainnya adalah neuropati autonomi dan neuropati motor perifer dan kranial. Neuropati berhubungan dengan durasi DM, tingkat keparahan, dan awal mula terjadi neuropati. Studi elektrofisiologi menunjukkan bahwa kelainan subklinis termasuk diantaranya konduksi saraf motor dan sensori yang melambat terjadi pada 5-10 tahun dari DM. Resiko utama neuropati perifer adalah trauma kaki dan ulkus diabetik. Neuropati autonom dapat menyebabkan terjadinya gastroparesis, impoten, gagal jantung, dan hipotensi postural. Gastroparesis tidak hanya menimbulkan rasa sakit namun juga mengganggu proses absorpsi makanan sehingga kontrol gula darah terganggu (Nathan, 1993).

#### 2.3.4 Metode Pengukuran Glukosa Darah

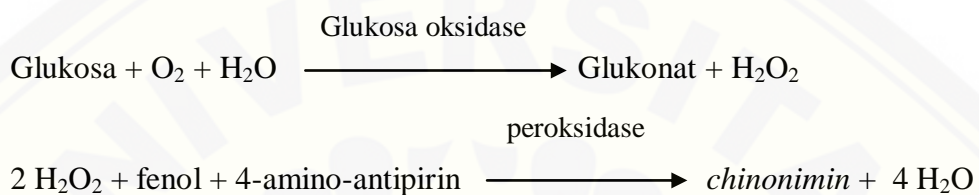
Terdapat beberapa cara untuk mengukur glukosa darah, antara lain:

a. Glukometer (GlucoDr™)

Alat ini terdiri dari meter glukosa, strip tes, dan larutan kontrol. Tiap kali digunakan, harus dipastikan terlebih dahulu kode chip dan kode strip tes sama. Prinsip kerja dari alat ini adalah arus listrik yang dihasilkan dari reaksi antara glukosa dan reagen pada strip elektroda. Glukosa dalam darah bereaksi dengan glukosa dehidrogenase dan kalium ferisianida pada strip tes yang menghasilkan arus listrik. Arus listrik yang dihasilkan sebanding dengan konsentrasi glukosa dalam darah dan dikonversi menjadi konsentrasi glukosa dalam bentuk angka oleh meter glukosa melalui program algoritma (Allmedicus, 2012).

## b. Bioanalyzer

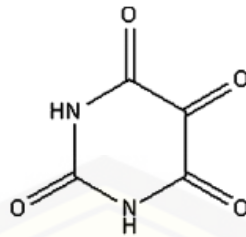
Prinsip kerja dari alat ini adalah tes kolorimetris enzimatis berdasarkan reaksi Trinder. Glukosa akan mengalami oksidasi enzimatis karena adanya glukosa oksidase. Hidrogen peroksida yang terbentuk kemudian bereaksi dengan fenol dan 4-amino-antipirin menjadi zat warna *chinonimin* yang berwarna merah violet. Pengukuran kadar glukosa dilakukan dengan spektrofotometri (Analyticon, 2013).

c. Carik celup (*Dipstick*)

Prinsip kerja alat ini adalah reaksi enzimatis yang menghasilkan perubahan warna kemudian disesuaikan dengan warna standar. Glukosa akan dioksidasi oleh glukosa oksidase menjadi asam glukonat dan hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida bereaksi dengan kromogen tetrametilbenzidin dengan bantuan peroksidase menghasilkan perubahan warna menjadi hijau. Reaksi positif jika terjadi perubahan warna dari hijau menjadi coklat (Stevens, 2008)

## 2.4 Tinjauan Umum tentang Aloksan sebagai Diabetogen

Aloksan merupakan bahan kimia yang sering digunakan dalam penelitian sebagai agen diabetogenik. Nama kimia dari aloksan adalah 2,4,5,6-Tetraoxypyrimidine; 2,4,5,6-pyrimidinetetrone. Struktur kimianya dapat di lihat pada Gambar 2.2. Aloksan merupakan senyawa yang bersifat hidrofilik dan stabil pada pH asam (Lenzen, 2008). Aloksan dapat bersifat sebagai agen diabetogenik jika diberikan melalui rute parenteral (intravena, intraperitoneal, dan subkutan). Dosis yang diperlukan dalam pemberian secara intravena sekitar 65 mg/kg BB dan dosis secara intraperitoneal di atas 150 mg/kg BB (Szkudelski, 2001).



Gambar 2.2 Struktur kima aloksan (Sumber: Lenzen, 2008)

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

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

Ketiga, fase hipoglikemia. Fase ini terjadi setelah 4-8 jam pemberian aloksan. Pada fase ini dapat terjadi kejang dan dapat berakibat fatal jika tanpa pemberian glukosa. Hipoglikemia ini diakibatkan oleh meningkatnya insulin secara drastis akibat pecahnya membran sel. Perubahan ini bersifat ireversibel. Fase keempat adalah fase hiperglikemia permanen. Secara morfologi tampak bahwa sel  $\beta$  telah rusak. Hal ini tampak pada jam ke-12 hingga 48 setelah pemberian aloksan (Lenzen, 2008).

Mekanisme aksi aloksan sebagai agen diabetogenik melalui beberapa proses, yaitu oksidasi gugus  $-SH$ , inhibisi glukokinase, pembentukan radikal bebas, dan ketidakseimbangan homeostasis kalsium intraseluler. Aloksan

berikatan dengan dua gugus –SH pada glukokinase sehingga terbentuk ikatan disulfida dan inaktivasi enzim. Aloksan yang tereduksi akan berubah menjadi asam dialurat yang kemudian teroksidasi kembali menjadi aloksan sehingga terbentuk radikal superoksida. Radikal superoksida mampu membebaskan ion Fe dari feritin dan mereduksinya menjadi ion Fe. Ion Fe<sup>3+</sup> juga dapat direduksi oleh radikal aloksan. Selain itu, radikal superoksida juga dapat berubah menjadi hidrogen peroksida. Adanya Fe<sup>2+</sup> dan hidrogen peroksida akan membentuk radikal hidroksil melalui reaksi Fenton. Radikal hidroksil memiliki sifat sangat reaktif. Salah satu target dari *reactive oxygen spesies* (ROS) adalah DNA pankreas. Kerusakan DNA ini memicu poli ADP-ribosilasi, suatu tahap pada proses perbaikan DNA (Szkudelski, 2001).

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

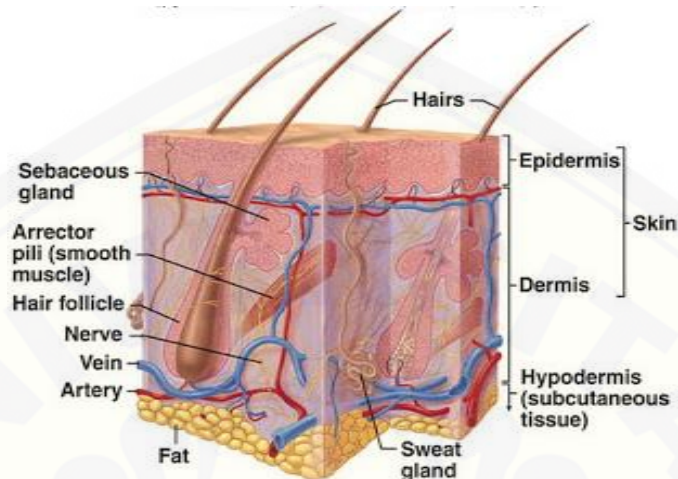
## 2.5 Tinjauan Umum tentang Kulit

### 2.5.1 Anatomi Kulit

Kulit terbagi menjadi 3 lapisan, yaitu lapisan epidermis yang terletak paling luar, kemudian lapisan dermis, dan lapisan subkutan (hipodermis) yang terletak paling dalam (Gambar 2.3). Lapisan epidermis dibagi kembali menjadi dua, yaitu stratum korneum dan stratum malpigi (Price dan Wilson, 1994). Stratum korneum merupakan bagian terluar dari epidermis, terdiri dari sel-sel mati berbentuk persegi panjang, berisi protein keratin. Stratum korneum memiliki struktur yang kompak karena bahan penyusunnya berupa keratin. Selain itu,



stratum korneum juga dilapisi oleh lemak yang membuatnya sulit ditembus air. Kedua hal ini berfungsi untuk mencegah kehilangan cairan tubuh (Seeley *et al*, 2002).



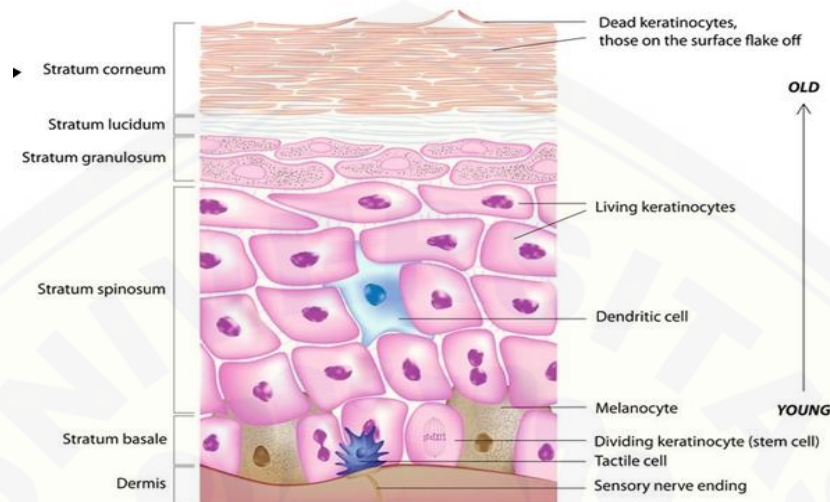
Gambar 2.3 Anatomi kulit (Sumber: Seeley *et al*, 2002)

Stratum malpigi terdiri dari stratum germinativum (stratum basale), stratum spinosum, stratum granulosum, dan stratum lusidum (Gambar 2.6). Stratum basale terletak pada bagian paling dalam dari epidermis, di dekat dermis. Sel-sel stratum basale berbentuk silindris dan memiliki sifat aktif membelah untuk memperbarui epidermis dan tidak mengalami diferensiasi (Price dan Wilson, 1994). Ketika sel mengalami pembelahan (mitosis), maka sel yang lebih muda akan tetap berada di stratum basale untuk membelah lagi, sedangkan sel yang lebih tua akan didorong menuju lapisan di atasnya, stratum spinosum (Seeley *et al*, 2002). Di lapisan basal terdapat sel melanosit. Sel ini berfungsi untuk mensintesis granula pigmen (melanosom). Melanosom ini memiliki warna coklat hingga hitam. Pigmen ini disebut melanin. Melanin inilah yang diketahui memiliki fungsi perlindungan dari sinar UV (Bloom dan Fawcett, 1962).

Stratum spinosum merupakan lapisan di atas stratum basale. Sel-sel pada stratum spinosum berasal dari stratum basale yang mengalami perubahan bentuk. Pada lapisan ini, sel-sel dari stratum basale berubah menjadi bentuk poligonal dan terdapat penonjolan di sekeliling sel. Stratum granulosum terdiri dari 3-5 lapisan sel. Terdapat granula-granula keratohialin pada sitoplasma di sekitar inti sel. Seiring



dengan bertambahnya ukuran sel, inti sel semakin kabur. Stratum lusidum tersusun dari beberapa lapis sel datar yang rapat. Pada lapisan ini, inti sel hanya terdapat pada beberapa sel saja (Bloom dan Fawcett, 1962).



Gambar 2.4 Lapisan epidermis kulit (Sumber: DOAPI, 2013)

Dermis merupakan jaringan yang terdiri dari fibroblas, lemak, dan makrofag. Lemak dan pembuluh darah pada dermis jumlahnya lebih sedikit jika dibandingkan pada jaringan subkutan. Di dermis juga terdapat ujung saraf, folikel rambut, otot polos, kelenjar, dan pembuluh limfe. Bagian paling atas dari dermis memiliki tonjolan-tonjolan yang disebut papila. Papila berfungsi sebagai tempat perlekatan epidermis. Pada papila ini banyak dijumpai pembuluh darah yang berfungsi untuk menyuplai kebutuhan nutrisi epidermis, mengeluarkan zat sisa, dan membantu mengatur suhu tubuh (Seeley *et al*, 2002). Di sekitar pembuluh darah ini terdapat limfosit, histiosit, sel mast, dan leukosit yang berfungsi untuk melindungi tubuh dari infeksi dan invansi benda-benda asing (Price dan Wilson, 1994).

Kelenjar yang terdapat pada kulit adalah kelenjar keringat dan kelenjar sebaceous. Kelenjar sebaceous menghasilkan sebum, suatu substansi yang kaya akan lemak. Kelenjar sebaceous terhubung dengan folikel rambut. Sebum yang dihasilkan akan melumasi kulit dan rambut melalui folikel rambut. Kelenjar keringat terbagi menjadi dua, yaitu merokrin dan apokrin. Kelenjar merokrin terletak di seluruh kulit terutama telapak tangan dan kaki. Sekresi kelenjar ini

sebagian besar tersusun dari air dengan sedikit garam yang terlarut di dalamnya. Kelenjar apokrin biasanya ditemukan pada ketiak dan genitalia. Kelenjar ini mulai berfungsi ketika usia pubertas. Sekresi yang dihasilkan kelenjar ini dapat menimbulkan bau jika didegradasi oleh bakteri (Seeley *et al*, 2002).

Rambut dibentuk dari keratin. Proses pertumbuhannya sama seperti pada lapisan epidermis. Folikel rambut dialiri oleh pembuluh darah yang membawa nutrisi untuk pertumbuhan rambut. Di setiap folikel rambut, terhubung otot polos yang disebut dengan arektor pili. Fungsinya adalah untuk menegakkan rambut (Seeley *et al*, 2002).

Jaringan subkutan merupakan lapisan paling bawah dari kulit yang tersusun dari sel-sel lemak. Pada jaringan ini terdapat banyak pembuluh darah dan saraf. Jaringan ini berfungsi sebagai bantalan kulit, isolasi panas tubuh, dan tempat penyimpanan energi (Seeley *et al*, 2002).

## 2.5.2 Fungsi Kulit

Secara garis besar, kulit memiliki lima fungsi utama, yaitu (Seeley *et al*, 2002) :

- a. Proteksi. Kulit melindungi tubuh dari abrasi, sinar ultraviolet (UV), mikroorganisme, dan dehidrasi dengan cara mengurangi kehilangan cairan tubuh.
- b. Indera peraba. Kulit memiliki reseptor sensor yang dapat mendeteksi panas, dingin, tekanan, dan rasa sakit.
- c. Produksi vitamin D. Ketika kulit terpapar sinar UV, kulit menghasilkan molekul yang dapat dirubah menjadi vitamin D.
- d. Pengatur suhu tubuh. Pengaturan suhu tubuh dilakukan dengan cara mengontrol laju aliran darah pada kulit dan aktivitas kelenjar keringat.
- e. Ekskresi. Sebagian sisa metabolisme tubuh dikeluarkan melalui kelenjar sekresi yang ada pada kulit.

### 2.5.3 Fisiologi Kulit

Kulit memiliki beberapa fungsi fisiologis. Pertama, kulit sebagai proteksi tubuh terhadap lingkungan luar. Proteksi ini meliputi pencegahan kehilangan cairan tubuh, mikroorganisme, dan benda asing. Kehilangan cairan tubuh dapat dikurangi karena kulit memiliki lapisan lemak yang berfungsi sebagai barier terhadap difusi air. Perlindungan terhadap mikroorganisme dilakukan dengan cara mengeluarkan cairan sekresi yang menciptakan lingkungan yang tidak nyaman bagi beberapa mikroorganisme (Seeley *et al*, 2002).

Kulit juga mencegah terjadinya abrasi dengan adanya lapisan epitel. Selain itu, melanin yang ada dalam kulit berfungsi untuk mengabsorpsi sinar UV sehingga tidak berdampak negatif pada jaringan. Kulit juga memiliki rambut yang fungsi dari rambut ini bergantung pada letaknya. Rambut kepala berfungsi sebagai insulator panas, alis mencegah kehilangan cairan mata, bulu mata mencegah masuknya benda asing ke dalam mata, serta bulu hidung dan telinga mencegah masuknya kotoran dan debu. Terdapat pula kuku yang berfungsi untuk melindungi jari-jari dari kerusakan dan dapat pula digunakan sebagai pertahanan diri (Seeley *et al*, 2002).

Kedua, sebagai indera peraba. Kulit memiliki reseptor pada bagian epidermis maupun dermis sehingga kulit dapat merasakan apabila diberi rangsang. Rangsang yang dapat dirasakan kulit antara lain rangsang panas, dingin, sentuhan, tekanan, dan rasa sakit. Pada rambut tidak terdapat saraf, meskipun demikian pergerakan dari rambut tetap dapat terasa karena adanya saraf di sekeliling folikel rambut (Seeley *et al*, 2002).

Ketiga, sebagai salah satu tempat penghasil vitamin D. Ketika kulit terpapar oleh sinar UV, molekul prekursor vitamin D dibentuk. Prekursor ini kemudian dibawa oleh darah menuju hati untuk dimodifikasi. Selanjutnya diangkut menuju ginjal dan dirubah menjadi vitamin D. Jika paparan sinar UV cukup, maka kebutuhan vitamin D tubuh dapat dipenuhi (Seeley *et al*, 2002).

Keempat, pengatur suhu tubuh. Suhu tubuh normal manusia sekitar 37°C. Pengaturan suhu tubuh perlu dilakukan karena menjadi salah satu faktor yang menentukan laju reaksi kimia tubuh. Perubahan kecil pada suhu tubuh dapat

berpengaruh pada kerja enzim. Olahraga, demam, dan suhu tinggi dapat meningkatkan suhu tubuh. Sebagai reaksi homeostasis, tubuh akan mengeluarkan panas tubuh. Mula-mula pembuluh arteri dermis akan mengalami dilatasi. Hal ini menyebabkan jumlah darah yang mengalir menuju kulit meningkat. Aliran darah ini akan mentransfer panas dari dalam tubuh menuju kulit. Panas tubuh kemudian akan berpindah ke lingkungan melalui mekanisme radiasi, konveksi, maupun konduksi. Keringat juga membawa panas tubuh keluar dan berfungsi untuk mengurangi suhu tubuh. Ketika suhu tubuh menurun hingga di bawah normal, panas tubuh akan dijaga dengan cara konstiksi pembuluh darah dermis. Hal ini membuat laju darah menuju kulit menjadi berkurang dan panas tubuh yang ditransfer keluar tubuh juga berkurang (Seeley *et al*, 2002).

Kelima, ekskresi. Ekskresi merupakan suatu mekanisme tubuh untuk mengeluarkan zat sisa metabolisme dari dalam tubuh. Kulit merupakan salah satu organ ekskresi yakni melalui cairan keringat. Cairan keringat berisi air dan garam serta sejumlah kecil urea, asam urat, dan amonia. Jumlah ekskresi zat sisa tidak bergantung dari jumlah keringat yang dikeluarkan, jadi meskipun seseorang banyak mengeluarkan keringat tidak berarti zat sisa yang dikeluarkan juga banyak (Seeley *et al*, 2002).

#### 2.5.4 Klasifikasi Luka

Luka merupakan gangguan struktur dan fungsi anatomi normal. Luka dihasilkan dari proses patologis yang dapat dimulai dari internal maupun eksternal organ. Luka dibedakan menjadi dua jenis, yaitu luka akut dan luka kronis. Pada luka akut proses penyembuhan segera terjadi sesuai dengan tahapan proses penyembuhan luka dan terjadi dengan tepat waktu. Pada luka kronis, terjadi kegagalan dalam proses penyembuhan luka sehingga proses penyembuhan luka membutuhkan waktu yang lebih lama. Kegagalan proses penyembuhan luka dapat terjadi pada tiap tahap proses penyembuhan. Lamanya waktu penyembuhan luka kronis bergantung pada sifat dan tingkat patologis, kondisi pasien, dan lingkungan (Lazarus *et al*, 1994).



## 2.6 Tinjauan Umum tentang Ulkus Diabetik

### 2.6.1 Definisi

Menurut Sanders (2011), ulkus diabetik adalah luka yang berhubungan dengan neuropati atau penyakit arteri perifer pada pasien diabetes. Menurut Alexiadou dan Doupis (2012), ulkus diabetik merupakan suatu kondisi dimana luka tidak dapat sembuh baik luka dalam maupun tidak yang terjadi pada seseorang yang menderita diabetes. Menurut Stone dan Sieggreen (2012), ulkus diabetik adalah luka dalam yang terjadi hingga menembus epidermis dan terjadi pada pasien diabetes. Dapat disimpulkan bahwa ulkus diabetik adalah luka yang terjadi pada seseorang yang menderita diabetes dimana luka ini dalam hingga menembus lapisan dermis kulit.

### 2.6.2 Klasifikasi

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

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

Kedua, sistem klasifikasi luka diabetes Universitas Texas (UT). Sistem klasifikasi ini lebih baru jika dibandingkan dengan sistem klasifikasi luka Wagner. Sistem klasifikasi UT didasarkan pada kedalaman ulkus, adanya infeksi, dan adanya tanda-tanda iskemia pada kaki. Sistem ini menggunakan matriks,



tingkat luka sebagai sumbu x dan tahapan luka sebagai sumbu y. Tingkat luka dalam sistem ini dibagi menjadi empat, yaitu tingkat 0 (adanya ulkus yang sudah atau belum sembuh), tingkat 1 (luka superfisial yang tidak mencapai tendon atau tulang), tingkat 2 (kedalaman luka mencapai tendon), dan tingkat 3 (kedalaman luka mencapai tulang atau sendi). Sedangkan untuk tahapan luka dibagi menjadi empat, yaitu tahap A (luka bersih), tahap B (luka dengan infeksi tanpa iskemia), tahap C (luka dengan iskemia tanpa infeksi), dan tahap D (luka dengan iskemia dan infeksi) (Oyibo *et al*, 2001).

### 2.6.3 Epidemiologi

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

### 2.6.4 Tanda dan Gejala

Ulkus diabetik dapat disebabkan oleh beberapa hal, antara lain neuropati, PVD, trauma, dan infeksi. Beberapa tanda dan gejala yang menunjukkan terjadinya ulkus diabetik adalah berkurangnya atau hilangnya sensitivitas terhadap rangsang. Hal ini menyebabkan ketidaknyamanan sehingga dapat mengakibatkan trauma. Tanda lainnya adalah terjadinya dehidrasi kulit sehingga kulit menjadi kering. Kulit yang kering ini mudah pecah hingga terjadi luka (Khamolkar *et al*, 2008).

### 2.6.5 Patofisiologi untuk Tujuan Pengobatan

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

a. Neuropati.

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

b. Iskemia.

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

c. Infeksi.

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

d. Trauma.

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

e. Tekanan.

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

f. Perawatan luka yang buruk.

## 2.7 Tinjauan Umum tentang Mekanisme Penyembuhan Luka

Kulit merupakan bagian penting tubuh yang memiliki fungsi utama sebagai perlindungan tubuh terhadap lingkungan luar. Ketika terjadi luka pada

kulit, tubuh akan segera memberikan respon untuk memperbaiki jaringan yang luka sehingga dapat berfungsi normal kembali. Proses penyembuhan luka merupakan sebuah proses yang kompleks karena membutuhkan keterlibatan banyak jaringan lain. Proses ini terbagi menjadi empat tahap yaitu, hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodeling. Ketiga proses ini kadang tampak secara bersamaan (Diegelmann dan Evans, 2004).

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

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

Tahap ketiga adalah proliferasi. Pada tahap ini TGF- $\beta$  yang dilepaskan oleh platelet, makrofag, dan limfosit T akan mengatur fungsi fibroblas dan

penumpukan matriks ekstraselular. TGF- $\beta$  akan meningkatkan produksi kolagen, proteoglikan, dan fibronektin serta mengurangi sekresi protease dan meningkatkan inhibitor protease. Setelah jaringan epitel terbentuk dengan sempurna, maka akan dilepaskan enzim yang berfungsi untuk mengeliminasi keropeng yang telah terbentuk (Diegelmann dan Evans, 2004).

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

Tahap keempat adalah remodeling. Tahap ini diperankan oleh fibroblas. Fibroblas pada luka berfungsi sebagai penghasil matriks baru yang akan mengganti matriks lama yang telah rusak sehingga struktur dan fungsi jaringan kembali normal. Proses ini dimulai dengan diproduksi kolagen setelah fibroblas berikatan dengan benang fibrin. Serat kolagen baru yang terbentuk memiliki ukuran lebih kecil dan lebih lemah jika dibandingkan serat kolagen pada jaringan normal. Daya elastisitasnya diperkirakan hanya mencapai 80% dari daya elastisitas jaringan normal. Proses akhir dari tahap remodeling adalah degradasi kolagen. Fibroblas, netrofil, dan makrofag akan mengeluarkan enzim kolagenase untuk mendegradasi kolagen. Fragmen-fragmen kolagen yang terbentuk dari proses degradasi kolagen akan mengalami denaturasi dan penghancuran oleh enzim protease lainnya (Diegelmann dan Evans, 2004).

Faktor penghambat penyembuhan luka dibagi menjadi 2, yakni lokal dan sistemik. Faktor lokal merupakan gangguan pada proses penyembuhan luka,



meliputi oksigenasi dan infeksi. Faktor sistemik adalah gangguan yang disebabkan oleh adanya penyakit sehingga mempengaruhi kemampuan proses penyembuhan luka, meliputi usia, tingkat stres, obesitas, diabetes, obat-obatan, dan nutrisi (Guo dan DiPietro, 2010).

Kadar oksigen merupakan faktor penting dalam proses penyembuhan. Kondisi hipoksia akan menstimulasi pelepasan faktor pertumbuhan dan angiogenesis. Setelah proses angiogenesis selesai, kadar oksigen yang cukup akan mempercepat proses penyembuhan luka. Selain itu, oksigen berfungsi untuk mencegah terjadinya infeksi, meningkatkan diferensiasi, migrasi, dan re-epitelisasi keratinosit, serta meningkatkan proliferasi fibroblas dan sintesis kolagen (Guo dan DiPietro, 2010).

Kondisi infeksi pada luka akan menghambat proses penyembuhan luka karena bakteri dan endotoksin dapat memperpanjang fase inflamasi. Fase inflamasi yang semakin panjang ini dapat menyebabkan terdegradasinya faktor pertumbuhan. Selain itu, beberapa bakteri dapat membentuk lapisan biofilm. Dengan adanya lapisan biofilm ini bakteri menjadi semakin resisten sehingga proses penyembuhan luka terhambat (Guo dan DiPietro, 2010).

Pada usia lanjut ( $> 60$  tahun) proses penyembuhan luka melambat yang disebabkan oleh penurunan kemampuan fungsi tubuh, termasuk kemampuan tubuh dalam menyembuhkan luka. Penurunan kemampuan ini terjadi pada tiap tahap proses penyembuhan. Tingkat stres akan mengurangi pelepasan IL-1 $\alpha$  dan IL-8 pada luka. Keduanya merupakan sinyal kimia yang menginisiasi proses penyembuhan luka. Selain itu, kerja sel imun menjadi terganggu akibat adanya gangguan pada diferensiasi, proliferasi, dan transkripsi gen (Guo dan DiPietro, 2010).

Penghambatan penyembuhan luka oleh diabetes merupakan suatu mekanisme patofisiologi yang kompleks. Pada diabetes, hipoksia menjadi lebih lama dari keadaan normal. Kondisi ini menyebabkan naiknya jumlah radikal oksigen. Senyawa ini diketahui dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan. Selain itu, perpanjangan masa hipoksia juga menyebabkan penurunan jumlah VEGF, akibatnya proses angiogenesis terganggu. Diabetes juga mengakibatkan



disfungsi sel fibroblas dan epidermal serta penurunan imunitas sel T, kemotaksis leukosit, dan fagositosis. Kondisi ini menyebabkan pembersihan luka dari bakteri menjadi tidak efektif sehingga proses penyembuhan luka terhambat (Guo dan DiPietro, 2010).

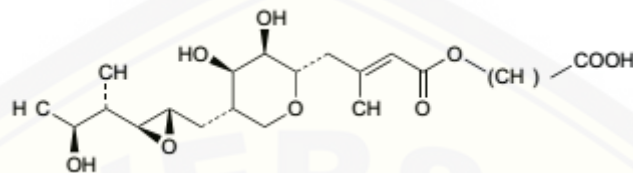
Beberapa obat diketahui dapat menghambat proses penyembuhan luka. Obat-obatan tersebut antara lain glukokortikoid steroid, obat antiinflamasi non steroid (OAINS), dan kemoterapi. Glukokortikoid steroid menghambat proses penyembuhan luka melalui mekanisme antiinflamasinya dan menekan respon selular luka, termasuk proliferasi fibroblas dan sintesis kolagen. OAINS seperti ibuprofen akan menghambat proliferasi sel sehingga jumlah fibroblas menurun dan proses epitelisasi menjadi terhambat. Obat-obat kemoterapi umumnya memiliki sifat menghambat metabolisme seluler, pembelahan sel, dan angiogenesis. Padahal ketiga hal ini sangat diperlukan dalam proses penyembuhan luka (Guo dan DiPietro, 2010).

Faktor sistemik lainnya yang menghambat penyembuhan luka adalah nutrisi. Lemak dan karbohidrat merupakan sumber energi utama dalam proses penyembuhan luka. Protein dibutuhkan dalam sistem imun, angiogenesis, proliferasi fibroblas, sintesis proteoglikan, dan sintesis kolagen. Asam lemak diperlukan dalam perbaikan jaringan. Vitamin A dan vitamin C diperlukan dalam sintesis kolagen, proliferasi fibroblas, dan angiogenesis. Vitamin E menjaga integritas membran sel dan mencegah kerusakan sel oleh radikal bebas melalui aktivitas antioksidan. Beberapa mikronutrien juga dibutuhkan dalam proses penyembuhan luka, seperti magnesium sebagai kofaktor dalam sintesis kolagen, zinc sebagai kofaktor RNA dan DNA polimerase, dan tembaga sebagai pembentuk ikatan kolagen. Kekurangan nutrien-nutrien tersebut akan menyebabkan penyembuhan luka terhambat (Guo dan DiPietro, 2010).

## 2.8 Tinjauan Umum tentang Mupirosin

Mupirosin, seperti yang terlihat pada Gambar 2.5 merupakan antibakteri yang dihasilkan oleh *Pseudomonas fluorescens* yang bersifat bakterisidal pada konsentrasi tinggi dan bersifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah. Aktivitas

antibakterinya meliputi bakteri stafilokokus, streptokokus, dan gram negatif aerob. Mekanisme kerjanya melalui penghambatan sintesis protein bakteri dengan cara berikatan dengan tRNA isoleusil. Mupirosin menunjukkan aktivitas yang lebih baik pada suasana asam (Sweetman, 2009).



Gambar 2.5 Struktur mupirosin (Sumber: Sweetman, 2009)

Mupirosin digunakan secara topikal dengan tujuan untuk dapat mencapai konsentrasi yang tinggi sehingga dapat bersifat bakterisidal. Hanya sedikit saja dari jumlah mupirosin yang dapat mencapai sirkulasi sistemik. Mupirosin yang mencapai sirkulasi sistemik akan segera dimetabolisme menjadi asam monat yang akan diekskresikan melalui urin. Mupirosin diformulasi dalam bentuk salep dan krim dengan konsentrasi sebanyak 2%. Basis salep yang digunakan adalah makrogol dan pada krim digunakan mupirosin kalsium yang setara dengan 2% mupirosin. Penggunaan mupirosin sebagai antibakteri sebanyak 3 kali sehari selama 10 hari dan dilakukan evaluasi terapi pada hari ketiga sampai kelima jika terapi tidak menunjukkan respon (Sweetman, 2009).

## 2.9 Tinjauan Umum tentang Histopatologi

### 2.9.1 Persiapan Jaringan

Metode persiapan jaringan dibagi menjadi dua kelompok, yaitu metode untuk pengamatan sel hidup dan metode untuk pengamatan sel mati. Metode pengamatan sel hidup dilakukan ketika sel masih hidup. Jaringan untuk pemeriksaan mikroskopik dieksisi dan diletakkan dalam cairan serum atau larutan NaCl 0,85% (Leeson, 1989).

Metode pengamatan sel mati dilakukan dengan membuat irisan jaringan. Pembuatan irisan jaringan meliputi langkah-langkah berikut (Leeson, 1989):

a. Pengambilan bahan

Untuk tujuan sitologis, dan untuk mendapatkan sajian histologis terbaik, maka bahan harus diambil dari hewan yang sedang dianestesi atau segera setelah hewan itu mati.

b. Fiksasi

Tujuan utama fiksasi adalah untuk mengawetkan protoplasma agar terpelihara keadaan mirip semasa hidup. Cairan fiksasi berperan sebagai pengawet, mencegah perubahan autolisis dan perkembangan bakteri. Biasanya cairan fiksasi menggumpalkan protoplasma, menjadikannya tidak larut, dan mengeraskan jaringan sehingga memudahkan pengirisan. Reagen yang paling umum digunakan adalah formalin, alkohol, merkuri biklorida, kalium bikromat, dan asam-asam tertentu (pikrat, asetat, osmiat).

c. Pemandaman

Tujuan pemandaman adalah membuat blok jaringan menjadi kaku dan keras sehingga dapat dipotong menjadi irisan yang tipis. Zat pemandam yang biasa dipakai adalah parafin dan seloidin.

d. Pemotongan

Pemotongan dilakukan dengan menggunakan mikrotom. Tebal irisan untuk pengamatan mikroskopi berkisar antara 3-10  $\mu\text{m}$ . Tiap irisan kemudian diletakkan di kaca obyek.

e. Pemulasan

Tujuan pemulasan adalah untuk meningkatkan kontras alami dan untuk lebih memperjelas berbagai unsur sel, jaringan, dan bahan ekstrinsik.

f. Penyelesaian

Setelah dipulas, kelebihan zat warna dibilas dengan air atau alkohol. Irisan kemudian didehidrasi kemudian dijernihkan. Setelah dimasukkan dalam larutan penjernih, irisan ditetesi indeks refraksi yang hampir sama dengan indeks refraksi kaca kemudian ditutup kaca penutup dan dibiarkan hingga kering.

## 2.9.2 Pewarnaan

Dalam pemeriksaan mikroskopis menggunakan mikroskop cahaya, diperlukan pewarnaan jaringan. Pewarnaan ini berfungsi untuk membedakan jaringan yang satu dengan yang lainnya. Pewarna yang digunakan hendaknya selektif terhadap jaringan dan tidak mempengaruhi senyawa kimia dalam jaringan (Junqueira *et al*, 1998).

Pewarna ada yang bersifat asam dan ada yang bersifat basa. Contoh dari pewarna yang bersifat asam adalah eosin, orange G, dan asam fuchsin. Pewarna yang bersifat basa antara lain toluidin, metilen biru, dan hematoksilin. Jaringan yang dapat diwarnai dengan pewarna basa disebut basofilik dan jaringan yang dapat diwarnai pewarna asam disebut asidofilik (Junqueira *et al*, 1998).

Dari seluruh pewarna, pewarna hematoksilin-eosin merupakan pewarna yang paling sering dipakai. Hematoksilin merupakan pewarna basa yang akan mewarnai komponen-komponen jaringan yang bersifat asam seperti nukleoprotein, glikosaminoglikan, dan asam glikoprotein. Eosin yang bersifat asam akan mewarnai komponen-komponen jaringan yang bersifat basa seperti mitokondria, granul sekretori, dan kolagen. Hematoksilin akan memberikan warna biru pada jaringan sedangkan eosin akan memberikan warna merah pada sitoplasma dan warna merah muda pada kolagen (Junqueira *et al*, 1998).

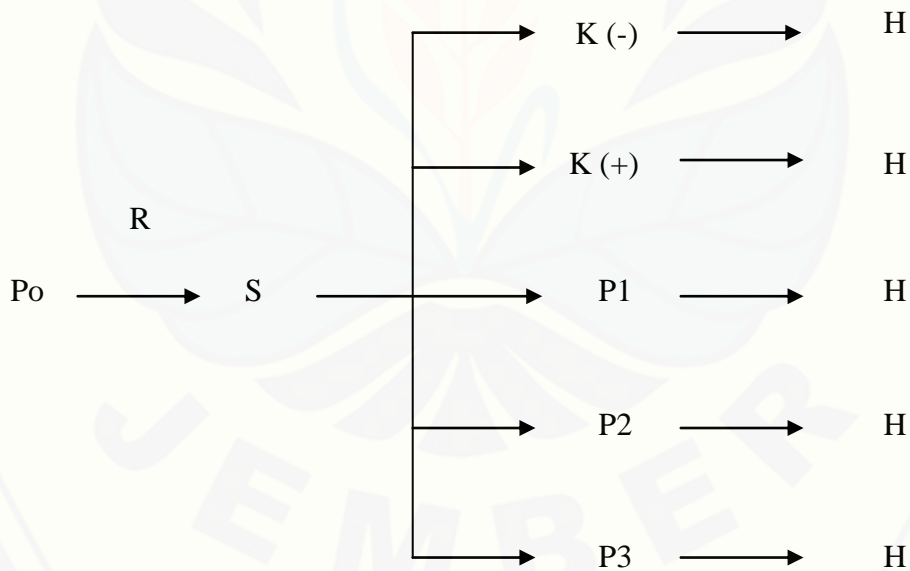
### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *true experimental laboratories* yang bertujuan untuk menyelidiki kemungkinan saling berhubungan sebab akibat dengan cara memberi intervensi (perlakuan) pada satu kelompok atau lebih kelompok eksperimen, kemudian membandingkan hasil intervensi tersebut dengan kelompok eksperimen yang tidak diberikan perlakuan (kelompok kontrol).

#### 3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test control group design*. Rancangan penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1



Gambar 3.1 Rancangan Penelitian



Keterangan :

- Po : Populasi tikus diabetes  
 R : Randomisasi tikus diabetes  
 S : Sampel tikus diabetes  
 K (-) : Kelompok kontrol negatif tidak diberi perlakuan  
 K (+) : Kelompok kontrol positif dengan pemberian salep mupirosin dosis 100 mg secara topikal selama 20 hari  
 P1 : Kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol binahong dosis 100 mg secara topikal selama 20 hari  
 P2 : Kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol binahong dosis 200 mg secara topikal selama 20 hari  
 P3 : Kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol binahong dosis 400 mg secara topikal selama 20 hari  
 H : Histopatologi penyembuhan luka

### 3.3 Jumlah Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus galur *Wistar*, jenis kelamin jantan, berat 250-300 gram, usia 2-3 bulan. Pemilihan sampel dilakukan dengan cara *simple random sampling*, kemudian dibagi menjadi 5 kelompok. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan rumus Federrer :  $\{(p-1)(n-1)\} \geq 15$  (Hanafiah, 2001).

Keterangan :

- n : jumlah sampel  
 p : jumlah perlakuan  
 jika,  $p = 5$   
 maka,  $\{(5-1)(n-1)\} \geq 15$   
 $4n-4 \geq 15$   
 $n \geq 5$

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

### 3.4 Variabel Penelitian

- Variabel bebas : dosis ekstrak etanol binahong
- Variabel terikat : profil histopatologi jaringan penyembuhan luka tikus (adanya jaringan epitel, kolagen, dan pembuluh darah baru)

- c. Variabel terkontrol : jenis kelamin tikus (jantan), jenis tikus (*Wistar*), berat badan tikus (250-300 gram), usia tikus (2-3 bulan), pemeliharaan tikus.

### 3.5 Definisi Operasional

- a. Tanaman binahong diperoleh dari Materia Medika, Malang dalam bentuk serbuk simplisia.
- b. Ekstrak etanol binahong adalah ekstrak yang diperoleh dari maserasi bertingkat binahong. Pelarut yang digunakan secara berturut-turut adalah n-heksana, etil asetat, dan etanol 70%. Pada ekstraksi dengan etanol 70% dilakukan remaserasi sebanyak 2 kali.
- c. Perlakuan hewan uji adalah mengoleskan secara merata ekstrak binahong dengan dosis yang ditentukan pada luka tikus secara topikal selama 20 hari.
- d. Luka dibuat pada hewan uji diabetes (kadar glukosa darah  $\geq 200$  mg/dL).
- e. Luka yang dibuat merupakan luka tingkat 1 pada klasifikasi Wagner.
- f. Luka yang digunakan adalah luka yang kering. Luka yang bernanah (basah) dan berwarna merah tidak digunakan dalam penelitian.
- g. Pemberian ekstrak dilakukan sehari setelah eksisi (pembuatan luka).

### 3.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi dan Laboratorium Farmasi Klinik dan Komunitas (FKK) Fakultas Farmasi Universitas Jember. Penelitian dilakukan dari bulan Maret 2014 sampai dengan bulan Januari 2015. Pada laboratorium Biologi Farmasi dilakukan ekstraksi binahong dan pada laboratorium FKK dilakukan uji *in vivo* pada tikus wistar jantan.

### 3.7 Alat dan Bahan

#### 3.7.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserator, gelas ukur, kertas saring, corong buchner, spatula, rotavapor Laborota 4000, oven, neraca ohaus, *cage*, syringe, *glucotest* Gluco Dr, *surgical blade*, papan fiksasi, gunting bedah, pinset, timbangan analitik Pioneer™, botol timbang, lempeng KLT silika

gel 60 F<sub>254</sub>, chamber, lampu UV 366 nm, spektrofotometri UV-Vis double beam UVD-2950, labu ukur, pipet volume, sentrifus, mikropipet Socorex, dan mikroskop cahaya Nikon H600L yang dilengkapi kamera digital DS Fi2 300 megapixel.

### 3.7.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk tanaman binahong, n-heksana teknis, etil asetat teknis, etanol p.a, etanol 80%, etanol 70%, aloksan monohidrat (Sigma-Aldrich), ketamin HCl, salep mupirosin (merk Pibaksin<sup>®</sup>), NaCl fisiologis (NaCl 0,9%), asam sitrat p.a, asam borat p.a, metanol p.a, asam format p.a, kuersetin, natrium asetat p.a, aluminium klorida p.a, aquades, dan pewarna hematoksilin-eosin.

## 3.8 Prosedur Penelitian

### 3.8.1 Pembuatan Ekstrak Binahong

Serbuk binahong direndam dalam pelarut dengan perbandingan 1:7,5. Mula-mula, serbuk binahong ditimbang sebanyak 750 gram kemudian dimasukkan ke dalam maserator dan direndam dengan 5,625 liter n-heksana selama 5 hari. Tiap hari dilakukan satu kali pengadukan. Setelah 5 hari, dilakukan penyaringan dan ampas yang diperoleh diangin-anginkan hingga kering. Serbuk direndam dengan 5,625 liter etil asetat selama 5 hari dan dilakukan satu kali pengadukan tiap hari. Setelah 5 hari, dilakukan penyaringan dan ampas yang diperoleh diangin-anginkan hingga kering. Setelah kering, serbuk direndam dengan etanol 70% selama 5 hari dan dilakukan satu kali pengadukan tiap hari. Setelah 5 hari, maserat dipisahkan dari ampas dengan menggunakan penyaringan. Maserat ditampung dan ampas diremaserasi dengan etanol 70% selama 5 hari dengan satu kali pengadukan tiap hari. Setelah 5 hari, maserat dipisahkan dari ampas melalui penyaringan. Seluruh maserat yang diperoleh kemudian dirotavapor pada suhu 50°C dengan kecepatan 150 rpm. Ekstrak cair hasil rotavapor kemudian di oven pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental binahong dan dihitung persen rendemen.

### 3.8.2 Profil Ekstrak

#### 3.8.2.1 Susut pengeringan

Susut pengeringan dilakukan dengan cara menimbang ekstrak sebanyak 1-2 gram dan dimasukkan ke dalam botol timbang dangkal bertutup yang telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara. Ratakan ekstrak hingga berupa lapisan dengan ketebalan 5-10 mm. Keringkan pada suhu 105°C hingga diperoleh bobot konstan. Setiap sebelum pengeringan, botol timbang disimpan dalam eksikator hingga suhu kamar (Depkes RI, 2000).

#### 3.8.2.2 Kadar flavonoid total

Penentuan kadar flavonoid total dilakukan dengan metode spektrofotometri seperti yang tertera dalam Farmakope Herbal Indonesia (FHI) dengan modifikasi:

a. Larutan uji untuk ekstrak

Timbang ekstrak sebanyak 0,1-1 gram, larutkan dalam 10 ml etanol 80%, sentrifus dengan kecepatan 1000 rpm selama 10 menit. Masukkan supernatan ke dalam labu ukur 25 ml ekstraksi residu dua kali, tiap kali dengan 5 ml etanol 80%. Kumpulkan supernatan ke dalam labu ukur yang sama, tambahkan etanol 80% ad tanda.

b. Larutan pembanding

Timbang kuersetin kemudian larutkan dalam etanol 80%, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan etanol 80% hingga konsentrasi 10, 25, 50, 75, dan 100 µg/ml.

c. Pengukuran

Pipet secara terpisah 0,5 ml larutan uji dan larutan pembanding, tambahkan pada masing-masing 1,5 ml etanol *P*, 0,1 ml aluminium klorida *P* 10%, 0,1 ml natrium asetat 1M, dan 2,8 ml air suling. Kocok dan diamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Ukur serapan pada panjang gelombang 425 nm. Lakukan pengukuran blanko dengan cara yang sama, tanpa penambahan aluminium klorida.



Total kandungan flavonoid sampel dinyatakan sebagai kesetaraan mg kuersetin/g sampel kering, kemudian dilakukan ekivalensi kuersetin terhadap rutin (1 mg kuersetin ekivalen dengan 2 mg rutin) (Ambrose dan De Eds, 1949).

### 3.8.2.3 Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

KLT dilakukan seperti yang tertera pada FHI. Timbang seksama 1 gram serbuk simplisia, rendam sambil dikocok di atas penangas air dengan 10 ml etanol selama 10 menit. Masukkan filtrat ke dalam labu ukur 10 ml dan tambahkan etanol sampai tanda. Totolkan sebanyak 20 µl pada lempeng menggunakan pipet mikro kemudian diekspansi dengan kondisi sebagai berikut :

Fase gerak	: etil asetat <i>P</i> : asam format <i>P</i> : air (5:1:1)
Fase diam	: silika gel 60 F <sub>254</sub>
Deteksi	: sitroborat <i>LP</i> , panaskan lempeng pada suhu 100° selama 5-10 menit dan UV <sub>366</sub>

### 3.8.3 Pembuatan Sediaan Aloksan

Serbuk aloksan monohidrat dosis 150 mg/kg BB dilarutkan dalam NaCl fisiologis (NaCl 0,9%) (Nagappa, 2003).

### 3.8.4 Adaptasi Hewan Uji

Sebelum dilakukan penelitian, tikus diadaptasikan terlebih dahulu selama satu minggu di Laboratorium Farmasi Klinik dan Komunitas Fakultas Farmasi Universitas Jember. Setiap hari diberikan makanan berupa pelet dan diberikan minuman secara *ad libitum*.

### 3.8.5 Persiapan Hewan Uji

Hewan uji dipuaskan selama 16-18 jam kemudian dilakukan pengukuran kadar glukosa darah awal. Selanjutnya, hewan uji diinduksi dengan aloksan dosis 150 mg/kg BB secara intraperitoneal. Hewan uji kemudian diberi makan dan



minum kembali. Setelah 3 hari dilakukan pengukuran kadar glukosa hewan uji. Dikatakan diabetes jika kadar glukosa  $\geq 200$  mg/dL (Singh, 2001).

### 3.8.6 Perlakuan Hewan Uji

Hewan uji yang telah diabetes kemudian dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif, kelompok perlakuan 1, kelompok perlakuan 2, dan kelompok perlakuan 3. Selanjutnya dilakukan pembuatan luka di bagian punggung dengan metode Morton dan Malone. Hewan uji dianastesi dengan menggunakan Ketamin HCl dosis 50 mg/kg BB secara intramuskular. Rambut tikus di sekitar punggung dicukur kemudian dibersihkan dengan kapas yang dibasahi alkohol. Kemudian dibuat tanda area luka dengan diameter 2,5 cm. Pembuatan luka menggunakan pisau bedah dan gunting bedah. Kulit diangkat hingga jaringan subkutan dan jaringan ikat di bawahnya.

Kelompok kontrol positif diberikan salep mupirosin dosis 100 mg, kelompok kontrol negatif tidak diberikan perlakuan, kelompok perlakuan 1 diberikan ekstrak etanol binahong dosis 100 mg, kelompok perlakuan 2 diberikan ekstrak etanol binahong dosis 200 mg, dan kelompok perlakuan 3 diberikan ekstrak etanol binahong dosis 400 mg. Perlakuan dilakukan selama 20 hari. Pada hari ke-21 hewan uji dikorbankan dan dibuat preparat jaringan penyembuhan luka.

### 3.8.7 Pembuatan Preparat Jaringan

Proses pembuatan preparat jaringan adalah sebagai berikut (Muntiha, 2001) :

a. Memotong jaringan organ

Jaringan yang akan dipreparasi ditiriskan dari larutan fiksasi kemudian dipotong dengan ketebalan 0,3-0,5 mm dan dimasukkan ke dalam *tissue cassette*. *Tissue cassette* dimasukkan ke dalam keranjang khusus (*basket*).

b. Proses dehidrasi

*Basket* dimasukkan ke dalam mesin *processor* otomatis kemudian akan mengalami proses dehidrasi bertahap : etanol 70% (2 jam), etanol 80% (2

jam), etanol 90% (2 jam), xylol (2 jam), parafin cair (2 jam), parafin cair (2 jam). Setelah selesai, *tissue cassette* dikeluarkan untuk proses vakum.

c. Vakum

Proses vakum dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan udara dari dalam jaringan. Proses pemvakuman menggunakan mesin vakum yang diisi parafin cair suhu 59-60°C selama 30 menit. Kemudian *tissue cassette* dikeluarkan dan disimpan pada parafin cair suhu 60°C sebelum dicetak.

d. Mencetak blok parafin

Parafin cair suhu 60°C dituangkan ke dalam cetakan yang berisi jaringan hingga seluruh jaringan terendam. Kemudian cetakan diletakkan di dalam mesin pendingin hingga parafin membeku. Setelah parafin membeku, blok parafin dilepaskan dari cetakan dan disimpan dalam freezer (-20 °C) sebelum pemotongan.

e. Memotong blok jaringan

Blok parafin dipotong dengan menggunakan mikrotom setebal 3-4 µm. Potongan tersebut kemudian diletakkan di atas permukaan air dalam waterbath suhu 46°C. Irisan kemudian dirapikan dan diletakkan di atas kaca obyek yang telah diolesi dengan ewith. Ewith berfungsi sebagai perekat. Kaca obyek kemudian disimpan dalam inkubator suhu 60°C hingga siap diwarnai.

### 3.8.8 Pembuatan Sediaan Hematoksilin-Eosin

Pembuatan pewarna hematoksilin dan eosin adalah sebagai berikut:

a. Larutan hematoksilin.

Timbang serbuk hematoksilin 1 gram, kalium aluminium sulfat 50 gram, dan natrium iodat 0,2 gram. Larutkan dalam satu liter akuades dengan sedikit pemanasan, kemudian disimpan satu malam pada suhu ruang. Selanjutnya, ditambahkan asam sitrat 50 gram dan kloralhidrat 50 gram. Larutan dipanaskan dan diaduk selama 5 menit kemudian didinginkan dan disaring.

b. Larutan eosin

Timbang serbuk eosin Y 7,5 gram, eritrosin 7,5 gram, dan kalsium klorida 2,5 gram. Larutkan dalam akuades 1 liter kemudian disaring.

c. Larutan pembiru

Timbang litium karbonat sebanyak 1,5 gram kemudian larutkan dalam 1 liter akuades, aduk hingga homogen.

3.8.9 Pewarnaan Jaringan

Pewarnaan jaringan menggunakan pewarna hematoksilin-eosin. Preparat yang akan diwarnai dicelupkan pada larutan dengan urutan sebagai berikut :

- a. Xylol selama 3 menit
- b. Xylol selama 3 menit
- c. Etanol 96% selama 3 menit
- d. Etanol 96% selama 3 menit
- e. Etanol 90% selama 3 menit
- f. Etanol 80% selama 3 menit
- g. Bilas dengan air
- h. Larutan hematoksilin selama 6-7 menit
- i. Bilas dengan air selama 1 menit
- j. Larutan eosin selama 1-5 menit
- k. Bilas dengan air selama 1 menit
- l. Etanol 80% sebanyak 10 celupan
- m. Etanol 90% sebanyak 10 celupan
- n. Etanol 96% sebanyak 10 celupan
- o. Etanol 96% selama 1 menit
- p. Xylol selama 3 menit
- q. Xylol selama 3 menit
- r. Xylol selama 3 menit

Preparat diangkat dari larutan xylol dalam keadaan basah, kemudian ditetesi dengan cairan perekat dan ditutup dengan kaca penutup. Hasil pewarnaan dapat dilihat menggunakan mikroskop.

### 3.9 Analisis Data

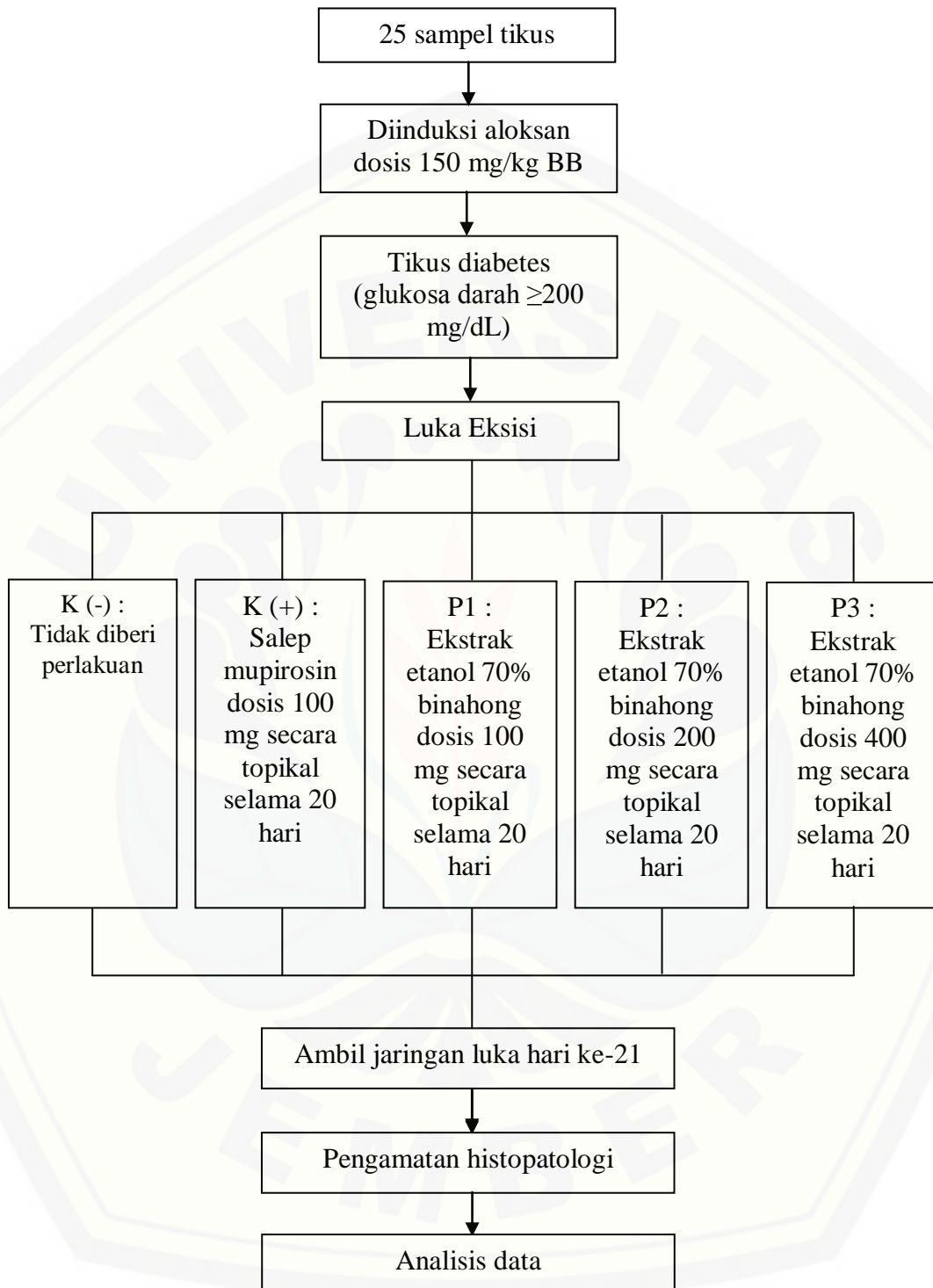
Preparat yang telah diwarnai kemudian diamati menggunakan mikroskop cahaya binokuler dengan pembesaran 400 kali. Variabel yang diamati adalah perkembangan kesembuhan luka secara histologi, yaitu pembuluh darah baru, kolagen, dan jaringan epitel. Data dianalisis dengan analisis deskriptif kualitatif dengan memperbandingkan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

### 3.10 Skema Kerja Penelitian

#### 3.10.1 Skema Alur Pembuatan Ekstrak Etanol Binahong



3.10.2 Skema Alur Perlakuan Hewan Uji





## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil

#### 4.1.1 Pembuatan Ekstrak Binahong

Sebanyak 750 gram serbuk binahong dimaserasi berturut-turut dengan 5,625 liter n-heksana, etil asetat, dan etanol 70% selama 5 hari dengan pengadukan tiap hari. Pada maserasi dengan etanol 70% dilakukan remaserasi sebanyak dua kali. Ekstrak yang diperoleh kemudian dipekatkan. Ekstrak kental binahong yang diperoleh sebanyak 193,58 gram sehingga persentase rendemen ekstrak sebesar 25,81% b/b (lampiran A).

#### 4.1.2 Profil Ekstrak

Profil ekstrak binahong yang meliputi susut pengeringan, kadar flavonoid total, dan profil KLT adalah sebagai berikut:

##### a. Susut pengeringan

Susut pengeringan diperoleh dari perbandingan antara berat ekstrak sebelum dan sesudah dikeringkan. Pengeringan dilakukan hingga diperoleh berat yang konstan. Nilai susut pengeringan ekstrak binahong sebesar  $49,29\% \pm 0,28\%$  (lampiran B).

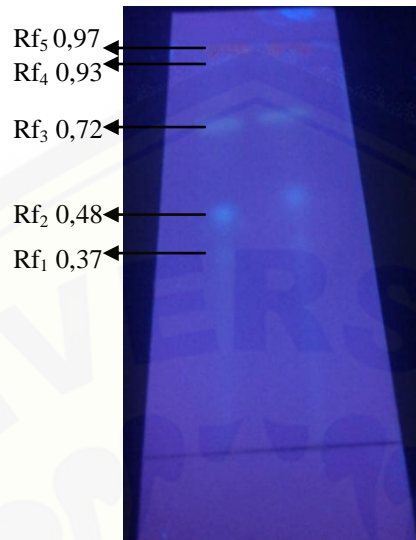
##### b. Kadar flavonoid total

Penentuan kadar flavonoid total dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Kadar flavonoid total ekstrak binahong sebesar  $1,10\% \pm 0,53\%$  dihitung sebagai senyawa Rutin (lampiran C).

##### c. Profil kromatografi lapis tipis

KLT pada binahong dilakukan dengan menggunakan eluen etil asetat  $P$  : asam format  $P$  : air (5:1:1). Setelah dieluasi, lempeng disemprot dengan penampak noda sitroborat  $LP$  dan dipanaskan pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$  selama 5-10 menit. Bercak noda dilihat pada lampu UV 366 nm. Tampak adanya 5 bercak

noda dengan Rf berturut-turut dari bawah 0,37; 0,48; 0,72; 0,93; dan 0,97. Hasil KLT dapat dilihat pada Gambar 4.1

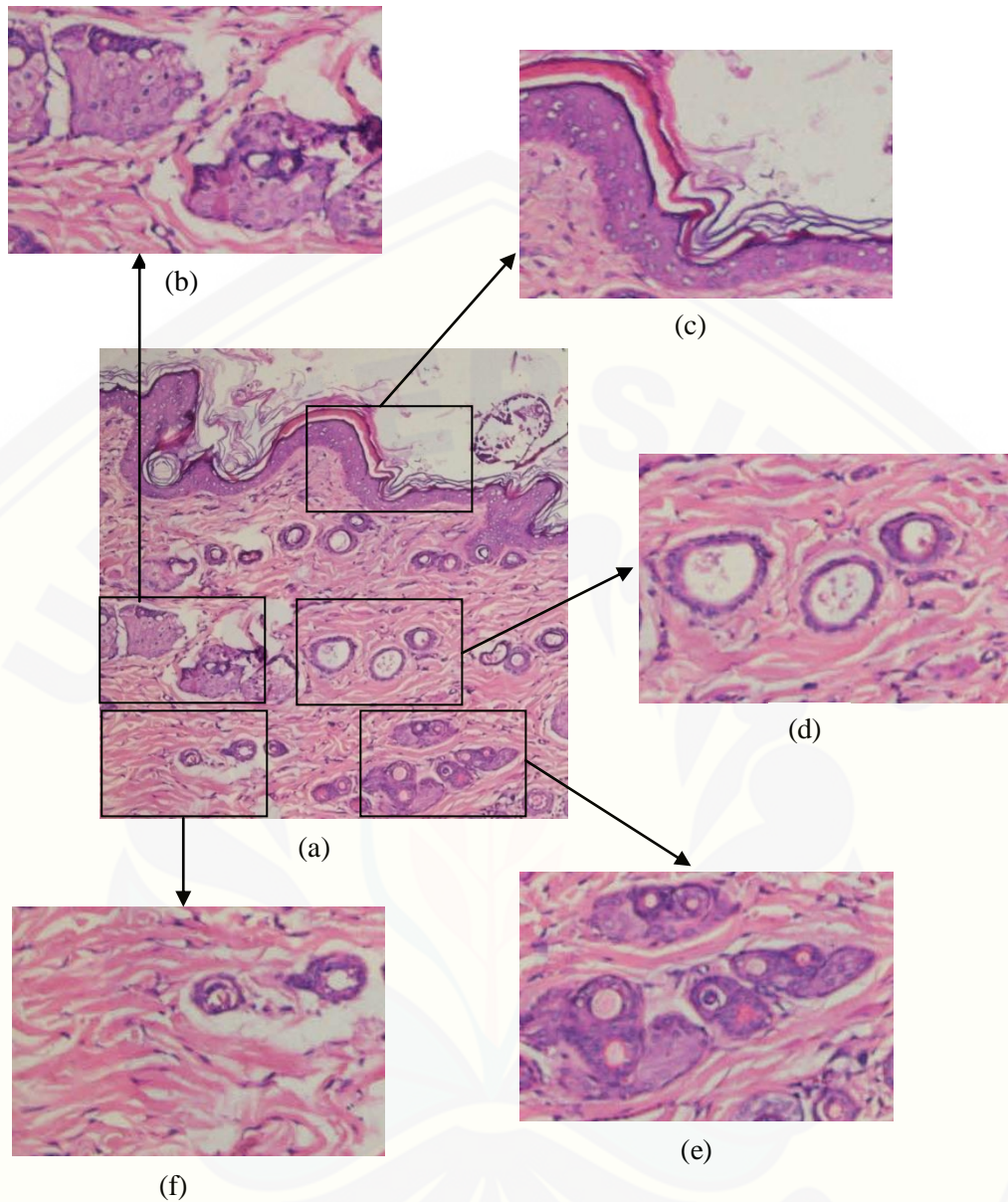


Gambar 4.1 Profil KLT binahong dengan eluen etil asetat  $P$  : asam format  $P$  : air (5:1:1) menggunakan penampak noda sitroborat  $LP$  dan dilihat di bawah lampu UV 366 nm (Sumber: Dokumen Pribadi)

#### 4.1.3 Histopatologi Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka dapat dilihat secara mikroskopis dan makroskopis. Penyembuhan luka secara mikroskopis dapat dilihat dari profil histopatologi, sedangkan penyembuhan luka secara makroskopis dapat dilihat dari luas luka (Manjas *et al*, 2010). Secara makroskopis tingkat penyembuhan luka pada kontrol positif 96,69%; kontrol negatif 56,92%; ekstrak binahong dosis 100 mg 65,32%; ekstrak binahong dosis 200 mg 93,32%; dan ekstrak binahong dosis 400 mg 96,90% (Ulfa, 2015).

Histopatologi dilakukan pada kulit normal (Gambar 4.2) dan jaringan penyembuhan luka (Gambar 4.3). Kulit normal adalah kulit pada hewan uji yang telah diabetes namun tidak dilukai, sedangkan jaringan penyembuhan luka adalah kulit hewan uji yang diabetes kemudian dilukai dan mengalami proses penyembuhan luka. Kulit penyembuhan luka terdiri dari 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol positif, kontrol negatif, ekstrak binahong dosis 100 mg, ekstrak binahong dosis 200 mg, dan ekstrak binahong dosis 400 mg.



(a) kulit normal tampak secara keseluruhan (b) kelenjar keringat (c) jaringan epitel (d) pembuluh darah (e) folikel rambut (f) kolagen

Gambar 4.2 Profil histopatologi kulit normal beserta bagian-bagiannya dengan perbesaran 100 kali (Sumber: Dokumen pribadi)

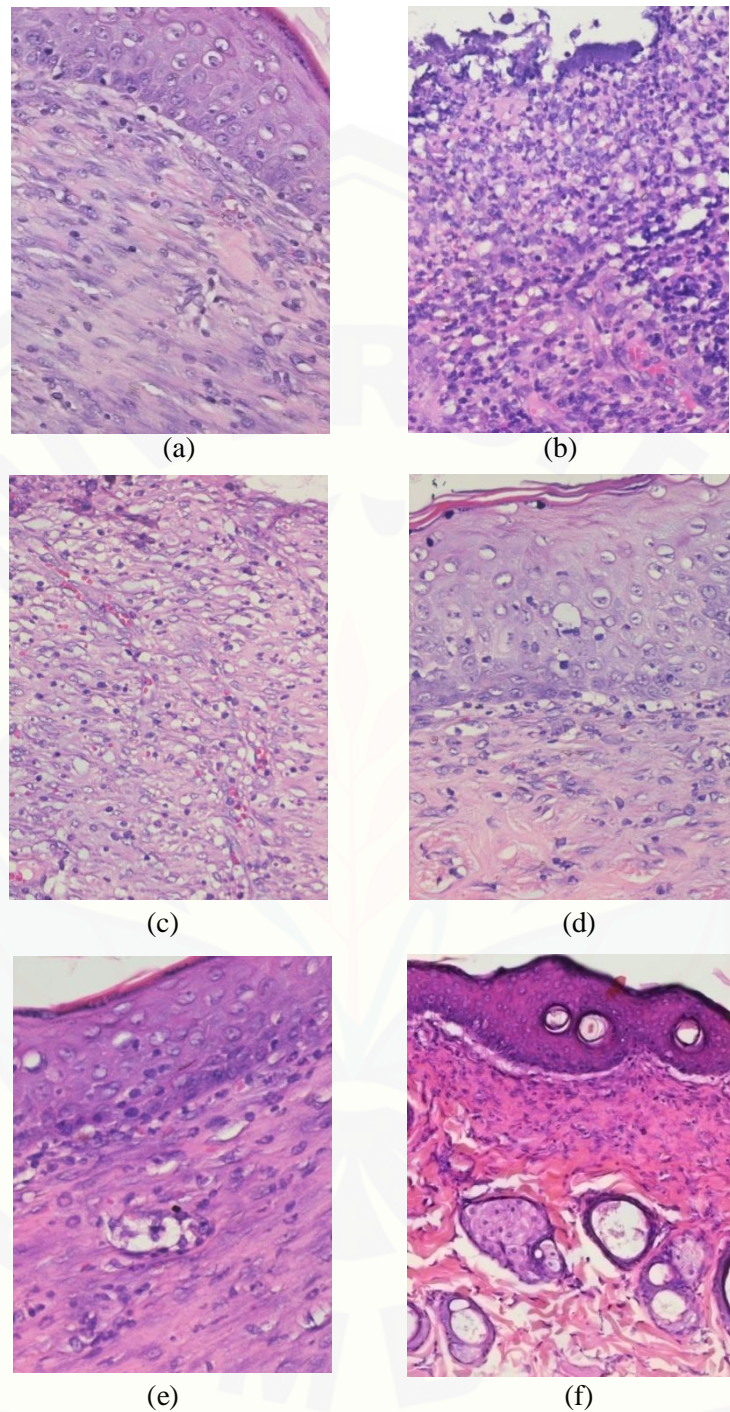
Gambar 4.2 merupakan gambaran histopatologi dari kulit normal. Pada kulit ini tampak adanya lapisan epidermis dan lapisan dermis. Lapisan epidermis merupakan jaringan epitel (Gambar 4.2c) yang berada di kulit. Pada lapisan ini tidak ditemukan adanya pembuluh darah. Pada lapisan dermis dapat ditemukan

adanya kelenjar keringat (Gambar 4.2b), folikel rambut (Gambar 4.2e), pembuluh darah (Gambar 4.2d), dan kolagen (Gambar 4.2f). Kolagen pada kulit normal tampak berukuran besar dengan sebuah inti dan tersusun tidak teratur karena telah *mature* dan pembuluh darah pada lapisan dermis kulit normal jumlahnya sedikit (Price dan Wilson, 1994).

Gambar 4.3(a) merupakan gambaran histopatologi dari kontrol positif. Tampak bahwa epitelisasi dan kolagen telah terbentuk, meski kolagen yang terbentuk masih *immature* dan epitelisasi belum menutup sempurna. Selain itu, pembuluh darah yang tampak masih banyak jumlahnya. Gambar 4.3(b) merupakan gambaran histopatologi kontrol negatif. Jumlah pembuluh darah masih sangat banyak, kolagen dan epitel hampir tidak terbentuk.

Gambar 4.3(c) adalah gambaran histopatologi ekstrak etanol binahong dosis 100 mg. Pada gambar ini dapat dilihat bahwa kolagen telah terbentuk meski sedikit dan epitel yang terbentuk hanya disekitar perbatasan kulit luka dengan kulit normal. Jumlah pembuluh darah yang ditemukan masih banyak. Gambar 4.3(d) adalah gambaran histopatologi ekstrak etanol binahong dosis 200 mg. Kolagen yang terbentuk terlihat banyak dan beberapa telah *mature*. Epitelisasi telah terbentuk dan jumlah pembuluh darah baru sudah berkurang. Gambar 4.3(e) adalah gambaran histopatologi dari ekstrak etanol binahong dosis 400 mg. Epitelisasi telah terbentuk dan jumlah kolagen tampak banyak dengan jumlah pembuluh darah sedikit. Kolagen yang telah terbentuk beberapa sudah *mature*, bahkan di area penyembuhan luka yang berdekatan dengan area kulit normal telah terbentuk kelenjar keringat (Gambar 4.3(f)). Gambaran histopatologi jaringan epitel, angiogenesis, dan kolagen tiap kelompok dapat dilihat pada Tabel 4.1.



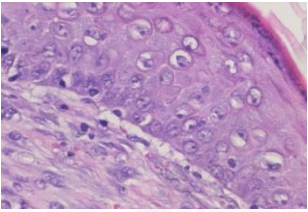
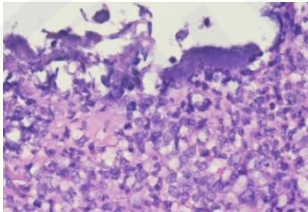
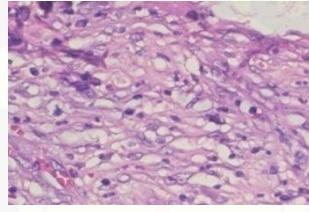
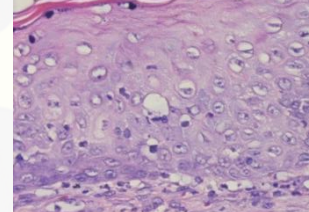
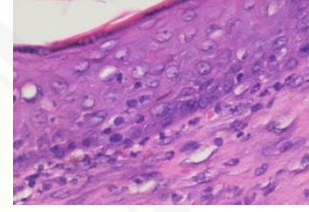
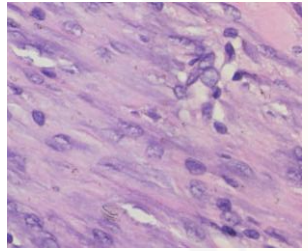
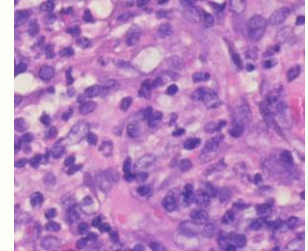
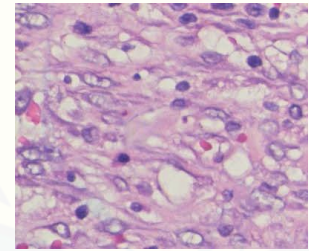
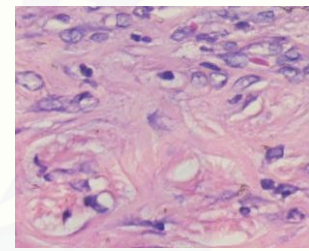
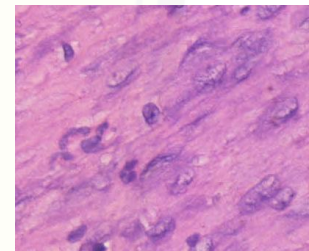
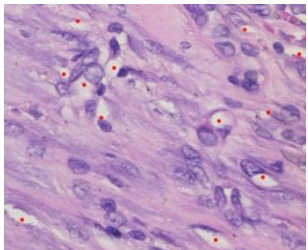
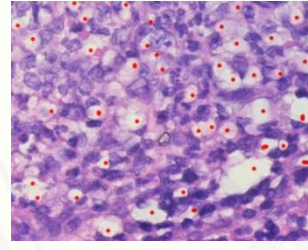
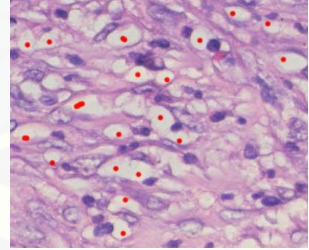
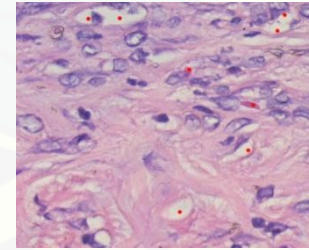
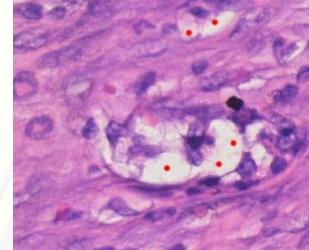


(a) Kontrol positif (salep mupirosin dosis 100 mg) (b) Kontrol negatif (c) Ekstrak binahong dosis 100 mg (d) Ekstrak binahong dosis 200 mg (e) Ekstrak binahong dosis 400 mg (f) Ekstrak binahong dosis 400 mg yang berbatasan dengan kulit normal

Gambar 4.3 Profil histopatologi kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan perbesaran 400 kali (Sumber: Dokumen pribadi)



Tabel 4.1 Epitelisasi, kolagen, dan angiogenesis kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Parameter	Kontrol positif	Kontrol negatif	Ekstrak binahong dosis 100 mg	Ekstrak binahong dosis 200 mg	Ekstrak binahong dosis 400 mg
epitelisasi					
	telah terbentuk	belum terbentuk	belum terbentuk	telah terbentuk	Telah terbentuk
kolagen					
	kolagen >>	kolagen >	kolagen >	kolagen >>>	kolagen >>>
angiogenesis					
	pembuluh darah >>	pembuluh darah >>>	pembuluh darah >>>	pembuluh darah >>	pembuluh darah >

Pembuluh darah ditunjukkan dengan titik-titik merah dan kolagen berwarna merah muda

## 4.2 Pembahasan

Pada penelitian ini digunakan dua senyawa yaitu aloksan dan mupirosin. Aloksan merupakan zat penginduksi diabetes yang bekerja melalui mekanisme merusak sel  $\beta$  pankreas. Dengan rusaknya sel  $\beta$  pankreas, maka insulin tidak dihasilkan sehingga kadar glukosa dalam darah akan meningkat (Lenzen, 2008). Mupirosin yang digunakan adalah sediaan jadi berupa salep dengan dosis 100 mg. Pada penelitian ini mupirosin digunakan sebagai kontrol positif. Mupirosin merupakan antibakteri yang dihasilkan oleh *Pseudomonas fluorescens* yang bersifat bakterisidal pada konsentrasi tinggi dan bersifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah. Aktivitas antibakterinya meliputi *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Sweetman, 2009). Kedua bakteri ini merupakan jenis bakteri yang sering ditemukan pada ulkus diabetik (Jeffcoate dan Harding, 2003). Mekanisme kerja mupirosin melalui penghambatan sintesis protein bakteri dengan cara berikatan dengan tRNA isoleusil (Sweetman, 2009).

Ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol binahong. Ekstrak etanol binahong merupakan ekstrak yang dibuat dengan menggunakan metode maserasi bertingkat. Maserasi bertingkat merupakan maserasi yang dilakukan dengan menggunakan pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya dimulai dari nonpolar, semipolar, dan polar. Pelarut yang digunakan adalah *n*-heksana untuk pelarut nonpolar, etil asetat untuk pelarut semipolar, dan etanol untuk pelarut polar. Maserasi merupakan metode ekstraksi yang paling mudah untuk dilakukan karena tidak membutuhkan preparasi dan alat yang khusus. Selain itu dapat dilakukan untuk pembuatan ekstrak dengan skala besar. Dengan menggunakan maserasi bertingkat akan didapatkan ekstrak yang lebih murni jika dibandingkan dengan metode maserasi (Kristanti *et al*, 2008).

Secara empiris tanaman binahong dikenal dapat menyembuhkan luka (Sumartiningsih, 2011). Pada pasien DM luka yang timbul dapat berkembang menjadi ulkus diabetik hingga gangren (Deshpande *et al*, 2008). DM merupakan suatu gangguan metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak yang disebabkan oleh kurangnya sekresi insulin, sensitivitas insulin menurun, atau gabungan dari keduanya (ADA, 2006). Ulkus diabetik merupakan luka yang dialami oleh pasien

DM dimana luka tersebut mencapai lapisan dermis kulit (Alexiadou dan Doupis, 2012). DM dapat menyebabkan ulkus diabetik karena kondisi DM dapat menghambat proses penyembuhan luka (Guo dan DiPietro, 2010).

Pada kondisi normal, proses penyembuhan luka terbagi menjadi empat fase, yaitu fase hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodeling. Pada fase hemostasis tubuh akan berusaha menutup luka dan menghentikan perdarahan. Pada fase inflamasi luka akan dibersihkan dari benda asing, bakteri dan sel mati melalui proses fagositosis. Pada fase proliferasi akan dibentuk jaringan epitel dan pembuluh darah baru. Pembuluh darah baru dibentuk untuk memenuhi kebutuhan oksigen dan nutrisi yang meningkat. Proses angiogenesis (pembentukan pembuluh darah baru) diatur oleh *Vascular Endothelial cell Growth Factor* (VEGF). Setelah pembuluh darah baru terbentuk, kadar oksigen akan kembali normal dan oksigen akan berikatan dengan *Hypoxia-Induced Factor* (HIF) sehingga aktivitas VEGF akan menurun. Dengan menurunnya jumlah VEGF maka jumlah pembuluh darah akan semakin menurun sehingga akan tampak beberapa pembuluh darah saja pada kulit normal maupun kulit yang telah sembuh. Menurunnya jumlah pembuluh darah merupakan awal dari fase remodeling. Pada fase remodeling juga terjadi pergantian matriks lama yang telah rusak diganti dengan matriks baru sehingga struktur dan fungsi jaringan kembali normal (Diegelmann dan Evans, 2004).

Dari gambaran histopatologi dapat disimpulkan bahwa kontrol positif telah sampai pada fase akhir proliferasi dan akan memasuki fase remodeling karena jumlah pembuluh darah telah berkurang dan jaringan epitel telah terbentuk. Pada kelompok kontrol negatif mulai memasuki fase proliferasi dikarenakan telah banyak terbentuk pembuluh darah baru namun belum terbentuk jaringan epitel, demikian pula pada kelompok ekstrak binahong dosis 100 mg. Pada kelompok ekstrak binahong dosis 200 mg dan 400 mg, fase penyembuhan memasuki fase remodeling karena jumlah pembuluh darah berkurang dan telah terjadi maturasi kolagen (Tabel 4.1).

Pada kondisi DM masa hipoksia menjadi lebih lama sehingga meningkatkan jumlah ROS yang mengakibatkan kerusakan sel dan proses



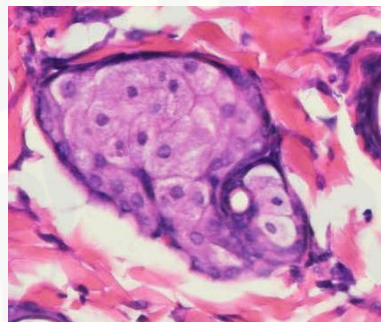
angiogenesis terganggu. Selain itu, tingginya kadar glukosa dalam darah menyebabkan bakteri lebih mudah tumbuh dan menurunkan kemampuan leukosit dalam membersihkan luka. Kondisi ini akan memperpanjang masa inflamasi sehingga menghambat penyembuhan luka (Guo dan DiPietro, 2010). Dari hasil penelitian tampak bahwa luka belum menutup sempurna pada hari ke-21 (lampiran E.6). Pada kondisi normal, pada hari ke-21 luka telah menutup karena pada hari ke-21 mulai memasuki fase remodeling (Mc Gavin and Zachary, 2007).

Terdapat dua sistem klasifikasi luka diabetes, yaitu klasifikasi Wagner dan klasifikasi UT. Dalam penelitian ini digunakan klasifikasi Wagner dikarenakan sistem klasifikasi ini lebih banyak digunakan. Selain itu, pembuatan luka pada penelitian ini memperhatikan kedalaman luka serta ada atau tidaknya gangren sehingga klasifikasi Wagner lebih sesuai dibandingkan klasifikasi UT. Luka yang dibuat merupakan jenis luka tingkat 1, yaitu ulkus yang terbentuk cukup dalam baik di sebagian maupun seluruh bagian luka. Luka yang dibuat tidak mencapai lapisan tendon sehingga tidak mencapai tingkat 2.

Pada kelompok kontrol negatif masih tampak adanya pembuluh darah dengan jumlah yang banyak dan kolagen serta jaringan epitel yang hampir tidak terbentuk. Pada gambaran histopatologi kelompok kontrol positif tampak adanya perbaikan kondisi luka jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini terlihat dari jumlah pembuluh darah berkurang serta jaringan epitel dan kolagen yang telah terbentuk, meskipun kolagen yang terbentuk masih belum *mature* dan epitelisasi belum sempurna.

Pada kelompok perlakuan tampak adanya proses penyembuhan yang semakin baik seiring dengan meningkatnya jumlah dosis ekstrak binahong yang diberikan. Pada pemberian ekstrak binahong dosis 100 mg tampak bahwa jaringan epitel dan kolagen yang terbentuk masih sedikit dan jumlah pembuluh darah masih banyak. Ketika dosis ekstrak binahong ditingkatkan menjadi 200 mg jumlah pembuluh darah menurun yang diiringi peningkatan jaringan epitel dan kolagen. Beberapa kolagen yang terdapat pada area perbatasan antara kulit luka dan kulit normal telah *mature*. Pada pemberian ekstrak binahong dosis 400 mg, proses penyembuhan tampak semakin baik. Hal ini ditunjukkan dengan jumlah

pembuluh darah sedikit serta banyaknya jumlah kolagen (Gambar 4.7e) dan jaringan epitel yang telah terbentuk. Beberapa kolagen pada area perbatasan kulit luka dan kulit normal tampak telah *mature* dan mulai terbentuk kelenjar keringat (Gambar 4.4). Terbentuknya organ tambahan kulit seperti kelenjar keringat, kelenjar minyak, dan folikel rambut menunjukkan proses penyembuhan yang semakin baik dikarenakan pembentukan organ tambahan kulit dilakukan setelah maturasi kolagen (Diegelmann dan Evans, 2004).



Gambar 4.4 Kelenjar keringat yang telah muncul pada perbatasan area luka dan kulit normal pada pemberian ekstrak binahong dosis 400 mg dengan perbesaran 400 kali (Sumber: Dokumen pribadi)

Ekstrak etanol binahong diketahui mengandung senyawa kimia alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin (Rahmawati *et al*, 2013). Pada kondisi DM jumlah ROS meningkat jika dibandingkan dengan kondisi normal (Lee *et al*, 2003). Peningkatan jumlah ROS dalam tubuh hingga melampaui batas normal dapat menyebabkan kerusakan sel. Selain itu, ROS juga diketahui dapat menghambat proses angiogenesis. Hal ini dapat menyebabkan proses penyembuhan luka terhambat dikarenakan dalam proses penyembuhan diperlukan angiogenesis yang baik (Giacco dan Brownlee, 2010).

Flavonoid merupakan senyawa yang diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan karena kemampuannya untuk mendonorkan proton kepada senyawa yang tidak stabil sehingga menjadi stabil (Stocks *et al*, 1974). Flavonoid dapat menstabilkan ROS (*Reactive Oxygen Species*). Dengan adanya flavonoid yang bersifat sebagai antioksidan, maka dapat menstabilkan ROS sehingga tidak menyerang sel dan tidak menghambat proses angiogenesis. Hal ini akan mempercepat penyembuhan luka. Mekanisme lain flavonoid dalam penyembuhan



luka adalah dengan meningkatkan proliferasi sel epitel dan kolagen sehingga proses penyembuhan luka menjadi lebih baik (Muralidhar *et al*, 2013).

Golongan senyawa alkaloid diketahui dapat mempercepat proses penyembuhan luka. Alkaloid dapat menginisiasi fibroblas menuju daerah luka (Reyes *et al*, 1993). Fibroblas merupakan salah satu komponen penting dalam penyembuhan luka. Dengan kehadiran fibroblas yang semakin banyak, maka proses penyembuhan luka menjadi lebih cepat (Diegelmann dan Evans, 2004).

Golongan senyawa lain yang terdapat dalam tanaman binahong adalah saponin dan tanin. Menurut penelitian Kim (2011), saponin memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi. Selain itu, saponin juga dapat meningkatkan proliferasi sel epitel dan sintesis kolagen. Tanin memiliki aktivitas antibakteri dan angiogenik. Dengan mempercepat fase inflamasi melalui mekanisme antibakteri dan meningkatkan pembentukan pembuluh darah baru akan mempercepat proses penyembuhan luka. Keempat hal ini akan mempercepat proses penyembuhan luka. (Li *et al*, 2011).

Ekstrak etanol binahong juga diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* (Aini, 2012) dan *Staphylococcus aureus* (Perwira, 2013). Kedua bakteri ini merupakan bakteri yang sering ditemukan pada ulkus diabetik. Mempercepat proses pembersihan luka dari bakteri dan benda asing dapat mempercepat fase inflamasi sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan luka (Guo dan DiPietro, 2010).

## **BAB 5. PENUTUP**

### **5.1 Kesimpulan**

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah:

- a. Ekstrak etanol binahong dapat membantu proses penyembuhan ulkus diabetik yang terlihat dari peningkatan jumlah kolagen dan epitelisasi serta penurunan jumlah pembuluh darah.
- b. Semakin meningkatnya dosis ekstrak binahong yang diberikan, proses penyembuhan ulkus diabetik menjadi lebih baik. Pada kelompok ekstrak dosis 100 mg proses penyembuhan mulai memasuki fase proliferasi. Pada kelompok ekstrak dosis 200 mg dan 400 mg proses penyembuhan telah mencapai fase remodeling dan pada dosis 400 mg telah terbentuk kelenjar keringat di perbatasan area luka dan kulit normal.

### **5.2 Saran**

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disarankan:

- c. Dilakukan uji toksisitas akut dan kronis pada ekstrak etanol binahong.
- d. Ekstrak etanol binahong dibuat dalam bentuk sediaan farmasi.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Aini, A. N. 2012. Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksana, Etil Asetat, dan Etanol 70% Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* Secara In Vitro. Tidak dipublikasikan. Skripsi. Jember: Univeristas Jember
- Alexiadou, K. & Doupis, J. 2012. Management of Diabetic Foot Ulcer. *Diabetes Ther.* 3(4): 1-15.
- Ambrose, A. M. & De Eds, F. 1949. The Value Of Rutin And Quercetin In Scurvy. *The Journal of Nutrition* 38(3): 305-317
- American Diabetes Association (ADA). 2003. Follow-up Report on the Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 26(11): 3160-3167
- American Diabetes Association. 2006. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 29 (Suplemen 1): S43-S48
- Anasta, br G. P. Y., Basyuni, M., dan Lesmana, I. 2013. Skrining Fitokimia Metabolit Sekunder pada Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) untuk Uji In Vitro Daya Hambat Pertumbuhan *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Aquacostmarine* 1(1): 1-10
- Aubert, R. 1995. *Diabetes in America*. Second Edition. USA: NIH publication
- Badan POM RI. 2008. Direktorat Obat Asli Indonesia. Jakarta : Badan POM Republik Indonesia
- Bloom, W. & Fawcett, D. W. 1962. *A Textbook of Histology*. Philadelphia, London: W. B. Saunders Company
- Budianto T. & Permadi, A. 2014. Making Ointment of Burn Extract Etanol 96% Binahong Leaf (*Anredera cordifolia* ( Ten.) Steenis) With Method of Maserasi. *Indonesian Journal on Medical Science* 1(1): 1-3
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta : Departemen Kesehatan
- Deshpande, A. D., Haris-Hayes, M., dan Schootman, M. 2008. Epidemiology of Diabetes and Diabetes-Related Complications. *Phis Ther* 88 : 1254-1264
- Diegelmann, R. F & Evans, M. C. 2004. Wound Healing : An Overview of Acute, Fibrotic and Delayed Healing. *Bioscience* 9: 283-289

- DOAPJ. 2013. *Ask DOAPJ Acne Scars and Derma Roller*. <http://www.diaryofaproductjunkie.com/2013/09/ask-doapj-acne-scars-and-derma-roller.html>. [29 Mei 2014]
- Dunning, T. 2005. *Nursing Care of Older People with Diabetes*. Oxford, UK: Blacwell Publishing
- Evans, W. C. 2002. *Trease and Evans Pharmacognosy*. 15<sup>th</sup> edition. Philadelphia, USA: Elsevier Science Limited
- Espada, A., Rodriguez, J., Villaverde, M. C., dan Riguera, R. 1990. Hypoglucaemic triterpenoid saponins from *Boussingaultia baselloides*. *Can. J. Chern.* 68: 2039-2044
- Giacco, F. & Brownlee, M. 2010. Oxidative Stress and Diabetic Complications. *Circ. Res* 107(9): 1058–1070
- Guo, S & DiPietro, L. A. 2010. Factor Affecting Wound Healing. *J. Dent. Res.* 89(3): 219-229
- Hanafiah, K.A. 2001. *Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi*. Edisi Revisi. Jakarta : Raja Grafindo Persada
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerjemah Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB
- Harborne, J. B & Williams, C. A. Advances in Flavonoid Research Since 1992. *Phytochemistry* 55: 481-504
- Hartono, Elda A., Sugeng, S.U., dan Puradisastra, S. 2011. Efek Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dalam Mempercepat Durasi Penyembuhan Luka Sayat pada Mencit Swiss Webster Jantan. *Jurnal Medika Planta*: 1-10
- Hunt, N.A., Liu, G.T., dan Lavery, L.A. 2011. The Economics of Limb Salvage In Diabetes. *Plast. Reconstr. Surg.* 127(Suppl 1): 289S–295S
- International Diabetes Federation (IDF). 2014. Global Estimates of Diabetes Prevalence for 2013 and Projections for 2035. *Diabetes Research and Clinical Practice* 103: 137-149
- Jeffcoate, W. J. & Harding, K. G. 2003. Diabetic Foot Ulcer. *The Lancet* 361: 1545-1551
- Junqueira, L. C., Carneiro, J., dan Kelley, R. O. 1998. *Basic Hitology*. 9<sup>th</sup> edition. USA: Appleton & Lange



- Kemenkes RI. 2013. Riset Kesehatan Dasar: Riskesdas 2013. <http://www.depkes.go.id/index.php?vw=2&id=414>. Diakses pada tanggal 14 Desember 2014 pukul 10:39
- Khanolkar, M. P., Bain, S. C., dan Stephens, J. W. 2008. The Diabetic Foot. *Q. J. Med.* 101: 685-695
- Kim, Y. S., Cho, I. H., Jeong, M. J., Jeong, S. J., Nah, S. Y., Cho, Y., S., Kim, S. H., Go, A., Kim, S. E., Kang, S. S., Moon, C. J., Kim, J. C., Kim, S. H., dan Bae, C. S. 2011. Therapeutic Effect of Total Ginseng Saponin on Skin Wound Healing. *J. Ginseng Res.* 35(3): 360-367
- Kottaimuthu, R., Ganesan, R. dan Vijayan, R. 2011. *Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis (Basellaceae) - A New Record for India. *Elixir Bio Diver.* 40 : 5517-5518
- Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M., dan Kurniadi, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press
- Kumalasari, E. & Sulistyarningsih, N. 2011. Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Batang Binahong (*Anredera cordifolia*(Tenore) Steen.) Terhadap *Candida albicans* Serta Skrining Fitokimia. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian* 1(2): 51 – 62
- Kurniawan, B., Carolia, N., dan Sukohar, A. 2014. Antiinflammatory Effectiveness of Binahong Leaves Extracts (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) in Male Sprague Dawley Rats Induced by Carrageenan. *Majority* 3(5): 10-17
- Lazarus, G. S., Cooper, D. M., Khinghton, D. R., Margolis, D. J., Percoraro, R. E., Rodeheaver, G., dan Robson, M. C. 1994. Definitions and Guidelines for Assessment of Wounds and Evaluation of Healing. *Wound Rep Reg* 2(3): 165-170
- Lee, H. B., Yu, M. R., Yang, Y. Q., Jiang, Z. P., dan Ha, H. J. 2003. Reactive Oxygen Species-Regulated Signaling Pathways in Diabetic Nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 14: S241–S245
- Leeson, T. S., Leeson, C. R., dan Paparo, A. A. 1989. *Textbook of Histology*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Li, K., Diao, Y., Zhang, H., Wang, S., Zhang, Z., Yu, B., Huang, S., dan Yang, H. 2011. Tannin Extracts From Immature Fruits of *Terminalia chebula* Fructus Retz. Promote Cutaneous Wound Healing In Rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 11: 86-95
- Makalalag, W. I., Wullur A., dan Wiyono, W. 2013. Uji Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* Steen.) Terhadap Kadar Gula Darah pada Tikus



- Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Sukrosa. *Pharmacon* 2(1): 28-34
- Manjas, M., Henky, J., dan Agus, S. Penggunaan Krim Amnion Pada Penyembuhan Luka Sayatan Tikus Wistar. *Majalah Kedokteran Indonesia* 60(6): 268-272
- Maruyama, K., Asai, J., Li, M., Thorne, T., Losordo, D. W., dan D'Amore, P. A. Decreased Macrophage Number and Activation Lead to Reduced Lymphatic Vessel Formation and Contribute to Impaired Diabetic Wound Healing. *The American Journal of Pathology* 170(4): 1178-1190
- Mc Gavin, M. D. & Zachary. 2007. *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. Missouri, USA : Elsevier Mosby
- Miladiyah, I & Prabowo, B. R. 2012. Ethanolic Extract of *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis Leaves Improved Wound Healing In Guinea Pigs. *Universa Medicina* 31(1): 4-11
- Moeloek, F. A. 2005. Herbal and Traditional Medicine: National Perspectives And Policies In Indonesia. *Jurnal Bahan Alam Indonesia* 5(1): 293-297
- Morton, J. J. P. & Malone MH. 1972. Evaluation of Vulnerary Activity by An Open Wound Procedure In Rats. *Arch Int Pharmacodyn* 196 : 117-126
- Muntiha, M. 2001. *Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E)*. Bogor: Balai Penelitian Veteriner.
- Muralidhar, A., Babu, K. S., Sankar, T. R., Reddanna, P., dan Latha, J. 2013. Wound Healing Activity of Flavonoid Fraction Isolated From the Stem Bark of *Butea monosperma* (Lam) in Albino Wistar Rats. *European Journal of Experimental Biology* 3(6): 1-6
- Nagappa, A.N., Thakurdesai, P.A., Rao, N.V., dan Singh, J. Antidiabetic Activity of *Terminalia catappa* Linn Fruits. *Journal of Ethnopharmacology* 88: 45-50
- Nathan, D. M. 1993. Long-term Complication of Diabetes Mellitus. *The New England Journal of Medicine* 328(23): 1676-1685
- Nofitasari, D. Y. 2013. Pengaruh Ekstrak *n*-heksana Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Penyembuhan Luka Tikus Jantan yang Diinduksi Aloksan. Tidak Dipublikasikan. Skripsi. Jember: Universitas Jember
- Notoatmodjo, S. 2005. *Teknik Pengambilan Sampel*. Jakarta : Rineka Cipta

- Oyibo, S. O., Jude, E. B., Tarawneh, I., Nguyen, H. C., Harkless, L. B., dan Boulton, A. J. M. 2001. A Comparison of Two Diabetic Foot Ulcer Classification Systems : The Wagner and the University of Texas wound classification systems. *Diabetes Care* 24: 84–88
- Persada, A. N., Windarti I, dan Fiana D. N. 2014. The Second Degree Burns Healing Rate Comparison Between Topical Mashed Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) and Hydrogel On White Rats (*Rattus norvegicus*) Sprague Dawley Strain. *Majority* 3(4): 1-10
- Perwira, I. D. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksana, Etil Asetat, dan Etanol 70% Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. Tidak dipublikasikan. Skripsi. Jember: Universitas Jember
- Plantamor. 2012. Informasi Spesies Binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. <http://www.plantamor.com/index.php?plant=1387>. [7 Mei 2014]
- Prasetyo, B. F., Wientarsih, I., dan Priosoeryanto, B.P. Aktivitas Sediaan Gel Ekstrak Batang Pohon Pisang Ambon dalam Proses Penyembuhan Luka pada Mencit. *Jurnal Veteriner* 11(2): 70-73
- Price, S. A & Wilson, L. M. 1994. *Patofisiologi : Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Terjemah: Peter Anugerah. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Rahmawati, L., Fachriyah, E., dan Kusriani, D. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Chem Info Journal*: 1-9
- Reyes, B. H. P., Lewis, W. H., Roman, J., Simchowit, L., dan Mustoe, T. A. 1993. Enhancement of Wound Healing by the Alkaloid Taspine Defining Mechanism of Action. *Exp Biol Med* 203(1): 18-25
- Sanders, L. J. 2011. Foot Ulcer. *Johns Hopkins Diabetes Guide* 54: 1-17
- Seeley, R. R, Stephens, T.D., dan Tate, P. 2002. *Essentials of Anatomy and Physiology*. Fourth edition. New York, USA: McGraw-Hill Companies, Inc.
- Selawa, W., Runtuwene, M. R. J., dan Citraningtyas, G. 2013. Kandungan Flavonoid Dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binahong [*Anredera cordifolia*(Ten.)Steenis.]. *Pharmakon* 2(1): 18-22
- Singh, S. N., Vats, P., Suri, S., Shyam, R., Kumria, M. M. L., Ranganathan, S., Sridharan, K. 2001. Effect Of An Antidiabetic Extract of *Catharanthus roseus* on Enzymic Activities In Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Journal of Ethnopharmacology* 76: 269– 277

- Starr, F., Starr, K., dan Loope L. 2003. *Anredera cordifolia*. [http://hear.org/starr/hiplants/reports/pdf/anredera\\_cordifolia](http://hear.org/starr/hiplants/reports/pdf/anredera_cordifolia). [19 April 2014]
- Stevens, P. *Manual Urinalysis by Bayer 10-SG MultiStix Urine Dipstick*. Jerman.
- Stocks, J., Gutteridge J. M., Sharp R. J., dan Dormandy T. L. 1974. The Inhibition of Lipid Autoxidation by Human Serum and Its Relation To Serum Proteins and Tocopherol. *Clin Sci Mol Med* 47: 223–233
- Stone, A. & Sieggreen, M. 2012. Diabetic Ulcers Vs Pressure Ulcers So, What Do You Call It? <http://www.npuap.org/wp-content/uploads/2012/01/Stone-NPUAP-Biennial-presentation-VUvPU-022213-from-ARTFinal.pdf>. [3 Juni 2014]
- Sukandar E. Y., Fidrianny, I., dan Adiwibowo, L.F. 2011. Efficacy Ethanol Extract of *Anredera cordifolia* (Ten) Steenis Leaves on Improving Kidney Failure in Rats. *International Journal of Pharmacology* 7(8): 850-855
- Sumartiningsih, S. 2011. The Effect of Binahong to Hematoma. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 5: 6-28
- Suwiti, N. K. 2010. Deteksi Histologik Kesembuhan Luka Pada Kulit Pasca Pemberian Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn). *Buletin Veteriner Udayana* 2(1): 1-9
- Sweetman, S. C. 2009. *Martindale the Complete Drug Reference*. 36<sup>th</sup> edition. London: Pharmaceutical Press
- Ulfa, Evi U. 2015. Uji Aktivitas Penyembuhan Luka Ekstrak Binahong (*Anredera cordifolia* (ten). Steenis) pada Tikus Wistar yang Diinduksi Aloksan. Belum Dipublikasikan. Jember: Universitas Jember
- Wagner, W.L., Herbst, D.R., dan Sohmer, S.H. 1999. *Manual of the Flowering Plants of Hawai'i*. 2 vols. Honolulu, USA: University of Hawaii Press and Bishop Museum Press

**LAMPIRAN**

A. Perhitungan Persentase Rendemen

$$\begin{aligned}\%rendemen &= \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot serbuk}} \times 100\% \\ &= \frac{193,58 \text{ gram}}{750 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 25,81\%\end{aligned}$$

B. Perhitungan Susut Pengerinan

$$\text{Susut pengerinan} = \frac{\text{berat ekstrak sesudah pengeringan}}{\text{berat ekstrak sebelum pengeringan}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned}R1 &= \frac{0,5021 \text{ gram}}{1,0214 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 49,16\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}R2 &= \frac{0,5053 \text{ gram}}{1,0220 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 49,44\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}R3 &= \frac{0,5031 \text{ gram}}{1,0210 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 49,28\%\end{aligned}$$

Susut pengerinan ekstrak sebesar 49, 29%±0,28%

C. Perhitungan Penentuan Kadar Flavonoid Total

Konsentrasi larutan standar

- Larutan induk

$$\frac{25,0 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 250 \text{ ppm}$$

$$\frac{50,0 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} = 500 \text{ ppm}$$



- Pengenceran

$$\frac{1}{25} \times 251 \text{ ppm} = 10 \text{ ppm}$$

$$\frac{1}{10} \times 500 \text{ ppm} = 50 \text{ ppm}$$

$$\frac{1}{10} \times 251 \text{ ppm} = 25 \text{ ppm}$$

$$\frac{2}{10} \times 500 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm}$$

$$\frac{3}{10} \times 251 \text{ ppm} = 75 \text{ ppm}$$

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
10	0,061
25	0,168
50	0,365
75	0,539
100	0,776
R1	0,320
R2	0,317
R3	0,322

$$r = 0,999$$

$$a = -0,02617$$

$$b = 0,007846$$

$$y = bx + a$$

$$y = 0,007846x - 0,02617$$

R1

$$0,320 = 0,007846x - 0,02617$$

$$x = 44,121 \text{ ppm}$$

Kadar flavonoid total (dalam 0,5 ml)

$$44,121 \text{ ppm} = 1000 \times \frac{x}{0,5}$$

$$x = 0,0221 \text{ mg kuersetin}$$

Kadar flavonoid total (dalam 25 ml)

$$\frac{25}{0,5} \times 0,0221 \text{ mg} = 1,105 \text{ mg kuersetin}$$

Kadar flavonoid total dalam rutin = 1,105 mg x 2 = 2,21 mg rutin

$$\begin{aligned} \% \frac{b}{b} &= \frac{2,21 \text{ mg}}{201,1 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= 1,10\% \end{aligned}$$

R2

$$0,317 = 0,007846x - 0,02617$$

$$x = 43,738 \text{ ppm}$$

Kadar flavonoid total (dalam 0,5 ml)

$$43,738 \text{ ppm} = 1000 \times \frac{x}{0,5}$$

$$x = 0,0219 \text{ mg kuersetin}$$

Kadar flavonoid total (dalam 25 ml)

$$\frac{25}{0,5} \times 0,0219 \text{ mg} = 1,095 \text{ mg kuersetin}$$

Kadar flavonoid total dalam rutin = 1,095 mg x 2 = 2,19 mg rutin

$$\begin{aligned} \% \frac{b}{b} &= \frac{2,19 \text{ mg}}{200,6 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= 1,10\% \end{aligned}$$

R3

$$0,322 = 0,007846x - 0,02617$$

$$x = 44,376 \text{ ppm}$$

Kadar flavonoid total (dalam 0,5 ml)

$$44,376 \text{ ppm} = 1000 \times \frac{x}{0,5}$$

$$x = 0,0222 \text{ mg kuersetin}$$

Kadar flavonoid total (dalam 25 ml)

$$\frac{25}{0,5} \times 0,0222 \text{ mg} = 1,11 \text{ mg kuersetin}$$

Kadar flavonoid total dalam rutin = 1,11 mg x 2 = 2,22 mg rutin

$$\begin{aligned} \% \frac{b}{b} &= \frac{2,22 \text{ mg}}{201,0 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= 1,11\% \end{aligned}$$

Kadar flavonoid total ekstrak binahong sebesar 1,10% ± 0,53%

#### D. Kadar Glukosa Darah Hewan Uji

Kelompok	Replikasi	Kadar glukosa darah tikus hari ke-0 (mg/dl)	Kadar glukosa darah tikus hari ke-10 (mg/dl)	Kadar glukosa darah tikus hari ke-21 (mg/dl)
Kontrol (+)	1	380	398	525
	2	553	485	459
	3	505	409	122
	4	309	>600	132
	5	418	378	>600
Dosis 100 mg	1	304	399	413
	2	310	123	139
	3	>600	>600	560
	4	528	>600	593
	5	418	459	505
Dosis 200 mg	1	>600	503	>600
	2	437	419	352
	3	263	259	219
	4	448	432	589
	5	346	459	416

Kelompok	Replikasi	Kadar glukosa darah awal (mg/dl)	Kadar glukosa darah tengah (mg/dl)	Kadar glukosa darah akhir (mg/dl)
Dosis 400 mg	1	242	246	201
	2	>600	>600	141
	3	>600	>600	>600
	4	219	128	144
	5	518	376	328
Kontrol (-)	1	>600	174	>600
	2	272	90	209
	3	519	523	567
	4	419	422	397
	5	258	233	228

## E. Dokumentasi Penelitian

### E.1 Rotavapor ekstrak binahong



### E.2 Ekstrak etanol binahong





E.3 Larutan standar dan larutan uji penentuan kadar total flavonoid



E.4 Pengukuran kadar total flavonoid




E.5 Luka eksisi hari ke-0



E.6 Luka eksisi hari ke-21



F. Determinasi Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia*)

 **DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR**  
**UPT MATERIA MEDICA**  
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313)  
**KOTA BATU**

---

Nomor : 074 / 0231 / 101.8 / 2013  
Sifat : Biasa  
Perihal : **Determinasi Tanaman BINAHONG**


Memenuhi permohonan saudara :

Nama : SISKI DEWI KURNIAWATI  
N I M : 102210101091  
Fakultas : Farmasi Universitas Jember

- Perihal determinasi tanaman Binahong
  - Kingdom : Plan
  - Sub Kingdom : Tracheobionta (berpembuluh)
  - Super Divisi : Spermatophyta
  - Divisi : Magnoliophyta
  - Sub divisi : Angiospermae
  - Kelas : Dicotyledonae
  - Sub kelas : Hammamelidae
  - Bangsa : Caryophyllales
  - Suku : Basellaceae
  - Marga : Anredera
  - Jenis : *Anredera cordifolia* (Tennore ) Steen
  - Sinonim : *Boussingaultia gracilis* Miers , *Boussingaultia cordifolia* , *Boussingaultia basselloides*
- Kunci determinasi : 1b- 2b - 3b - 4b - 6 b - 7b - 9a - 41b - 42b-43b-54b -59b- 61 b- 62b- 63 a- 64b
- 2. Morfologi** : Habitus : tumbuhan menjalar, panjang lebih dari 6 m. Batang : lunak, silindris, membelit, warna merah, permukaan halus, kadang membentuk semacam umbi yang melekat di ketiak daun, bentuk tak beraturan tekstur kasar. Daun tunggal tangkai pendek, berseling, warna hijau, bentuk jantung , panjang 5-10 cm, lebar 3-7 cm, helaian daun tipis lemas, ujung runcing, pangkal bertekuk, tepi rata, permukaan licin. Bunga majemuk bentuk tandan, bertangkai panjang muncul di ketiak daun mahkota warna krem, keputihan, berjumlah lima tidak berlekatan, panjang helai mahkota 0.5.1 cm bau harum. Akar bentuk rimpang berdaging lunak.
- 3. Nama Simplisia** : Anrederae Folium / Daun Binahong.
- 4. Kandungan kimia:** Daun mengandung alkaloid, asam askorbat, asam oleanolik, saponin triterpenoid, flavonoid , polifenol , nitrit oksida dan minyak atsiri serta protein yang diberi nama ancordin, Umbinya mengandung alkaloid dan antrakuinon.
- 5. Penggunaan** : Penelitian
- 6. Daftar Pustaka** :
  - Anonim, *Taksonomi Koleksi Tanaman Obat Kebun Tanaman Obat Citeureup*, 2008, Badan Pengawas Obat dan Makanan RI Direktorat Obat Asli Indonesia, Jakarta.
  - Anonim, [http/ www.tanaman.obat.com / Binahong](http://www.tanaman.obat.com/Binahong). Diakses tanggal 9 Januari 2009
  - Steenis, CGGJ Van Dr , *FLORA*, 2008, Pradnya Paramita , Jakarta.
  - Syamsuhidayat, Sri sugati, Hutapea, Johny Ria.1991, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I* , Departemen Kesehatan Republik Indonesia : Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan

Demikian determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 25 September 2013  
Kepala UPT Materia Medica Batu

  
Drs. Niska R.M. S.P., N.Kes.  
NIP. 1981011001