



**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK n-HEKSANA DAUN BINAHONG  
(*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP PENYEMBUHAN  
MIKROSKOPIS LUKA TIKUS DIABETES YANG DIINDUKSI  
ALOKSAN**

**SKRIPSI**

Oleh

**Ida Marwa**

**NIM. 082210101034**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2015**

## **PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ayahanda dan Ibunda tercinta sebagai ungkapan rasa terima kasih untuk doa, kasih sayang, dukungan dan pengorbanan yang tidak ternilai selama ini.
2. Kakakku (Yuli) yang senantiasa memberi nasehat, semangat dan motivasi untuk tidak menyerah dan selalu berusaha.
3. Para Pendidikku semenjak SD sampai SMA, serta dosen-dosen Perguruan Tinggi terhormat, yang telah bersedia memberikan ilmu pengetahuan dan membimbingku dengan penuh kesabaran.
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

**MOTTO**

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan

(Al-Insyiroh: 6)

Semua orang tidak perlu menjadi malu karena pernah berbuat kesalahan, selama dia menjadi lebih bijaksana daripada sebelumnya.

(Alexander Pope)

Kegagalan hanya terjadi bila kita menyerah.

(Lessing)

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ida Marwa

NIM : 082210101034

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul : “Efek Pemberian Ekstrak n-Heksana Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Penyembuhan Mikroskopis Luka Tikus Diabetes yang Diinduksi Aloksan” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, September 2015

Yang menyatakan,

Ida Marwa

NIM 082210101034

**SKRIPSI**

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK n-HEKSANA DAUN BINAHONG  
(*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP  
PENYEMBUHANMIKROSKOPIS LUKA TIKUS DIABETES YANG  
DIINDUKSI ALOKSAN**

Oleh

Ida Marwa

NIM 082210101034

Pembimbing :

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

Dosen Pembimbing Anggota : Prof.drg.Mei Syafriadi M.D.Sc., Ph.D

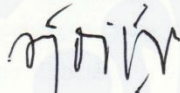
**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul *Efek Pemberian Ekstrak n-Heksana Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) Terhadap Penyembuhan Mikroskopis Luka Tikus Diabetes yang Diinduksi Aloksan* telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

Hari : Selasa  
Tanggal : 15 September 2015  
Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

**Tim Pembimbing**

Pembimbing Utama



Prof. drg. Mei Syafriadi M.D.Sc., Ph.D  
NIP 196805291994031003

Pembimbing Anggota



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

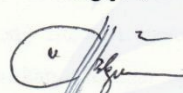
**Tim Penguji**

Penguji I



Diana Holidah, S.F., M.Farm., Apt  
NIP 197812212005012002

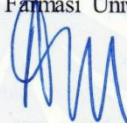
Penguji II



Siti Muslichah, S.Si., M.Si., Apt  
NIP 197305132005012001

**Mengesahkan**

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,



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

NIP 197604142002122001

## RINGKASAN

***Efek Pemberian Ekstrak n-Heksana Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) Terhadap Penyembuhan Mikroskopis Luka Tikus Diabetes yang Diinduksi Aloksan***; Ida Marwa, 082210101034; 2015; 76halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Diabetes Melitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya. Gejala DM adalah poliuria, polidipsia, dan penurunan berat badan tanpa sebab yang jelas, atau kadar gula darah puasa adalah sebesar  $\geq 126$  mg/dl dan kadar gula darah sewaktu  $\geq 200$  mg/dl. DM dengan karakteristik hiperglikemia yang tidak segera ditangani dapat menimbulkan resiko terjadinya gangguan vaskular yaitu berupa makroangiopati dan mikroangiopati. Makroangiopati yang terjadi pada kaki dapat menyebabkan timbulnya ulkus dan gangren diabetik.

Ulkus diabetik merupakan luka infeksi, ulserasi, dan destruksi jaringan ikat dalam yang berhubungan dengan neuropati dan penyakit vaskuler perifer. Ulkus diabetik terjadi karena respons kekebalan tubuh pada penderita DM yang menurun. Pengetahuan pasien yang rendah mengenai pencegahan dan perawatan ulkus diabetik membuat ulkus bertambah parah dan menjadi gangren yang terinfeksi. Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) merupakan salah satu tanaman obat yang secara empiris digunakan sebagai penyembuh luka. Penggunaannya masih sangat sederhana yaitu daun ditumbuk halus dan dioleskan pada bagian luka. Pengamatan secara makroskopik, daun binahong mampu menyembuhkan ulkus diabetik pada tikus yang diinduksi aloksan. Oleh karena itu, untuk lebih memberikan dasar bagi bukti manfaatnya, perlu dilakukan penelitian terhadap penyembuhan ulkus diabetik pada tikus yang diamati secara histopatologi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak n-heksana daun binahong dalam penyembuhan luka tikus jantan yang diinduksi aloksan dosis 150 mg/ kg bb secara intraperitoneal yang didasarkan pada histopatologi luka tikus. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental

laboratoris, menggunakan 25 ekor tikus yang dikelompokkan menjadi 5 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri atas 5 ekor tikus. Kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif diberi salep mupirocin dosis 100 mg dan kelompok dosis ekstrak sebesar 100 mg, 200 mg dan 400 mg. Semua hewan uji diberi perlakuan selama 21 hari dan pada hari ke-21, tikus dikorbankan, kemudian dibedah dan diambil organ kulit untuk dibuat preparat histopatologi. Pengamatan yang dilakukan adalah pengamatan histopatologi luka diabetik dengan menggunakan prosentase skoring penyembuhan luka yang meliputi perubahan sel epitel, sel jaringan ikat, sel radang mononuklear dan kolagen.

Data hasil skoring dianalisis dengan menggunakan *Kruskall-Wallis* dan dilanjutkan uji *Mann-whitney* dengan tingkat kepercayaan 95%. Hasil analisis *Mann-whitney* menunjukkan perbedaan tingkat penyembuhan pada masing-masing kelompok secara statistik pada setiap parameter penyembuhan epitel yaitu terlihat adanya perbedaan bermakna antara kelompok dosis 200 mg dan kontrol positif dan antara kelompok kontrol positif dan kontrol negatif sedangkan pada parameter jaringan ikat juga terlihat adanya perbedaan yang bermakna antara seluruh kelompok perlakuan (dosis 100 mg, dosis 200 mg dan dosis 400 mg) dengan kontrol negatif tetapi tidak bermakna dengan kelompok kontrol positif. Sedangkan proses penyembuhan parameter infiltrasi limfosit terlihat perbedaan yang bermakna (kontrol negatif, dosis 100 mg, dan dosis 200 mg dengan kontrol positif dan tidak ada perbedaan yang bermakna pada kelompok perlakuan dosis 400 mg. Berdasarkan uji Mann-Whitney pada kelompok dosis menunjukkan dosis 100 mg dan 400 mg lebih baik dibandingkan dosis 200 mg. Kelompok dosis 400 mg ekstrak daun binahong memberikan penyembuhan luka yang sama dengan kelompok kontrol positif dan memberikan penyembuhan yang lebih baik dibandingkan dengan kelompok dosis 100 mg dan 200 mg.



## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “Efek Ekstrak n-Heksana Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Penyembuhan Mikroskopis Luka Tikus Diabetes yang Diinduksi Aloksan”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember, Lestyo Wulandari, S.Si., Apt, M.Farmatas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan tugas akhir ini;
2. Prof.drg.Mei Syafriadi M.D.Sc., Ph.D selaku dosen pembimbing utama dan Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si., Apt selaku dosen pembimbing anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam membimbing dan memberikan petunjuk sehingga terselesaikannya penulisan tugas akhir ini;
3. Diana Holidah, S.F., M.Farm., Apt dan Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt sebagai dosen penguji yang banyak memberikan masukan, perhatian dan saran yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. Lidya Ameliana, S.Si., Apt., M.Farm dan Dwi Nurahmanto, S.Farm., M.Sc., Apt.selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah dengan sabar mengarahkan dan memberi masukan selama aktivitas perkuliahan penulis; Bapak dan Ibu Dosen yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan selama menempuh perkuliahan di Fakultas Farmasi Universitas Jember;
5. Mbak Indri dan Mbak Dinik selaku Teknisi Laboratorium Farmasi Klinik, Bu Widi dan Mbak Anggra selaku Teknisi Laboratorium Biologi, serta Mas Agus terima kasih atas saran dan bantuannya selama penulis mengerjakan penelitian;

6. Bapak dan ibu yang telah memberikan pengorbanan yang tak terhingga, perhatian kasih sayang, pikiran doa dan semangat yang besar pada penulis;
7. Kakak Pertama Mbak Yuli dan Kembaranku Ina yang selalu mendoakan, membimbing, memberikan motivasi untuk tidak mengenal kata menyerah dan mohon maaf selalu merepotkan serta keluarga besarku di Mojokerto yang selalu mendoakan atas kebahagiaan dan kesuksesanku;
8. Partner kerjaku Tata, teman-teman Lab Biologi dan Biomedik Arina, Rike, Shinta, dan Rosa serta rekan-rekan farmasi seperjuangan Kiki, Andiny, Yeyen, Zadid, Nala, Faiqoh, Putu, Riadhi dan Erga yang senantiasa memberikan kehangatan keluarga selama di Jember;
9. Sahabat-sahabatku Pharmacute Angkatan 2008 dan 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 Tuhan. Dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan pengembangan ilmu farmasi, Amin.

Jember, September 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	ii
HALAMAN MOTTO .....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN .....	vii
PRAKATA .....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL .....	xv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah.....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian.....</b>	<b>4</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian.....</b>	<b>4</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis) .....</b>	<b>5</b>
2.1.1 Tempat Asal .....	5
2.1.2 Morfologi tanaman.....	5
2.1.3 Klasifikasi .....	6
2.1.4 Manfaat dan Kandungan kimia .....	7
<b>2.2 Tinjauan Umum Tentang Metode Ekstraksi.....</b>	<b>7</b>
<b>2.3 Tinjauan Umum Tentang Diabetes Melitus .....</b>	<b>9</b>
2.3.1 Definisi Diabetes Melitus.....	9
2.3.2 Komplikasi Diabetes Melitus.....	10
<b>2.4 Tinjauan Mengenai Aloksan sebagai Induktor.....</b>	<b>11</b>

<b>2.5</b>	<b>Tinjauan Mengenai Ulkus Diabetik .....</b>	<b>12</b>
2.5.1	Definisi Ulkus Diabetik.....	12
2.5.2	Klasifikasi Ulkus Diabetik .....	12
2.5.3	Epidemiologi Ulkus Diabetik .....	12
2.5.4	Patogenesis Ulkus Diabetik.....	13
2.5.4	Diagnosis Ulkus Diabetik.....	15
<b>2.6</b>	<b>Tinjauan Mengenai Kulit .....</b>	<b>15</b>
2.6.1	Definisi Kulit.....	15
2.6.2	Fisiologi Kulit.....	18
<b>2.7</b>	<b>Tinjauan Mengenai Luka .....</b>	<b>19</b>
2.7.1	Klasifikasi Luka.....	19
2.7.2	Penyembuhan Luka .....	20
2.7.3	Faktor yang Mempengaruhi Penyembuhan Luka.....	23
2.7.4	Penyembuhan Luka Berdasarkan Histopatologi .....	23
<b>2.8</b>	<b>Tinjauan Mengenai Mupirocin.....</b>	<b>25</b>
<b>2.9</b>	<b>Tinjauan Mengenai Metode Pewarnaan .....</b>	<b>26</b>
<b>BAB 3.</b>	<b>METODE PENELITIAN.....</b>	<b>27</b>
<b>3.1</b>	<b>Jenis Penelitian .....</b>	<b>27</b>
<b>3.2</b>	<b>Rancangan Penelitian .....</b>	<b>27</b>
<b>3.3</b>	<b>Jumlah Sampel .....</b>	<b>28</b>
<b>3.4</b>	<b>Variable Penelitian.....</b>	<b>29</b>
<b>3.5</b>	<b>Definisi Operasional.....</b>	<b>29</b>
<b>3.6</b>	<b>Tempat dan Waktu Penelitian .....</b>	<b>30</b>
<b>3.7</b>	<b>Alat dan Bahan.....</b>	<b>30</b>
3.4.1	Alat.....	30
3.4.2	Bahan .....	31
<b>3.8</b>	<b>Prosedur Penelitian.....</b>	<b>31</b>
3.8.1	Pebuatan Simplisia dan Serbuk Daun Binahong.....	31
3.8.2	Pembuatan Sediaan Alokasan.....	31
3.8.3	Adaptasi Hewan Coba.....	31
3.8.4	Perlakuan Hewan Coba.....	32

3.8.5	Persiapan Hewan Uji.....	32
3.8.6	Pembuatan Sediaan Haematoksin-Eosin.....	32
<b>3.9</b>	<b>Analisis Data .....</b>	<b>34</b>
<b>3.10</b>	<b>Skema Kerja .....</b>	<b>35</b>
3.10.1	Alur Penelitian .....	35
<b>BAB 4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>36</b>
4.1	Hasil dan Analisis Data.....	36
4.2	Pembahasan .....	44
<b>BAB 5.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>48</b>
5.1	Kesimpulan .....	48
5.2	Saran.....	49
	<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>50</b>
	<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>57</b>

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Binahong .....	6
2.2 Anatomi Kulit .....	18
3.1 Rancangan Penelitian.....	27
3.10 Skema Pelaksanaan Penelitian.....	35
4.1 Histopatologi Luka pembesaran 40x .....	40
4.2 Histopatologi Luka pembesaran 400x .....	41

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
3.1 Rancangan Penelitian .....	27
3.2 Skoring Derajat Penyembuhan.....	34
3.10 Skema Alur Penelitian.....	35
4.1 Prosentase derajat penyembuhan luka pada parameter epitel.....	37
4.2 Prosentase derajat penyembuhan luka pada parameter kolagen.....	37
4.3 Prosentase derajat penyembuhan luka pada parameter jaringan ikat .....	37
4.4 Prosentase derajat penyembuhan luka pada parameter limfosit.....	37
4.5 Nilai <i>p</i> Uji Mann-Whitney.....	43

DAFTAR LAMPIRAN

<b>A. Tabel Perbandingan Luas Permukaan Hewan Percobaan Dan Manusia.....</b>	<b>57</b>
<b>B. Perhitungan .....</b>	<b>58</b>
B.1 Perhitungan Rendemen Ekstrak.....	58
B.2 Perhitungan Alokasi Dosis 150 mg/kg bb .....	58
<b>C. Data Hasil Penelitian .....</b>	<b>59</b>
C.1 Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah.....	59
C.2 Laporan Hasil Pemeriksaan Patologi Anatomi.....	60
C.3 Data Pemeriksaan Skoring Histopatologi Luka Tikus .....	62
<b>D. Hasil Analisis Data .....</b>	<b>63</b>
D.1 Analisis Data Dengan <i>Kruskall Wallis Test</i> .....	63
D.2 Analisis Data Dengan <i>Mann Whitney Test</i> .....	63
<b>E. Gambar Penelitian .....</b>	<b>74</b>
<b>F. Gambar Penyembuhan Luka Secara Makroskopis.....</b>	<b>76</b>



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) merupakan suatu penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia kronis yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, defek kinerja insulin, atau kedua-duanya. Berdasarkan perkiraan *World Health Organization* (WHO, 2005), jumlah diabetisi / penderita diabetes melitus pada tahun 2005 di Indonesia mencapai 12 juta orang. Rata – rata 1,5 – 2 % dari seluruh penduduk di Indonesia menderita diabetes yang bersifat menurun (Tjay dan Rahardja, 2007). Bila di tahun 2000 jumlah penyandanginya baru sekitar 8,4 juta, diprediksi akan mengalami peningkatan menjadi 21,3 juta di tahun 2030 (Riset Kesehatan Dasar, 2013).

Diabetes atau hiperglikemia yang kronis dapat menyebabkan berbagai kerusakan organ seperti : neuropati (mengenai saraf tepi), nefropati diabetik (berkaitan dengan ginjal), retinopati diabetik, dan kaki diabetik (Smeltzer *et al*, 2002). Komplikasi berupa kaki diabetik merupakan perubahan patologis pada anggota gerak yang ditimbulkan karena adanya luka pada orang yang menderita diabetes. Luka yang tidak dirawat dengan baik akan berkembang menjadi ulkus gangren (Suyono, 2005). Beberapa penelitian di Indonesia melaporkan bahwa angka kematian ulkus gangren pada penyandang diabetes mellitus berkisar antara 17-32%, sedangkan laju amputasi berkisar antara 15-30%. Penderita gangren diabetik di Indonesia memerlukan biaya yang cukup tinggi yaitu sebesar Rp. 1,3 juta sampai Rp. 1,6 juta perbulan dan Rp. 43,5 juta per tahun untuk seorang penderita. Para ahli diabetes memperkirakan  $\frac{1}{2}$  sampai  $\frac{3}{4}$  kejadian amputasi dapat dihindarkan dengan perawatan kaki yang baik (ADA, 2003).

Ulkus diabetik merupakan luka infeksi, ulserasi, dan atau destruksi jaringan ikat dalam yang berhubungan dengan neuropati dan penyakit vaskuler perifer (Boulton *et al*, 2004). Ulkus diabetik terjadi karena respons kekebalan tubuh pada penderita DM yang menurun. Pengetahuan pasien yang rendah mengenai pencegahan dan perawatan ulkus diabetik membuat ulkus

bertambah parah dan menjadi gangren yang terinfeksi (Waspadji, 2006). Gangren diabetik adalah luka diabetik yang sudah membusuk dan dapat mengalami pelebaran luka yang ditandai dengan kematian jaringan berwarna kehitaman dan membau karena disertai pembusukan oleh bakteri aerob maupun bakteri anaerob. Gangren diabetik didasarkan atas gangguan aliran darah perifer (*angiopati diabetik perifer*), gangguan saraf perifer (*neuropati diabetik perifer*), dan infeksi yang berasal dari berbagai kuman yang sering menjadi penyebab infeksi gangren diabetik adalah gabungan bakteri aerob (gram positif dan gram negatif) dan bakteri anaerob (Kevin, 1999). Bakteri yang terdapat pada penderita ulkus diabetik yaitu *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Providencia rettgeri*, *Streptococcus α haemolyticus*, *Streptococcus β haemolyticus*, dan *Streptococcus* (Decroli *et al*, 2008).

Manifestasi gangren terjadi karena adanya pembekuan darah (trombosis) pada pembuluh darah arteri yang memberikan suplai darah ke daerah luka. Trombosis yang terjadi akan menghambat aliran darah yang mengangkut zat makanan, oksigen dan nutrisi yang diperlukan dalam proses regenerasi ke daerah luka tersebut sehingga menimbulkan kematian jaringan (nekrosis) dan mempermudah berkembangnya infeksi kuman saprofit pada jaringan yang rusak tersebut (Erman, 1998).

Ulkus diabetes yang disebabkan oleh diabetes melitus dapat dilakukan pengobatan dengan cara pemberian obat anti diabetes untuk mengontrol kadar gula darah dan antibiotik untuk mencegah infeksi bakteri yang lebih parah (Aulia, 2008). Antibiotik yang penggunaannya tidak tepat dapat menyebabkan bakteri menjadi resisten (Punopas *et al*, 2003), sehingga perlu dilakukan pengembangan antibakteri yang berasal dari tanaman. Masyarakat Indonesia telah lama mengenal dan menggunakan tanaman berkhasiat obat sebagai salah satu upaya menanggulangi masalah kesehatan. Pengetahuan tentang tanaman berkhasiat obat tersebut berdasarkan pada pengalaman dan keterampilan yang

secara turun temurun telah diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya (Kumalasari, 2005).

Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) merupakan salah satu tanaman obat yang secara empiris digunakan sebagai penyembuh luka. Penggunaannya masih sangat sederhana yaitu daun ditumbuk halus dan dioleskan pada bagian luka. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Aini (2012), ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan etanol 70% daun binahong dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan etanol 70% daun binahong adalah terpenoid, saponin, flavonoid dan alkaloid. Kandungan-kandungan bahan aktif tersebut diketahui dari skrining fitokimia dengan uji tabung dan uji KLT. Setiaji *et al.* (2009) juga mengemukakan bahwa ekstrak petroleum eter, etil asetat dan etanol 70% rhizoma binahong dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Novitasari (2013), penyembuhan ulkus diabetik pada tikus jantan yang diamati secara makroskopik dengan pemberian ekstrak *n*-heksana dari daun binahong pada dosis 100 mg mencapai 54,08%, dosis 200 mg mencapai 56,08% dan pada dosis 400 mg mencapai 88,59% .

Berdasarkan latar belakang diatas, maka perlu dilakukan penelitian mengenai aktivitas ekstrak *n*-heksana daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) terhadap penyembuhan luka pada tikus yang mengalami diabetes dengan pengamatan secara histologis. Penelitian histopatologi penyembuhan luka pada tikus diabetes dilakukan untuk mengetahui gambaran penyembuhan luka pada tikus apabila diamati secara mikroskopik.

## 1.2. Rumusan Masalah

Dari latar belakang di atas, maka dapat dibuat rumusan masalah yaitu: Bagaimanakah pengaruh ekstrak *n*-heksana daun binahong terhadap proses penyembuhan luka tikus yang diinduksi diabetes?

### **1.3. Tujuan**

Tujuan dari penelitian ini adalah :

Untuk mengetahui perubahan sel epitel, sel jaringan ikat, infiltrasi sel radang mononuklear dan kolagen setelah diberi ekstrak n-heksana daun binahong dalam penyembuhan luka terhadap histopatologi tikus yang di Induksi diabetes.

### **1.4. Manfaat**

Manfaat penelitian ini diharapkan sebagai berikut:

1. Memberi sumbangan informasi perkembangan pengetahuan tanaman tradisional yang berpotensi sebagai obat, salah satunya adalah binahong.
2. Sebagai rujukan untuk pemanfaatan ekstrak daun binahong dalam upaya peningkatan kesehatan masyarakat.
3. Memberi informasi mengenai histopatologi penyembuhan luka tikus dibandingkan dengan salep mupirocin 20 mg/g krim sehingga dapat memperkaya pengetahuan di bidang farmasi dan berbagai disiplin ilmu lainnya.
4. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai acuan tambahan informasi dan sebagai pertimbangan untuk penelitian lebih lanjut.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan Umum Tentang Binahong

#### 2.1.1 Tempat Asal Binahong

Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) adalah tanaman obat yang berpotensi dalam menangani berbagai penyakit. Tanaman ini berasal dari dataran Cina dengan nama asalnya adalah *Dheng Shan Chi*. Sinonim dari tanaman ini adalah *Oussingaultia gracilis*, *Miers boussingaultia cordifolia*, dan *Boussingaultia basselloides*. Negara Inggris menyebut binahong dengan istilah *heartleaf madeiravine* atau *madeira vine*. Tanaman ini menyebar ke Asia Tenggara. Di Indonesia tanaman ini dikenal sebagai gendola (*Basella rubra* Linn) yang sering digunakan sebagai gapura yang melingkar di atas jalan taman. Tanaman merambat ini perlu dikembangkan dan diteliti lebih jauh. Terutama untuk mengungkapkan khasiat dari bahan aktif yang dikandungnya. Berbagai pengalaman yang ditemui di masyarakat, binahong dapat dimanfaatkan untuk membantu proses penyembuhan penyakit-penyakit berat (Manoi, 2009). Binahong juga dapat menurunkan jumlah sel radang dan meningkatkan jumlah sel fibroblast (Sumartiningsih, 2011).

#### 2.1.2 Morfologi Tanaman Binahong

Tanaman binahong merupakan tumbuhan menjalar, berumur panjang perennial, panjang dari tanaman ini mencapai  $\pm 5$  m. Akar dari tanaman ini berbentuk rimpang, berdaging lunak. Batang lunak, silindris, saling membelit, berwarna merah, bagian dalam solid, permukaan halus, kadang membentuk semacam umbi yang melekat di ketiak daun dengan bentuk tak beraturan dan bertekstur kasar. Tanaman binahong berupa daun tunggal, bertangkai sangat pendek (sessile), 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, dan permukaan licin.

Bunga dari tanaman binahong berupa bunga majemuk berbentuk tandan, bertangkai panjang, muncul di ketiak daun, mahkota berwarna krem keputih-putihan berjumlah lima helai tidak berlekatan, panjang helai mahkota 0,5-1 cm,

berbau harum. Binahong merupakan perbanyak generatif (biji), namun lebih sering berkembang atau dikembangbiakan secara vegetatif melalui akar rimpangnya (Mus, 2009).

### 2.1.3 Klasifikasi Binahong

Berdasarkan penggolongan dan tata nama tumbuhan, tanaman binahong termasuk dalam klasifikasi sebagai berikut (Wunderlin dan Hansen, 2008) :

Kingdom	: Plantae (tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (tumbuhan berpembuluh)
Superdivisi	: Spermatophyta (menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: Hamamelidae
Ordo	: Caryophyllales
Famili	: Basellaceae
Genus	: <i>Anredera</i>
Spesies	: <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis



Gambar 2.1 Tanaman binahong (dokumen pribadi)

#### 2.1.4 Manfaat dan Kandungan Binahong

Manfaat tanaman ini sangat besar dalam dunia pengobatan, secara empiris binahong dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Beberapa penyakit yang dapat disembuhkan dengan menggunakan tanaman ini adalah: kerusakan ginjal, diabetes, pembengkakan jantung, stroke, wasir, menyembuhkan luka, radang usus, melancarkan dan menormalkan peredaran dan tekanan darah, meningkatkan vitalitas dan daya tahan tubuh (Manoi, 2009).

Ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan etanol 70% daun binahong dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Aini, 2012). Ekstrak petroleum eter, etil asetat dan etanol 70% rhizoma binahong dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Setiaji *et al.*, 2009) dan ekstrak etanol daun binahong dapat menyembuhkan luka sayat (Miladiyah dan Prabowo, 2012). Ekstrak etanol daun binahong memiliki khasiat sebagai antioksidan (Selawa *et al.*, 2014). Ekstrak air daun binahong dengan dosis 50-60 mg/ml memiliki daya hambat terhadap bakteri Gram-negatif (*Enterobacter cloacae*, *E.coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Serratia marcescens*, dan *Enterobacter aerogenes*), tetapi tidak pada bakteri *B.sereus* (Tsikalange *et al.*, 2005).

Ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan etanol 70% daun binahong mengandung terpenoid, saponin, dan alkaloid (Aini, 2012). Ekstrak petroleum eter, etil asetat dan etanol 70% rhizoma binahong mengandung alkaloid, flavonoid dan saponin (Setiaji *et al.*, 2009). Skrining fitokimia terhadap daun binahong telah dilaporkan oleh Astuti (2012), bahwa pada daun binahong memiliki senyawa fitokimia, terpenoid, steroid, fenol, flavonoid dan alkaloid. Ekstrak *n*-heksana dan metanol daun binahong mengandung saponin, triterpenoid, flavonoid dan minyak atsiri (Rachmawati, 2008).

## 2.2 Tinjauan Umum Tentang Metode Ekstraksi Simplisia

Ekstraksi atau penyarian adalah pemindahan massa zat aktif yang semula berada dalam sel, ditarik oleh cairan penyari tertentu sehingga terjadi zat aktif dalam cairan penyari. Penggunaan metode penyarian tergantung pada wujud dan

kandungan zat dari bahan yang akan disari. Sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi, dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimal dari zat aktif dan seminimum mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Harborne, 1996).

Macam – macam metode ekstraksi:

a) Maserasi

Maserasi merupakan metode yang sederhana. Maserasi merupakan metode yang dilakukan melalui tahap perendaman bahan simplisia dalam suatu pelarut. Pelarut yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol atau pelarut lain. Waktu yang dibutuhkan selama proses maserasi berlangsung selama 4-10 hari (Ansel, 1989).

b. Perkolasi

Perkolasi berasal dari bahasa Latin “ per ” yang artinya melalui dan “colare” yang artinya merembes. Perkolasi merupakan proses penyarian serbuk simplisia dengan pelarut yang cocok dengan melewati suatu kolom, serbuk simplisia dimasukkan dalam perkolator (Ansel, 1989). Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan atau penampungan ekstrak), terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) (Ditjen POM, 2000).

c. Soxhletasi

Soxhletasi merupakan metode ekstraksi dengan prinsip pemanasan dan perendaman sampel. Hal itu menyebabkan terjadinya pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan diluar sel. Dengan demikian, metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan terlarut ke dalam pelarut organik. Larutan itu kemudian menguap ke atas dan melewati pendingin udara yang akan mengembunkan uap tersebut menjadi tetesan yang akan terkumpul kembali. Bila larutan melewati batas lubang pipa samping soxhlet maka akan terjadi sirkulasi yang berulang. Sirkulasi yang baik akan menghasilkan ekstrak yang baik (Harborne, 1996).



## 2.3 Tinjauan Umum Tentang Diabetes Melitus

### 2.3.1 Definisi Diabetes Melitus

Diabetes Melitus merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya (ADA, 2003). Pada penderita diabetes disamping terjadi peningkatan kadar glukosa darah, pada penderita diabetes juga terjadi peningkatan oksidasi lemak.

Faktor-faktor penyebab diabetes meliputi (American Diabetes Association, 2003) adalah (1) Keturunan, orang yang memiliki sejarah keluarga yang pernah mengalami diabetes memiliki resiko terkena diabetes yang lebih tinggi dibandingkan dengan keluarga yang tidak menderita DM. Kecenderungan genetik ini ditemukan pada individu yang memiliki tipe antigen HLA (*Human Leucocyte Antigen*) tertentu. Pada DM Tipe I yang berkulit putih memperlihatkan HLA yang spesifik (DR3 atau DR4). Risiko terjadinya DM tipe I meningkat 3-5 kali pada individu yang memiliki salah satu dari kedua tipe HLA tersebut. (2) Usia, semakin bertambahnya umur maka prevalensi DM juga akan semakin meningkat. (3) Jenis kelamin, prevalensi wanita terkena diabetes lebih tinggi dibandingkan prevalensi pada pria. (4) Obesitas, semakin besar kelebihan berat badan maka prevalensi terganggunya kerja insulin akan semakin besar, karena kelebihan lemak dapat menyebabkan gangguan pada kerja hormon insulin. (5) Kurangnya aktivitas fisik, pada saat tubuh melakukan aktifitas fisik maka sejumlah glukosa akan diubah menjadi energi sehingga kadar gula dalam darah akan berkurang dan kebutuhan insulin juga akan berkurang. Kurangnya aktivitas fisik menyebabkan gula yang dikonsumsi akan semakin lama terpakai, sehingga akan berakibat pada prevalensi peningkatan kadar gula dalam darah juga akan semakin tinggi. (6) Pola makan, pola makanan berlemak dan karbohidrat yang berlebihan akan meningkatkan resiko terkena diabetes. (7) Stress, merupakan salah satu faktor pemicu meningkatnya resiko diabetes.

Kriteria diagnosis DM yang telah direvisi menurut ADA (*American diabetes association*) adalah Nilai A1c  $\geq 6,5\%$ , diagnosis DM harus dikonfirmasi dengan pemeriksaan A1c ulangan, kecuali gejala klinis dan nilai kadar gula darah

$\geq 200$  mg/dl. Ditemukan gejala hiperglikemia dan kadar gula darah sewaktu  $\geq 200$  mg/dl. Gejala klasik hiperglikemia adalah poliuria, polidipsia, dan penurunan berat badan tanpa sebab yang jelas, atau kadar gula darah puasa adalah sebesar  $\geq 126$  mg/dl. Puasa berarti pasien tidak menerima asupan kalori 8 jam terakhir sebelum pemeriksaan, atau kadar gula darah 2 jam setelah makan  $\geq 200$  mg/dl setelah tes toleransi glukosa menggunakan glukosa 75 gram (Cavallerano dan Jerry, 2009).

### 2.3.2 Komplikasi Diabetes Melitus

Diabetes mellitus dengan karakteristik hiperglikemia (kadar gula darah tinggi) dapat mengakibatkan berbagai macam komplikasi berupa komplikasi akut (yang terjadi secara mendadak) dan komplikasi kronis (yang terjadi secara menahun).

#### a. Komplikasi akut

Komplikasi akut terjadi jika kadar glukosa darah seseorang meningkat atau menurun tajam dalam waktu relatif singkat. Komplikasi akut dapat berupa : (1) Hipoglikemik, dimana kadar gula darah  $< 60$  mg/ dl dan merupakan komplikasi yang biasa dari diabetes yang menggunakan insulin. (2) Diabetes ketoasid (KAD), merupakan keadaan dekompensasi kekacauan metabolik yang ditandai oleh hiperglikemia, asidosis, dan ketosis, terutama disebabkan oleh defisiensi insulin absolut atau relatif (Sudoyo *et al*, 2006). (3) Hipersomolar hiperglikemia non ketotik sindrom merupakan kondisi akut dari hiperglikemia (lebih cair 600 mg/dl) dengan tidak adanya keton yang ditemukan pada diabetes mellitus tipe II, penderita memerlukan terapi insulin dan cairan untuk menyempurnakan perawatan. (4) Koma lakto asidosis yaitu penurunan kesadaran hipoksia yang ditimbulkan oleh hiperlaktatemia.

#### b. Komplikasi kronis

Komplikasi kronis biasanya terjadi pada penderita DM yang tidak terkontrol dalam jangka waktu kurang lebih 5 tahun. Dapat dibagi berdasarkan pembuluh darah serta berdasarkan organ. Pembagian secara sederhana sebagai berikut : (1) Makroangiopati, mengenai pembuluh darah besar (pembuluh darah yang dapat dilihat secara mikroskopis) antara lain pembuluh darah jantung

(penyakit jantung koroner), pembuluh darah otak (stroke), dan pembuluh darah tepi (*Peripheral Artery Disease*). (2) Mikroangiopati, mengenai pembuluh darah mikroskopis antara lain retinopati diabetika (mengenai retina mata) dan nefropati diabetika (mengenai ginjal). (3) Neuropati, mengenai saraf tepi. Penderita bisa mengeluh rasa pada kaki/tangan berkurang atau tebal pada kaki atau kaki terasa terbakar/bergetar sendiri (Smeltzer *et al*, 2002).

#### **2.4 Tinjauan Mengenai Aloksan sebagai Induktor atau Diabetagon**

Pada uji farmakologi/ bioaktivitas pada hewan percobaan, keadaan diabetes melitus dapat diinduksi dengan cara pankreatektomi dan pemberian zat kimia (Suharmiati, 2003). Bahan toksik yang mampu menimbulkan efek pankreatektomi disebut diabetogen, diantaranya adalah aloksan, pyrinuron, dan streptozotosin (Ganong, 2000). Aloksan (2,4,5,6-tetraoxypyrimidin) secara selektif merusak sel  $\beta$  dari pulau langerhans dalam pankreas yang mensekresi hormon insulin (Suharmiati, 2003).

Aloksan merupakan bahan kimia yang digunakan untuk menginduksi diabetes pada binatang percobaan. Efek diabetogennya bersifat antagonis dengan glutathion yang bereaksi dengan gugus Sh-nya. Aloksan bereaksi dengan merusak substansi esensial di dalam sel beta pankreas sehingga menyebabkan berkurangnya granula–granula pembawa insulin di dalam sel beta pankreas. Aloksan meningkatkan pelepasan insulin dan protein dari sel beta pankreas tetapi tidak berpengaruh pada sekresi glucagon. Efek ini spesifik untuk sel beta pankreas sehingga aloksan dengan konsentrasi tinggi tidak berpengaruh terhadap jaringan lain. Aloksan mungkin mendesak efek diabetogenik oleh kerusakan membran sel beta dengan meningkatkan permeabilitas (Maritim *et al*, 2003). Aloksan dapat merangsang terbentuknya  $H_2O_2$  dan merusak lisosom sel dan dapat menyebabkan degenerasi dan reabsorpsi sel pankreas sehingga dapat terjadi defisiensi insulin. Sedangkan sel alpha dan jaringan sinus dari pankreas tidak terjadi perubahan. Kerusakan sel beta pankreas langerhans karena aloksan dimediasi oleh oksigen reaktif yang bersifat sitotoksik (ROS) yang menyebabkan kerusakan rantai DNA sel beta langerhans akibatnya granula pembawa insulin didalam sel beta pankreas

berkurang dan menyebabkan defisiensi insulin sehingga kadar glukosa darah meningkat (Gorus *et al*, 1982).

## 2.5 Tinjauan Mengenai Ulkus Diabetik

### 2.5.1 Definisi Ulkus Diabetik

Ulkus diabetik adalah merupakan suatu bentuk dari kematian jaringan pada penderita diabetes melitus oleh karena berkurangnya atau terhentinya aliran darah ke jaringan tersebut dan dapat berkembang menjadi infeksi disebabkan oleh bakteri aerob maupun anaerob. Kelainan ini didasarkan atas gangguan aliran darah perifer (angiopati diabetik perifer), gangguan syaraf perifer (neuropati diabetik perifer) dan infeksi (Aulia, 2008).

### 2.5.2 Klasifikasi Ulkus Diabetik

Klasifikasi ulkus diabetik dianjurkan oleh *International Working Group on Diabetic Foot* (klasifikasi PEDIS) ditentukan berdasarkan kelainan apa yang lebih dominan, vaskular, infeksi atau neuropatik, sehingga arah dari pengelolaan dapat tertuju dengan lebih baik. Wagner *et al* (1983) membagi gangren diabetes menjadi enam tingkatan, yaitu:

Grade 0	Tidak ada lesi terbuka, kulit masih utuh dengan kemungkinan disertai kelainan bentuk kaki seperti <i>claw, callus</i>
Grade 1	Ulkus dengan infeksi superficial
Grade 2	Ulkus yang lebih dalam sampai ketendon dan tulang tetapi terdapat infeksi yang minimal
Grade 3	Ulkus yang lebih dalam sampai ketendon, tulang dan terdapat abses dan osteomyelitis
Grade 4	Ulkus dan menimbulkan gangren local pada jari jari kaki atau kaki bagian depan.
Grade 5	Lesi/ulkus dengan gangren gangren diseluruh kaki

### 2.5.3 Epidemiologi Ulkus Diabetik

Prevalensi penderita ulkus diabetika di Amerika Serikat sebesar 15-20% dan angka mortalitas sebesar 17,6% bagi penderita DM dan merupakan sebab utama perawatan penderita diabetes melitus di rumah sakit. Penelitian kasus kontrol di Amerika Serikat menunjukkan bahwa 16% perawatan bagi penderita

DM dan 23% total hari perawatan adalah akibat ulkus diabetika dan amputasi kaki. Sebanyak 15% penderita DM akan mengalami permasalahan pada kaki suatu saat dalam kehidupannya (Djokomoeljanto, 1997). Prevalensi penderita ulkus diabetika di Indonesia sebesar 15% dari penderita DM. Di RSCM, pada tahun 2003 masalah kaki diabetes masih merupakan masalah besar. Sebagian besar perawatan DM selalu terkait dengan ulkus diabetika. Angka kematian dan angka amputasi masih tinggi, masing-masing sebesar 32,5% dan 23,5%. Nasib penderita DM pasca amputasi masih sangat buruk, sebanyak 14,3% akan meninggal dalam setahun paska amputasi dan sebanyak 37% akan meninggal 3 tahun paska amputasi (Waspadji, 2006).

#### 2.5.4 Patogenesis

Penyebab kelainan kaki pada penderita diabetes merupakan multifaktorial yang saling terikat dan sulit dipisahkan satu dengan lainnya, tetapi untuk memudahkan pengertian patofisiologi juga untuk tujuan pengobatan dapat dibagi dalam beberapa faktor antara lain (Aulia, 2008) :

##### a. Faktor Metabolik

Tingginya kadar gula darah dalam jangka pendek pada luka kaki akan sangat menyulitkan penyembuhan, sementara luka yang disertai dengan infeksi juga akan meningkatkan gula darah dalam jangka panjang, tingginya kadar gula darah merupakan hal yang paling mendasari terjadinya berbagai kelainan pada jaringan tubuh penderita diabetes secara umum seperti arterosklerosis, gangguan lemak darah, kekentalan plasma darah, kelenturan eritrosit, berkurangnya daya fagosit dari pada leukosit.

Glikolisasi non enzimatis juga sangat berperan dalam patofisiologi terjadinya komplikasi diabetes secara umum. Dengan glikolisasi non enzimatis protein, protein akan terikat dengan glukosa yang relatif tinggi yang menyebabkan protein terglykosilasi yang bersifat irreversibel yang disebut dengan *Advance Glycosilation Endproduct* (AGE). AGE ini akan mempunyai sifat kimia dan fisika yang berbeda dengan protein asalnya yang belum terglykosilasi. Glikolisasi globin pada hemoglobin menyebabkan kelenturan eritrosit yang mengandung glikolisasi globin tersebut menjadi kurang lentur sehingga akan memperlambat

gerakannya pada tingkat kapiler. Pada eritrosit disamping kelenturannya yang menurun juga ada kecenderungan agregasi, secara keseluruhan akan memperlambat aliran darah yang juga diperberat dengan plasma kental. Glikosilasi jaringan elastin dan kolagen pada dinding pembuluh darah menyebabkan pembuluh darah tersebut menjadi kurang elastis sehingga kelenturannya berkurang dan hal ini akan dapat menyebabkan tekanan darah meningkat. Glikosilasi protein plasma menyebabkan plasma menjadi lebih kental dan hal ini juga akan mengganggu kelancaran sirkulasi.

b. Kelainan Vaskuler berupa Makroangipati dan Mikroangipati

Hal ini menyebabkan aliran darah ke kaki menjadi berkurang yang juga akan diikuti dengan berkurangnya suplai oksigen dan makanan disamping berkurangnya kemampuan sistim imunologis tubuh pada tempat tersebut. Terbentuknya makroangiopati terutama disebabkan oleh arterosklerosis dan arterosklerosis ini sendiri dipengaruhi oleh banyak faktor seperti tekanan darah, dislipidemi, umur dan lain lain (Dalimartha, 2003)

c. Faktor Neuropati

Neuropati yang terjadi merupakan kombinasi otonomik dengan sensorik yang berat. Hal ini menyebabkan berkurangnya sensasi nyeri yang sangat penting dalam reflek menghindar terhadap trauma. Neuropati otonomik pada kaki menyebabkan fungsi kelenjar keringat berkurang sehingga kulit kering, elastisitas menurun, dan sering menimbulkan retak dengan infeksi. Selain itu neuropati otonomik juga dapat menyebabkan edema dan bertambahnya *shunting arterovenosus* sehingga memudahkan timbulnya lesi. Neuropati motoris yang sering mengenai bagian ujung pada kaki menyebabkan atropi otot dan hal ini selanjutnya akan menyebabkan deformitas telapak kaki sehingga juga berperan dalam timbulnya lesi pada kaki (Ganong, 2000)

d. Faktor Infeksi

Kurangnya perasaan sakit menyebabkan pasien tidak menyadari kalau ada luka dan dengan luka terbuka tanpa perawatan akan mengundang infeksi, baru akan disadari kalau infeksi cukup berat seperti sellulitis yan luas bahkan kadang sampai terjadi osteomielitis. Pada penderita diabetes luka sedikit saja dikaki harus

mendapat perhatian besar bahkan dikatakan ini merupakan suatu hal yang darurat. Sering hal ini tidak diperhatikan bahkan dokterpun sering tidak memeriksa kaki penderita diabetes kalau tidak dikeluhkan oleh penderita. Sementara penderita tidak akan mengeluh kalau luka tersebut tidak cukup serius (Aulia, 2008).

#### 2.5.5 Diagnosis Ulkus Diabetika

Diagnosis ulkus diabetika meliputi :

- a. Pemeriksaan Fisik : inspeksi kaki untuk mengamati terdapat luka/ulkus pada kulit atau jaringan tubuh pada kaki, pemeriksaan sensasi vibrasi/rasa berkurang atau hilang, palpasi denyut nadi arteri dorsalis pedis menurun atau hilang.
- b. Pemeriksaan Penunjang : X-ray, EMG dan pemeriksaan laboratorium untuk mengetahui apakah ulkus diabetika menjadi infeksi dan menentukan kuman penyebabnya (Waspadji, 2006).

## 2.6 Tinjauan Mengenai Kulit

### 2.6.1 Definisi Kulit

Kulit adalah suatu organ pembungkus seluruh permukaan luar tubuh dan merupakan organ terberat dan terbesar dari tubuh. Seluruh kulit beratnya sekitar 16 % berat tubuh, pada orang dewasa sekitar 2,7 – 3,6 kg dan luasnya sekitar 1,5 – 1,9 meter persegi. Tebalnya kulit bervariasi mulai 0,5 mm sampai 6 mm tergantung dari letak, umur dan jenis. Berdasarkan ketebalan epidermis, kulit dapat dibedakan menjadi kulit tebal dan kulit tipis. Kulit tipis terletak pada kelopak mata, penis, labium minus dan kulit bagian medial lengan atas. Sedangkan kulit tebal terdapat pada telapak tangan, telapak kaki, punggung, dan bahu (Perdanakusuma, 2007).

Pembagian kulit secara garis besar tersusun atas tiga lapisan utama yaitu lapisan epidermis atau kutikel, lapisan dermis, dan lapisan subkutis. Tidak ada garis tegas yang memisahkan dermis dan subkutis, subkutis ditandai dengan adanya jaringan ikat longgar dan adanya sel dan jaringan lemak (Tortora dan Derrickson, 2009).

#### a. Epidermis

Lapisan epidermis terdiri atas stratum korneum, stratum lusidum, stratum granulosum, stratum spinosum, dan stratum basale. Epidermis mengandung tiga jenis sel yaitu sel melanosit, sel langerhans dan sel merkel. Epidermis memiliki ketebalan kulit yang berbeda-beda pada berbagai bagian pada tubuh. Kulit tebal biasa terdapat pada telapak tangan dan kaki (Junquiera dan Caneiro, 1982). Ketebalan epidermis hanya sekitar 5 % dari seluruh ketebalan kulit. Terjadi regenerasi setiap 4-6 minggu (Perdanakusuma, 2007). Epidermis terdiri atas lima lapisan sel penghasil keratin (dari lapisan yang paling atas sampai yang terdalam):

##### 1. Stratum Korneum

Lapisan ini terdiri dari 15-20 lapis sel gepeng berkeratin tanpa inti dengan sitoplasma yang dipenuhi skleroprotein, filamentosa, birefringen yaitu keratin. Lapisan ini akan mengalami penghancuran organel sitoplasma oleh enzim hidrolitik selama proses keratinisasi.

##### 2. Stratum Lusidum

Lapisan ini terdiri atas lapisan tipis sel epidermis eosinofilik yang sangat tipis, dan sitoplasma terdiri atas keratin padat. Antar sel terdapat desmosom dan tampak lebih jelas ditelapak tangan dan kaki. Tidak tampak pada kulit tipis.

##### 3. Stratum Granulosum

Lapisan ini terdiri atas 3-5 lapis sel poligonal gepeng yang sitoplasmanya berisikan granula keratohialin. Pada membran sel terdapat granula lamela yang mengeluarkan materi perekat antar sel, yang bekerja sebagai penyaring selektif terhadap masuknya materi asing, serta menyediakan efek pelindung pada kulit (Junquiera dan Caneiro, 1982).

##### 4. Stratum Spinosum

Lapisan ini terdiri atas sel-sel kuboid. Sel-sel spinosum saling terikat dengan filamen; filamen ini memiliki fungsi untuk mempertahankan kohesivitas (kerekatan) antar sel dan melawan efek abrasi. Dengan demikian, sel-sel spinosum ini banyak terdapat di daerah yang berpotensi mengalami gesekan seperti telapak kaki. (Junquiera dan Caneiro, 1982). Stratum Spinosum memiliki berkas-berkas filament yang dinamakan tonofibril dianggap filament-filamen tersebut



memegang peranan penting untuk mempertahankan koheisi sel dan melindungi terhadap efek abrasi. Epidermis pada tempat yang terus mengalami gesekan dan tekanan mempunyai stratum spinosum dengan lebih banyak tonofibril. Stratum basale dan stratum spinosum disebut sebagai lapisan Malpighi. Terdapat sel Langerhans.

#### 5. Stratum Basal ( Germinativum )

Lapisan ini merupakan lapisan paling bawah pada epidermis, terdiri atas selapis sel kuboid. Pada stratum basal terjadi aktivitas mitosis, sehingga stratum ini bertanggung jawab dalam proses pembaharuan sel-sel epidermis secara berkesinambungan.

#### b. Dermis

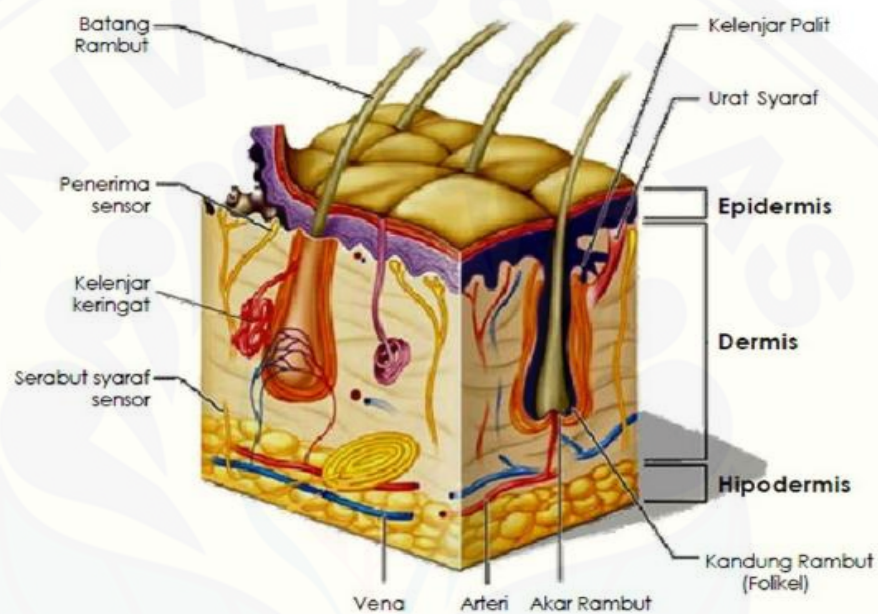
Lapisan kulit dermis terdiri dari pembuluh darah, akar rambut, ujung syaraf, kelenjar keringat dan kelenjar minyak. Kelenjar keringat tentunya menghasilkan keringat. Fungsi dari lapisan kulit dermis ini adalah sebagai organ penerima rangsangan, pelindung terhadap kerusakan fisik, penyinaran dan bibit penyakit, serta untuk pengaturan suhu tubuh. Lapisan kulit dermis berada pada bagian bawah kulit epidermis yang memiliki ketebalan kulit berbeda-beda namun ketebalan kulit dapat mencapai 4 mm terutama di daerah punggung (Junquiera dan Caneiro, 1982).

Dermis umumnya dibagi menjadi lapis superfisial (stratum papillare) yang berbatasan dengan lapis dalam (stratum retikular) tanpa adanya batas yang jelas. Lapis superfisial langsung berbatasan dengan epidermis dan menyesuaikan diri dengan garis bentuk stratum basalis (Dellmann dan Brown, 1992). Stratum papillare, yang merupakan bagian utama dari papila dermis, terdiri atas jaringan ikat longgar. Pada stratum ini didapati fibroblast, sel mast, makrofag, dan leukosit yang keluar dari pembuluh (ekstravasasi). Stratum retikulare, yang lebih tebal dari stratum papillare dan tersusun atas jaringan ikat padat tak teratur (terutama kolagen tipe I) (Junquiera dan Caneiro, 1982).

#### c. Subkutis

Suatu jaringan ikat longgar yang disebut jaringan subkutan dan mengandung sel lemak yang bervariasi. Jaringan ini terletak dibagian bawah

dermis. Jaringan ini disebut juga fascia superficial, atau panikulus adiposus. Jaringan ini mengandung jalinan yang kaya akan pembuluh darah dan pembuluh limfe. Arteri akan membentuk dua plexus, satu di antara stratum papillare dan retikulare, satu lagi di antara dermis dan jaringan subkutis. Cabang-cabang plexus tersebut mendarahi papila dermis. Sedangkan vena membentuk tiga plexus, dua berlokasi seperti arteri, satu lagi di pertengahan dermis. Adapun pembuluh limfe memiliki lokasi sama dengan pembuluh arteri (Junquiera dan Caneiro, 1982).



Gambar 2.2 Anatomi kulit (Tortora, 1986)

### 2.6.2 Fisiologi Kulit

Kulit merupakan bagian organ tubuh manusia yang terletak di luar dan hanya sedikit saja yang membatasi bagian dalam tubuh. Luas kulit pada manusia pada orang dewasa di perkirakan sekitar  $1,5 \text{ m}^2$  dengan berat sekitar 15 % dari berat badan secara keseluruhan. Kulit manusia terdiri dari 3 lapisan kulit bagian utama yakni : epidermis, dermis, dan hipodermis. Lapisan kulit Epidermis terdiri dari stratum korneum yang kaya akan keratin, stratum lucidum, stratum granulosum yang kaya akan keratohialin, stratum spinosum dan stratum basal yang mitotik. Dermis terdiri dari serabut-serabut penunjang antara lain kolagen

dan elastin. Sedangkan hipodermis terdiri dari sel-sel lemak, ujung saraf tepi, pembuluh darah dan pembuluh getah bening.

Kulit mempunyai beberapa fungsi utama antara lain fungsi proteksi, kulit menjaga bagian dalam tubuh terhadap gangguan fisis atau mekanis, gangguan yang bersifat panas, dan gangguan infeksi luar. Proses keratinisasi dari protein keratin merupakan salah satu mekanisme *barrier* karena sel – sel mati melepaskan diri secara teratur. Fungsi absorpsi, kulit tidak bisa menyerap air, tapi bisa menyerap material larut-lipid seperti vitamin A, D, E, dan K, obat-obatan tertentu, oksigen dan karbon dioksida. Fungsi ekskresi, kelenjar – kelenjar kulit mengeluarkan zat – zat yang tidak berguna lagi atau sisa metabolisme dalam tubuh berupa NaCl, urea, asam urat, dan ammonia. Fungsi pembentukan pigmen yang terletak di lapisan basal dan sel ini berasal dari rigi saraf. Fungsi keratinisasi, lapisan epidermis mempunyai 3 jenis sel utama yaitu keratinosit, sel langerhans, melanosit. Fungsi pembentukan vitamin D, dimungkinkan dengan mengubah 7 dihidroksi kolesterol dengan pertolongan sinar matahari ( Junquiera dan Caneiro, 1982 ).

## 2.7 Tinjauan Mengenai Luka

### 2.7.1 Klasifikasi Luka

Luka adalah suatu gangguan dari kondisi normal pada kulit (Taylor *et al*, 1997). Luka adalah kerusakan kontinuitas kulit, mukosa membran dan tulang atau organ tubuh lain (Kozier *et al*, 1995). Luka dapat terjadi pada trauma, pembedahan, neuropatik, vaskuler, penekanan dan keganasan. Luka sering digambarkan berdasarkan bagaimana cara mendapatkan luka itu dan menunjukkan derajat luka. Klasifikasi luka adalah sebagai berikut :

#### 1. Berdasarkan tingkat kontaminasi

Berdasarkan tingkat kontaminasi, luka terdiri dari luka bersih, luka bersih terkontaminasi, dan luka kotor terkontaminasi. *Clean Wounds* (luka bersih) merupakan luka bedah tak terinfeksi yang tidak terjadi proses peradangan (inflamasi) dan infeksi pada sistem pernafasan, pencernaan, genital serta urinari. *Clean-contaminated Wounds* (luka bersih terkontaminasi) merupakan luka pembedahan dimana saluran respirasi, pencernaan, genital atau perkemihan dalam

kondisi terkontrol, kontaminasi tidak selalu terjadi dan kemungkinan timbulnya infeksi luka adalah 3% - 11%. *Contaminated Wounds* (luka terkontaminasi) merupakan luka terbuka, fresh, luka akibat kecelakaan dan operasi dengan kerusakan besar dengan teknik aseptik atau kontaminasi dari saluran cerna dan kemungkinan terjadinya infeksi luka adalah 10% - 17%. *Dirty or Infected Wounds* (luka kotor atau infeksi) ditandai dengan adanya mikroorganisme pada luka (Taylor *et al*, 1997).

## 2. Berdasarkan waktu penyembuhan luka

### a. Luka akut

Luka dengan masa penyembuhan sesuai dengan konsep penyembuhan yang telah disepakati. Merupakan luka trauma yang biasanya segera mendapat penanganan dan biasanya dapat sembuh dengan baik bila tidak terjadi komplikasi. Kriteria luka akut adalah luka baru, mendadak dan penyembuhannya sesuai dengan waktu yang diperkirakan Contoh : Luka sayat, luka bakar, luka tusuk, *crush injury*. Luka operasi dapat dianggap sebagai luka akut yang dibuat oleh ahli bedah. Contoh : luka jahit, *skin graftin*.

### b. Luka kronis

Luka yang mengalami kegagalan dalam proses penyembuhan, dapat terjadi karena faktor eksogen dan endogen. Luka yang berlangsung lama atau sering timbul kembali (rekuren) dimana terjadi gangguan pada proses penyembuhan yang biasanya disebabkan oleh masalah multifaktor dari penderita. Pada luka kronik luka gagal sembuh pada waktu yang diperkirakan, tidak berespon baik terhadap terapi dan punya tendensi untuk timbul kembali. Contoh : ulkus dekubitus, ulkus diabetik, ulkus venous, luka bakar dan lain-lain (Perdanakusuma, 2007).

## 2.7.2 Penyembuhan Luka

Tubuh yang sehat mempunyai kemampuan alami untuk melindungi dan memulihkan dirinya. Peningkatan aliran darah ke daerah yang rusak, membersihkan sel dan benda asing dan perkembangan awal seluler bagian dari proses penyembuhan. Proses penyembuhan terjadi secara normal tanpa bantuan, walaupun beberapa bahan perawatan dapat membantu untuk mendukung proses

penyembuhan. Sebagai contoh, melindungi area yang luka bebas dari kotoran dengan menjaga kebersihan membantu untuk meningkatkan penyembuhan jaringan (Taylor *et al.*, 1997)

Peradangan dan perbaikan merupakan proses yang terus menerus pada penyembuhan luka, sel-sel inflamasi, epitel, endotel, trombosit dan fibroblas keluar secara bersamaan dari tempatnya semula dan berinteraksi untuk mengembalikan kerusakan jaringan serta proses revaskularisasi. Kerusakan jaringan dan pembuluh darah akan diikuti oleh reaksi kompleks dalam jaringan pengikat yang memiliki pembuluh darah. Segera setelah trauma, luka akan mengalami kondisi lingkungan yang kekurangan oksigen. Hal ini tidak hanya disebabkan oleh kerusakan vaskuler, akan tetapi karena kebutuhan oksigen yang meningkat akibat proses katabolisme. Hipoksia jaringan akan menyebabkan tekanan oksigen jaringan rendah pada tingkat seluler dan molekuler terbukti kondisi tersebut merupakan stimulator sinyal awal pada penyembuhan luka (*tissue repair / angiogenesis*), proliferasi fibroblas, sintesis factor pertumbuhan. Fisiologi penyembuhan luka secara alami akan mengalami fase-fase sebagai berikut:

a. Fase Inflamasi

Fase inflamasi dimulai setelah pembedahan dan berakhir hari ke 3 – 4 pasca operasi. Dua tahap dalam fase ini adalah hemostasis dan fagositosis (Taylor, 1997). Pada awal fase ini, luka yang mengakibatkan kerusakan pembuluh darah akan menyebabkan keluarnya darah (Spector dan Spector, 1993). Tubuh akan berusaha menghentikan pendarahan dengan vasokonstriksi dan reaksi hemostatis. Hemostatis yang terjadi karena trombosit yang keluar dari pembuluh darah saling melekat, dan bersamaan dengan terbentuknya benang fibrin akan membekukan darah yang keluar dari pembuluh darah. Sementara itu, terjadi reaksi inflamasi dimana agregat trombosit akan mengeluarkan mediator inflamasi *Transforming Growth Factor beta 1* (TGF  $\beta_1$ ). Adanya TGF  $\beta_1$  akan mengaktifasi fibroblas untuk mensintesis kolagen.

Sel mast dalam jaringan ikat menghasilkan serotonin dan histamin yang meningkatkan permeabilitas kapiler sehingga terjadi eksudasi dan vasodilatasi

yang menyebabkan udem dan pembengkakan. Aktivitas selular yang terjadi adalah pergerakan leukosit menembus dinding pembuluh darah menuju luka. Leukosit mengeluarkan enzim hidrolitik yang membantu mencerna bakteri dan kotoran luka. Limfosit dan monosit akan muncul untuk menghancurkan dan memakan bakteri atau yang disebut fagositosis (Sjamsuhidayat dan Wim, 2004).

Lebih kurang 24 jam setelah luka sebagian besar sel fagosit masuk ke daerah luka dan mengeluarkan faktor angiogenesis yang merangsang pembentukan anak epitel pada akhir pembuluh luka sehingga pembentukan kembali dapat terjadi (Taylor *et al*, 1997). Fase ini ditandai dengan adanya reaksi radang yang berwarna kemerahan karena terjadi rubor, hangat pada kulit, rasa sakit dan pembengkakan (Sjamsuhidayat dan Wim, 2004).

#### b. Fase Proliferasi

Dimulai pada hari ke 3 atau 4 dan berakhir pada hari ke-21. Pada jaringan lunak yang mengalami perlukaan, fibroblas akan aktif bergerak dari jaringan sekitar luka ke dalam daerah luka, kemudian akan berkembang (proliferasi) serta mengeluarkan beberapa substansi (kolagen, elastin, *hyaluronic acid*, *fibronectin* dan *proteoglycans*) yang berperan dalam membangun (rekonstruksi) jaringan baru (Singer dan Clark, 1999). Jaringan baru ini disebut jaringan granulasi yang merupakan jaringan berwarna kemerahan yang berbenjol halus. Epitel tepi luka yang terdiri sel basal terlepas dari dasarnya dan berpindah mengisi permukaan luka. Fase proliferasi akan berakhir jika epitel dermis dan lapisan kolagen telah terbentuk (Sjamsuhidayat dan Wim, 2004).

#### c. Fase Pematangan

Fase akhir dari penyembuhan, dimulai hari ke-21 dan dapat berlanjut selama 1 – 2 tahun setelah luka. Sintesa kolagen yang telah dimulai sejak fase proliferasi akan dilanjutkan pada fase pematangan. Selain terjadi pembentukan kolagen baru, enzim kolagenase akan mengubah kolagen muda (*gelatinous collagen*) yang terbentuk pada fase proliferasi akan berubah menjadi kolagen yang lebih matang, yaitu lebih kuat dan struktur yang lebih baik (proses *re-modelling*) (Singer dan Clark, 1999). Luka dikatakan sembuh jika terjadi kontinuitas lapisan kulit dan kekuatan jaringan kulit mampu melakukan aktivitas yang normal.

### 2.7.3 Faktor-faktor yang mempengaruhi penyembuhan luka

Seluruh proses peradangan bergantung pada sirkulasi darah ke daerah yang terluka. Jika suplai darah ke suatu daerah kurang, maka proses peradangan akan berjalan sangat lambat, infeksi menetap, dan terjadi persembuhan yang buruk. Selain itu, persembuhan luka dipengaruhi oleh umur, nutrisi yang tidak seimbang, keberadaan benda asing, radiasi, pengobatan anti inflamasi dan faktor kesehatan individu misalnya immunosupresan, stress dan diabetes mellitus (Price dan Wilson, 1992).

### 2.7.4 Parameter Penyembuhan Luka Berdasarkan Histopatologi

#### a. Hiperemi

Hiperemia merupakan suatu keadaan dimana terdapat darah secara berlebihan didalam pembuluh darah atau keadaan yang disertai meningkatnya volume darah dalam pembuluh darah yang melebar. Berdasarkan jenisnya hiperemia dibagi menjadi 2 yaitu hiperemi aktif dan reaktif. Hiperemi reaktif merupakan heperemi yang terjadi apabila penyediaan darah ke jaringan terhambat selama beberapa detik sampai satu jam atau lebih dan kemudian hambatan dihilangkan, aliran yang melalui jaringan biasanya akan segera meningkat sebesar empat sampai tujuh kali normal. Hiperemi aktif merupakan peningkatan laju aliran darah pada jaringan yang sangat aktif contoh pada kelenjar gastrointestinal selama periode hipersekresi dan pelatihan otot (Guyton dan Hall, 2001).

#### b. Edema

Pada umumnya edema berarti pengumpulan cairan berlebihan pada sela-sela jaringan atau rongga tubuh. Edema terutama terjadi pada kompartemen cairan ekstrasel dan intrasel. Edema Intrasel terjadi apabila mengalami suatu depresi sistem metabolisme jaringan dan tidak adanya nutrisi sel. Edema Ekstrasel terjadi apabila terdapat akumulasi cairan yang berlebihan dalam ruang ekstrasel, misalnya adanya kebocoran abnormal cairan dari plasma ke ruang interstisial dengan melintasi kapiler dan kegagalan sistem limfatik untuk mengembalikan cairan dari interstisium kedalam darah (Guyton dan Hall, 2001).

### c. Epitelium

Jaringan epitel terdiri atas sel-sel polihedral yang berhimpitan, sel-sel saling melekat erat dan membentuk lembaran sel yang menutupi permukaan tubuh. Bentuk inti dari jaringan epitel menyesuaikan diri dengan bentuk sel. Bentuk inti dari jaringan epitel untuk mengetahui kriteria morfologi utama dalam mengklasifikasikan epitel. Fungsi utama dari jaringan ini adalah menutupi dan melapisi permukaan pada kulit.

### d. Limfosit

Limfosit jaringan penyambung mempunyai ukuran 6-8 mikron, sitoplasma agak basofilik, inti hitam besar dengan kromatin padat, ada 2 jenis limfosit yaitu limfosit T dan limfosit B. Limfosit T bertanggung jawab untuk memulai reaksi imun yang diperantarai sel dan mempunyai umur panjang, limfosit B apabila dirangsang suatu antigen membelah beberapa kali dan menjadi sel plasma yang menghasilkan antibodi spesifik pada antigen tertentu dan berumur pendek. Limfosit di lamina propria bawah epitel usus akan melintasi epitel itu dan dihancurkan di lumen (Junqueira dan Carneiro, 1982).

### e. Jaringan Ikat

Jaringan ikat merupakan suatu jaringan yang memiliki fungsi mekanik sebagai persediaan matriks untuk menghubungkan dan mengikat sel-sel, organ-organ dan menunjang seluruh tubuh. Matriks jaringan ikat berfungsi sebagai medium berlangsungnya pertukaran nutrisi dan limbah metabolisme antara sel dan suplai darah. Jaringan ikat berkembang dari mesenkim yaitu jaringan embrional yang terdiri dari sel mesenkim yang berkembang dari lapisan tengah embrio (mesoderm). Jenis-jenis sel berikut yang terdapat pada jaringan ikat adalah sebagai berikut:

#### 1. Fibroblas

Fibroblast merupakan sel yang paling banyak terdapat pada jaringan ikat yang berperan dalam sintesis protein misalnya kolagen dan elastin yang dapat membentuk serat kolagen, retikulin dan elastin. Berdasarkan aktivitasnya fibroblas terbagi menjadi fibroblast aktif dan fibroblast pasif. Fibroblas aktif memiliki banyak sitoplasma yang bercabang dengan inti lonjong, besar, dengan



kromatin halus dan anak inti yang nyata. Fibroblas pasif (fibrosit) berukuran lebih kecil dibandingkan dengan fibroblast aktif dan berbentuk kumaran.

## 2. Makrofag

Makrofag merupakan sel fagosit mononuclear yang utama di jaringan dalam proses fagositosis terhadap mikroorganisme dan kompleks molekul asing lainnya. Makrofag berasal dari precursor dari sumsum tulang dari promonosit yang akan membelah menghasilkan sirkulasi darah akan mengalami perubahan-perubahan untuk kemudian menetap di jaringan sebagai makrofag, didalam jaringan makrofag dapat berproliferasi secara local menghasilkan sel sejenis lebih banyak.

## 3. Kolagen

Kolagen merupakan suatu serat jaringan ikat berasal famili protein yang terbanyak dalam tubuh manusia, yaitu sebanyak 30% yang berasal dari berat keringnya. Kolagen dapat dijumpai terutama pada kulit, tulang rawan, otot polos, dan lamina basal. Berdasarkan struktur dan fungsinya kolagen digolongkan dalam kelompok : 1.) kolagen membentuk fibril panjang. 2.) kolagen terkait fibril, memiliki struktur pendek yang mengikat serabut kolagen satu dengan yang lain dari matriks ekstrasel. 3.) kolagen membentuk jaringan kerangka, tersusun dalam jalinan yang membentuk komponen struktural laminal basal. 4.) kolagen pembentuk fibrin penambat. Sintesis kolagen merupakan suatu aktivitas yang diduga terjadi pada fibroblast, kondroblast, osteoblast dan odontoblas. Sintesis kolagen melibatkan sederetan modifikasi biokimia translasional unik dari peptidoglikan prokolagen asal (Junqueira & Carneiro, 1982).

## 2.8 Tinjauan Mengenai Mupirocin

Mupirocin merupakan suatu antibiotik dari kelas asam monoksikarbolik yang diisolasi dari *Pseudomonas fluorescens*. Mupirocin bersifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah dan bakterisida pada konsentrasi tinggi. Menurut Steven *et al* (Tanpa tahun), mupirocin efektif terhadap gram positif termasuk MRS dan terhadap bakteri gram negatif tertentu, termasuk *Haemophilus influenza* dan *Neisseria gonorrhoea*.

## 2.9 Tinjauan Mengenai Metode Pewarnaan Hematoksilin-Eosin

Zat warna mempunyai kemampuan khusus dalam mewarnai jaringan sesuai dengan sifat-sifatnya. Menurut Suntoro (1983), metode pewarnaan *hematoksilin-eosin* merupakan metode rangkap yang menggunakan 2 macam zat warna yakni zat warna *hematoksilin* dan zat warna *Eosin*. Pewarnaan ini umum digunakan untuk mewarnai jaringan yang memerlukan kontras antara sitoplasma dan inti.

Hematoxylen adalah zat warna basa yakni garam dari basa-basa pewarna dengan radikal asam yang tidak berwarna. Selain itu *hematoksilin* merupakan zat warna yang dapat mewarnai dengan baik apabila diberikan pertolongan suatu mordan (Substansi yang dapat memfiksasi atau mengikat zat warna pada jaringan yang diwarnai). Pada jaringan, *hematoksilin* mewarnai bagian inti sel dengan warna ungu. Sedangkan Eosin adalah zat warna yang bersifat asam sehingga pada sel akan mewarnai sitoplasma merah. Eosin sebagai zat warna golongan banyak digunakan sebagai *background strain* atau *counterstain*. *Counterstain* berfungsi untuk memberikan warna yang kontras dengan zat warna yang diberikan terlebih dahulu. Zat warna ini dipakai sebagai pewarna imbalan untuk warna *hematoksilin* (Suntoro, 1983).

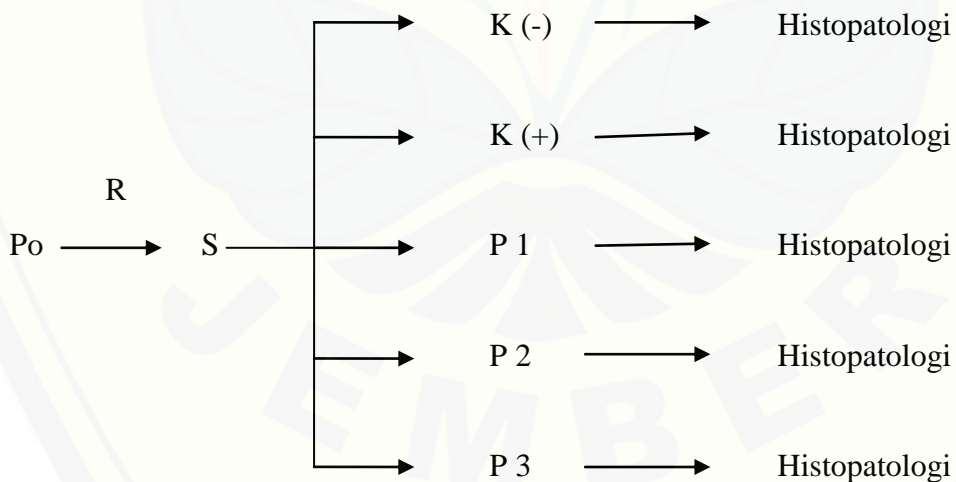
### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental yang bertujuan untuk menyelidiki kemungkinan saling berhubungan sebab akibat dengan cara mengadakan intervensi atau mengenakan perlakuan kepada satu atau lebih kelompok eksperimen, kemudian hasil dari intervensi tersebut dibandingkan dengan kelompok yang tidak dikenakan perlakuan (kelompok kontrol) (Notoatmodjo, 1987). Jenis penelitian eksperimental pada penelitian ini adalah *true eksperimental laboratories*.

#### 3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *posttest only 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 mupirocin dosis 100 mg secara topikal selama 21 hari

P 1 : Kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak n-heksana daun binahong dosis 100 mg secara topikal selama 21 hari

P 2 : Kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak n-heksana daun binahong dosis 200 mg secara topikal selama 21 hari

P 3 : Kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak n-heksana daun binahong dosis 400 mg secara topikal selama 21 hari

### 3.3 Jumlah Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus *Wistar* berkelamin jantan, berat badan 250-300 gram. Untuk menghindari bias penelitian karena faktor variasi umur dan berat badan, maka dilakukan pengelompokan sampel secara acak sederhana (simple random sampling) yang kemudian dibagi menjadi 5 kelompok. Proses pengambilan sampel dilakukan dengan memberi kesempatan yang sama pada setiap anggota populasi untuk menjadi anggota sampel. 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 yang digunakan minimal 5 ekor tikus untuk tiap perlakuan. Pada penelitian ini digunakan 25 ekor tikus dimana pada tiap kelompok kontrol dan perlakuan digunakan masing-masing 5 ekor tikus.

### 3.4 Variabel Penelitian

- a. Variabel Bebas :Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak n-heksana daun binahong
- b. Variabel Terikat :Variabel terikat dalam penelitian ini adalah penyembuhan luka tikus berdasarkan pengamatan histopatologi
- c. Variabel Terkendali :Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah jenis kelamin tikus (jantan), jenis tikus (*Wistar*), berat badan tikus (250-300 gram), umur tikus (2-3 bulan), pemeliharaan tikus.

### 3.5 Definisi Operasional Penelitian

Definisi operasional dalam penelitian ini antara lain:

- a. Tanaman binahong diperoleh dari Materia Medika, Malang dalam bentuk serbuk simplisia.
- b. Ekstrak n-heksana daun binahong adalah ekstrak yang diperoleh dari ekstraksi simplisia binahong dengan menggunakan pelarut n-heksana. Metode ekstraksi yang digunakan adalah remaserasi.

- c. Parameter histopatologi pada penyembuhan luka adalah pembentukan jaringan ikat, jaringan epitel, infiltrasi sel radang mononuklear (limfosit) dan pembentukan sel kolagen.
- d. Jenis (galur) tikus adalah galur *Wistar*
- e. Jenis kelamin tikus adalah jantan
- f. Berat badan tikus adalah 250-300 gram
- g. Umur tikus adalah 2-3 bulan
- h. Pemeliharaan tikus adalah sejumlah 25 ekor tikus dipelihara dalam kandang Laboratorium Farmasi Klinik dan Komunitas, Fakultas Farmasi Universitas Jember, dengan makanan (diberikan dalam bentuk pelet) dan minuman diberikan secara *ad libitum*.
- i. Perlakuan hewan uji adalah mengoleskan ekstrak daun binahong pada luka tikus menggunakan *cotton bud* secara topical.

### 3.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fitokimia, Laboratorium Biomedik bagian Farmasi Klinik dan Komunitas Fakultas Farmasi Universitas Jember. Laboratorium Biomedik bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada bulan September 2013.

### 3.7 Alat dan Bahan

#### 3.7.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan tikus, *rotary evaporator* (Heidolp, Laborota 4000), maserator, kertas saring, spatula, corong gelas, *syringe*, gunting bedah, papan fiksasi, mikroskop (Olympus BX53F), mikrotom (Leica RM 2135), *obyek glass*, *deck glass*, pinset steril, inkubator, glukotest, *scapel*, dan *cotton bud*.

### 3.7.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia dari daun binahong, aloksan monohidrat 10 gram, salep mupirocin, injeksi ketamin (Hameln) 50 mg/ml, NaCl fisiologis (NaCl 0,9%), n-heksana p.a, betadin antiseptik, aquades sebagai pelarut, larutan Netral Buffer Formalin (10%), kapas, vaselin kuning, *Embedding Paraffin*, *Haematoksin* (Mayer's), *Eosin* dan etanol 70%, 80%, 96%.

## 3.8 Prosedur Kerja

### 3.8.1 Pembuatan Ekstrak n-Heksana Daun Binahong

Serbuk simplisia daun binahong ditimbang sebanyak 440 gram kemudian dimasukkan ke dalam maserator dan ditambahkan n-heksana sebanyak 3 liter. Maserasi dilakukan selama 5 hari dan setiap hari diaduk. Pada hari ke-5 maserat disaring dari ampasnya dengan menggunakan kertas saring, kemudian dilakukan remaserasi dengan pelarut n-heksana p.a sebanyak 3 liter dan maserat yang diperoleh dipisahkan dengan *rotavapour* pada suhu 50 °C sampai semua pelarut n-heksana menguap dan diperoleh ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang dan dihitung randemennya.

### 3.8.2 Pembuatan Sediaan Aloksan

Aloksan 1.5% sebagai bahan penginduksi diabetes dilarutkan dengan NaCl fisiologis (NaCl 0,9%).

### 3.8.3 Adaptasi Hewan Coba

Sebelum penelitian, tikus diadaptasikan dahulu selama satu minggu di Laboratorium Farmasi Klinik dan Komunitas Fakultas Farmasi Universitas Jember

#### 3.8.4 Perlakuan Hewan Coba

Sejumlah 25 ekor tikus galur *Wistar* dipelihara dalam kandang Laboratorium Farmasi Klinik dan Komunitas Fakultas Farmasi Universitas Jember. Makanan (diberikan dalam bentuk pelet) dan minuman diberikan secara *ad libitum*.

Sejumlah tikus 25 ekor diadaptasikan selama 1 minggu dan dibagi dalam 5 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor yang dipilih secara acak, kemudian diberi perlakuan setiap hari selama 21 hari dengan prosedur dibawah.

#### 3.8.5 Persiapan Hewan Uji

Hewan uji dipuasakan dahulu sebelumnya selama 16-18 jam dengan diberi minum, kemudian disuntikkan larutan aloksan secara intraperitoneal dosis 150 mg/kg BB pada ekor tikus. Setelah penyuntikan, tikus diberi makan dan minum seperti biasa. Kadar glukosa darah hewan uji diukur sehari sebelum diinduksi aloksan, dan hari ke-3 setelah diinduksi aloksan. Parameter keberhasilan penginduksian apabila terjadi kenaikan glukosa darah puasa yang melebihi 150 mg/dL (Nayak, 2006).

Tikus yang telah diabet, diberi luka dengan cara tikus dibius dengan ketamin HCl dosis 120 mg/kg BB (setara dengan 24-26 mg/ 200-300 gram BB ekor tikus pada sediaan injeksi Ketamin-Hameln 50 mg/ml atau 0,5 cc) secara intramuskular, kemudian diletakkan di atas papan bedah dengan posisi telungkup dan keempat kaki diikat. Rambut di sekitar punggung tikus dicukur, kemudian dibersihkan dengan kapas yang dibasahi alkohol 70%. Kulit diangkat dengan pinset dan digunting di daerah tersebut sampai bagian dermis beserta jaringan ikat di bawahnya dengan diameter 4 cm (Morton, 1972). Aplikasi pengobatan dilakukan dengan mengoleskan ekstrak n-heksana daun binahong pada dosis 100 mg, 200 mg, dan 400 mg menggunakan *cotton bud* selama 21 hari (Winarsih *et al*, 2007). Setelah hari ke-21 tikus dikorbankan, diambil bagian kulit yang mengalami penyembuhan, kemudian dibuat preparat histopatologi.

#### 3.8.6 Pembuatan Sediaan Haematoksin Eosin

Metode yang digunakan terdiri atas 4 tahap, yaitu fiksasi, dehidrasi, pencetakan (*embedding*), dan pewarnaan (*staining*). Tahap fiksasi dilakukan dengan memotong



organ kulit, dimasukkan ke dalam Formalin 10% selama 3x24 jam, kemudian dipotong lagi dengan ukuran lebih tipis. Potongan-potongan kulit tersebut dilanjutkan ke tahap dehidrasi, yaitu dengan perendaman menggunakan etanol bertingkat (etanol 70%, 80%, 96%, absolut I, absolut II). Kemudian etanol dihilangkan dengan *xylol* I dan II masing-masing selama 40 menit. Infiltrasi menggunakan parafin cair dilakukan pada suhu 60°C selama 4 kali selama 30 menit. Sebelum dilakukan pencetakan, cetakan dicuci dengan campuran etanol 96%, *xylol*, dan air.

Pencetakan dilakukan dengan menuangkan parafin panas dalam blok cetakan sebanyak setengah cetakan dengan alat *Tissue Tec*. Potongan kulit dimasukkan secara perlahan-lahan agar tidak menyentuh dasar cetakan lalu ditutup lagi dengan parafin cair. Setelah beku, organ dalam parafin tersebut dipotong dengan alat mikrotom setebal 4-5 µm. Potongan yang diperoleh dimasukkan ke dalam air hangat (40°C) untuk melelehkan parafin, kemudian diletakkan dalam kaca objek. Potongan tadi dikeringkan dalam oven inkubator bersuhu 56°C selama satu malam.

Tahap pewarnaan *Haematoxylin Eosin* (HE) dilakukan setelah diparafinisasi, yaitu preparat direndam menggunakan *xylol* I dan *xylol* II masing-masing selama 2 menit, rehidrasi dengan etanol absolut selama 2 menit, kemudian dengan etanol 96% dan 80% masing-masing selama 1 menit, dan dicuci dengan air mengalir. Kemudian preparat direndam dalam pewarnaan *Haematoksin Mayer* selama 8 menit, dicuci dengan air mengalir, dimasukkan ke dalam LiCl selama 30 detik, dan dicuci lagi dengan air mengalir. Kemudian irisan preparat diberi pewarna eosin selama 2-3 menit, lalu dicuci. Setelah itu, irisan kulit dicelupkan dalam etanol 96% dan absolut I masing-masing sebanyak 10 kali dan diteruskan dengan etanol absolut II selama 2 menit, *xylol* I selama 1 menit dan *xylol* II selama 2 menit. Setelah diangin-anginkan beberapa saat, preparat yang telah diwarnai tersebut kemudian diberi *permounting* medium dan ditutup dengan kaca penutup (Junquiera, 1998).

Pengamatan histopatologi dilakukan pada sampel kulit yang telah diambil

pada hari ke-21. Pengamatan yang dilakukan adalah pengamatan histopatologi secara skoring pada tiap parameter penyembuhan (reepitelisasi, pembentukan jaringan ikat, dan kolagen serta jumlah sel radang limfosit) (Winarsih *et al*, 2007). Pengamatan terhadap parameter penyembuhan luka dilakukan dengan menggunakan mikroskop (Olympus BX53F). Pengamatan dilakukan dengan 5 lapang pandang dengan pembesaran objektif 40x dan 400x. Pembacaan preparat histopatologi dilakukan dengan menggunakan metode skoring pada tiap parameter histopatologi adalah sebagai berikut:

Tabel 3.1 Skoring derajat penyembuhan luka

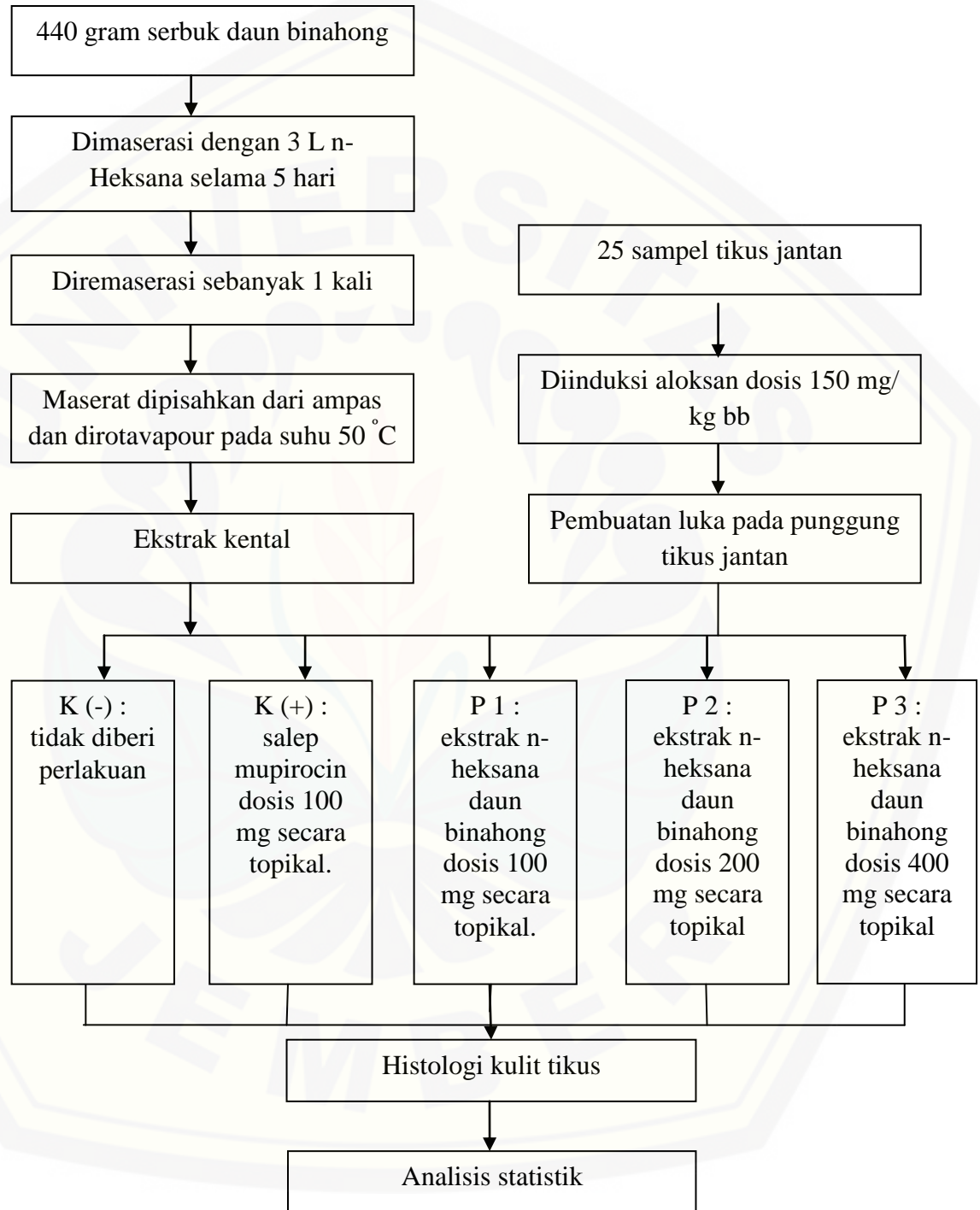
Skor	Reepitelisasi	Pembentukan Jaringan Ikat	Pembentukan Kolagen	Jumlah Sel radang (Limfosit)
0	Belum mengalami reepitelisasi sempurna	Tidak terbentuk jaringan ikat/ jaringan granulasi	Jaringan kolagen tidak terlihat jelas	Tidak terdapat sel limfosit/sel radang akut
1	Reepitelisasi sempurna bentuk tidak beraturan	Terbentuk jaringan ikat atau jaringan granulasi	Terbentuk kolagen tipis	Terdapat sel limfosit bersifat dominan
2	Reepitelisasi sempurna bentuk teratur	Terbentuk jaringan ikat	Terbentuk kolagen tebal	Terdapat sel limfosit terlokalisir/terfokus

### 3.9 Analisis Data

Hasil pengamatan patologi anatomi di analisis dalam bentuk gambar HPA dan tabel. Data pengamatan histopatologi di uji dengan analisis non parametrik. Untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok digunakan uji *Kruskal Wallis*, dan apabila didapatkan nilai yang berbeda signifikan maka untuk melihat kelompok mana yang berbeda dapat dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Pada uji digunakan tingkat kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ).

### 3.10 Skema Pelaksanaan Penelitian

#### 3.10.1 Skema Alur Penelitian



## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil dan Analisis Data

Ekstraksi dilakukan pada simplisia daun binahong dengan menggunakan pelarut n-heksana. Simplisia daun binahong ditimbang sebanyak 440 gram dimaserasi dengan 3 liter n-Heksana menghasilkan ekstrak kental sebesar 10,55 gram dan prosentasi rendemen yang diperoleh adalah sebesar 2,409%.

Pengukuran kadar glukosa darah pada semua hewan uji pada tiap kelompok berada dalam keadaan normal sebelum diinduksi dengan aloksan (84-124 mg/ dl) seperti yang terlihat pada tabel lampiran C.1. Tikus yang di induksi aloksan akan mengalami peningkatan kadar gula darah pada hari ke-3 yaitu sebesar 350-432 mg/ dl pada tiap kelompok hewan uji. Perlakuan terhadap hewan coba dimulai pada hari ke-3 hingga hari ke-21. Pada hari ke-21, sebelum hewan dikorbankan dilakukan pengukuran kadar gula darah akhir dan diperoleh 330-425 mg/ dl (Tabel lampiran C.1).

Pemeriksaan penyembuhan luka diabetik pada tikus diamati secara histopatologi (HPA) dimana data tingkat penyembuhan luka pada tikus dianalisis mengikuti derajat scoring Mc Gavin dan Zachary (2007) yang telah dimodifikasi yaitu dengan skor 0, 1, dan 2. Parameter yang diamati pada penyembuhan luka diabetik adalah kolagen, epitel, jaringan ikat dan limfosit.

Ekstrak daun binahong yang diberikan pada kelompok perlakuan secara histopatologi (HPA) menunjukkan dampak positif terhadap luka pada kulit tikus. Efek ekstrak n-heksana daun binahong dosis 400 mg terhadap penyembuhan luka kulit tikus diabetik terlihat menyerupai kelompok kontrol positif yang menggunakan salep mupirocin dan lebih baik dari kelompok kontrol negatif (Tabel 4.1., 4.2., 4.3., dan 4.4 )

Tabel 4.1 Prosentase derajat penyembuhan luka pada parameter epitel

Kelompok Perlakuan	Jumlah Tikus	Skor Perubahan Histopatologi Kulit ( % )			Total
		0	1	2	
K (+)	5	0 (0 %)	3 (60 %)	2 (40 %)	5 (100 %)
K (-)	5	4 (80 %)	1 (20 %)	0 (0 %)	5 (100 %)
P1	5	0 (0 %)	4 (80 %)	1 (20 %)	5 (100 %)
P2	4	3 (75 %)	1 (25 %)	0 (0 %)	4 (100 %)
P3	5	0 (0 %)	3 (60 %)	2 (40 %)	5 (100 %)

Tabel 4.2 Prosentase derajat penyembuhan luka pada parameter kolagen

Kelompok Perlakuan	Jumlah Tikus	Skor Perubahan Histopatologi Kulit ( % )			Total
		0	1	2	
K (+)	5	0 (0 %)	1 (20 %)	4 (80 %)	5 (100 %)
K (-)	5	0 (0 %)	5 (100 %)	0 (0 %)	5 (100 %)
P1	5	0 (0 %)	3 (60 %)	2 (40 %)	5 (100 %)
P2	4	0 (0 %)	1 (25 %)	3 (75 %)	4 (100 %)
P3	5	0 (0 %)	2 (40 %)	3 (60 %)	5 (100 %)

Tabel 4.3 Prosentase derajat penyembuhan luka pada parameter luka jaringan ikat

Kelompok Perlakuan	Jumlah Tikus	Skor Perubahan Histopatologi Kulit ( % )			Total
		0	1	2	
K (+)	5	0 (0 %)	3 (60 %)	2 (40 %)	5 (100 %)
K (-)	5	3 (60 %)	2 (40 %)	0 (0 %)	5 (100 %)
P1	5	0 (0 %)	4 (80 %)	1 (20 %)	5 (100 %)
P2	4	0 (0 %)	1 (25 %)	3 (75 %)	4 (100 %)
P3	5	0 (0 %)	1 (20 %)	4 (80 %)	5 (100 %)

Tabel 4.4 Prosentase derajat penyembuhan luka pada parameter limfosit)

Kelompok Perlakuan	Jumlah Tikus	Skor Perubahan Histopatologi Kulit ( % )			Total
		0	1	2	
K (+)	5	0 (0 %)	2 (40 %)	3 (60 %)	5 (100 %)
K (-)	5	3 (60 %)	2 (40 %)	0 (0 %)	5 (100 %)
P1	5	2 (40 %)	3 (60 %)	0 (0 %)	5 (100 %)
P2	4	3 (75 %)	1 (25 %)	0 (0 %)	4 (100 %)
P3	5	0 (0 %)	1 (20 %)	4 (80 %)	5 (100 %)

Dari tabel diatas terlihat distribusi jumlah sampel pada setiap parameter penyembuhan luka kulit tikus diabetik pada semua kelompok. Dari data tersebut menunjukkan adanya perbedaan tingkat proses penyembuhan baik antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif maupun kelompok kontrol dengan kelompok dosis.

Prosentase skoring derajat penyembuhan luka jaringan kulit tikus pada setiap kelompok menunjukkan semakin tinggi derajat skoring, semakin baik tingkat penyembuhan luka diabetik yang terjadi. Kontrol positif menunjukkan proses penyembuhan yang lebih baik jika dibandingkan dengan kontrol negatif dengan prosentase sebesar 60% pada epitel dan jaringan ikat (skor 1); 60% pada limfosit (skor 2) serta sebesar 80% pada kolagen (skor 2) dari total keseluruhan sampel. Sedangkan pada kelompok kontrol negatif, sebagian besar epitel belum mengalami reepitelisasi sempurna (80%) meskipun kolagen berada pada skor 1 (100%).

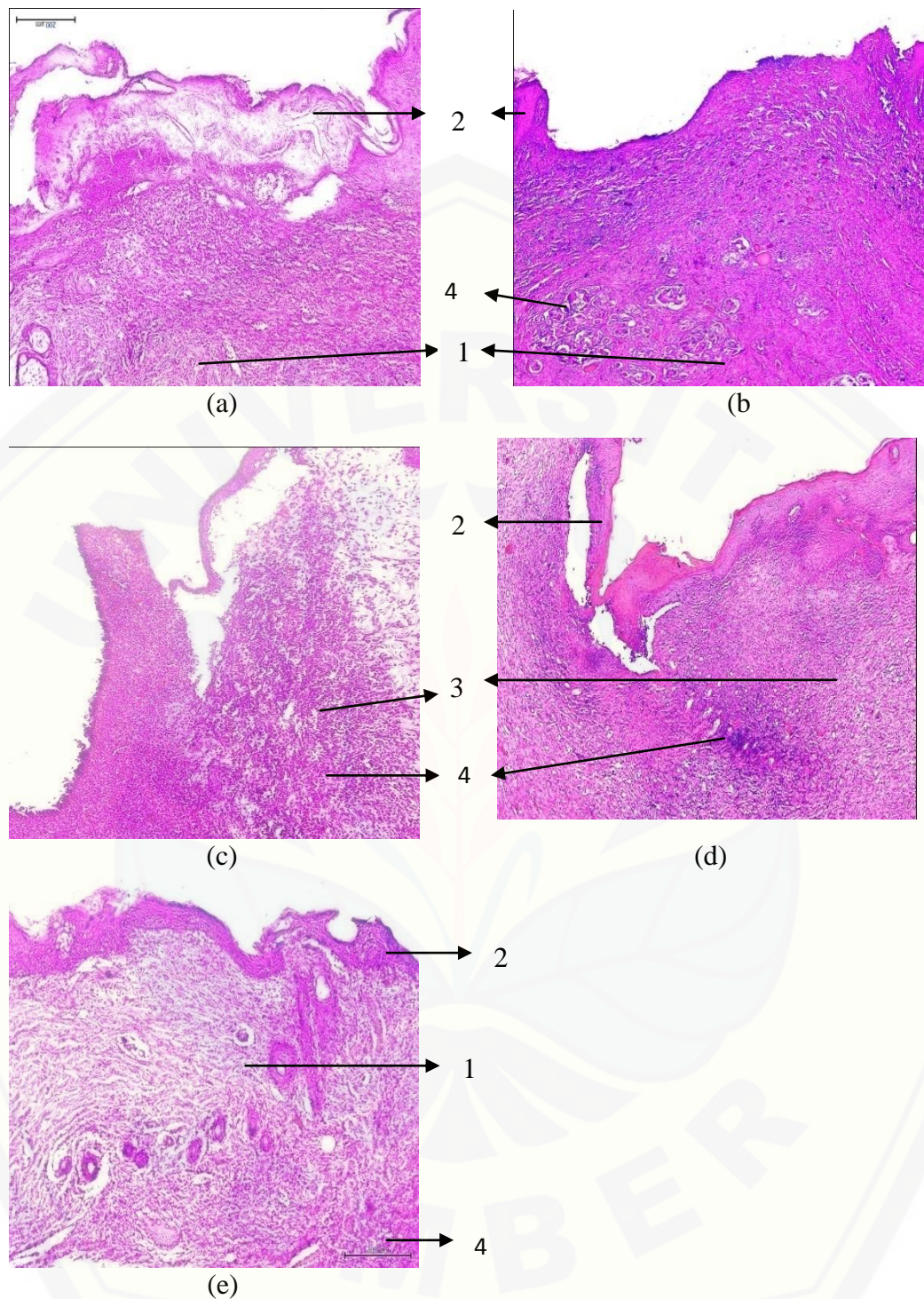
Pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak binahong dosis 100 mg (P1) menunjukkan respon penyembuhan pada luka kulit tikus, tetapi tingkat penyembuhan luka yang terjadi lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol positif dimana penyembuhan epitel dan jaringan ikat rata-rata mencapai 80% (skor 1), sedangkan pembentukan kolagen dan infiltrasi sel limfosit padat jaringan mencapai 60% pada kolagen (skor 1).

Pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak binahong dosis 200 mg (P2) menunjukkan respon penyembuhan pada luka kulit tikus, tetapi tingkat penyembuhan luka yang terjadi lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol positif dimana penyembuhan kolagen dan jaringan ikat rata-rata mencapai 75% (skor 2), tetapi penyembuhan epitel dan infiltrasi limfosit baru mencapai 25 % (skor 1).

Pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak binahong dosis 400 mg (P3) terlihat proses penyembuhan lebih luka kulit secara histopatologi lebih baik daripada kelompok perlakuan P1 dan P2 dimana proses penyembuhan jaringan ikat, infiltrasi limfosit mencapai 80% (skor 2), pembentukan kolagen mencapai 60% (skor 2) dan penyembuhan epitel mencapai 60 % (skor 1) dan 40% (skor 2).

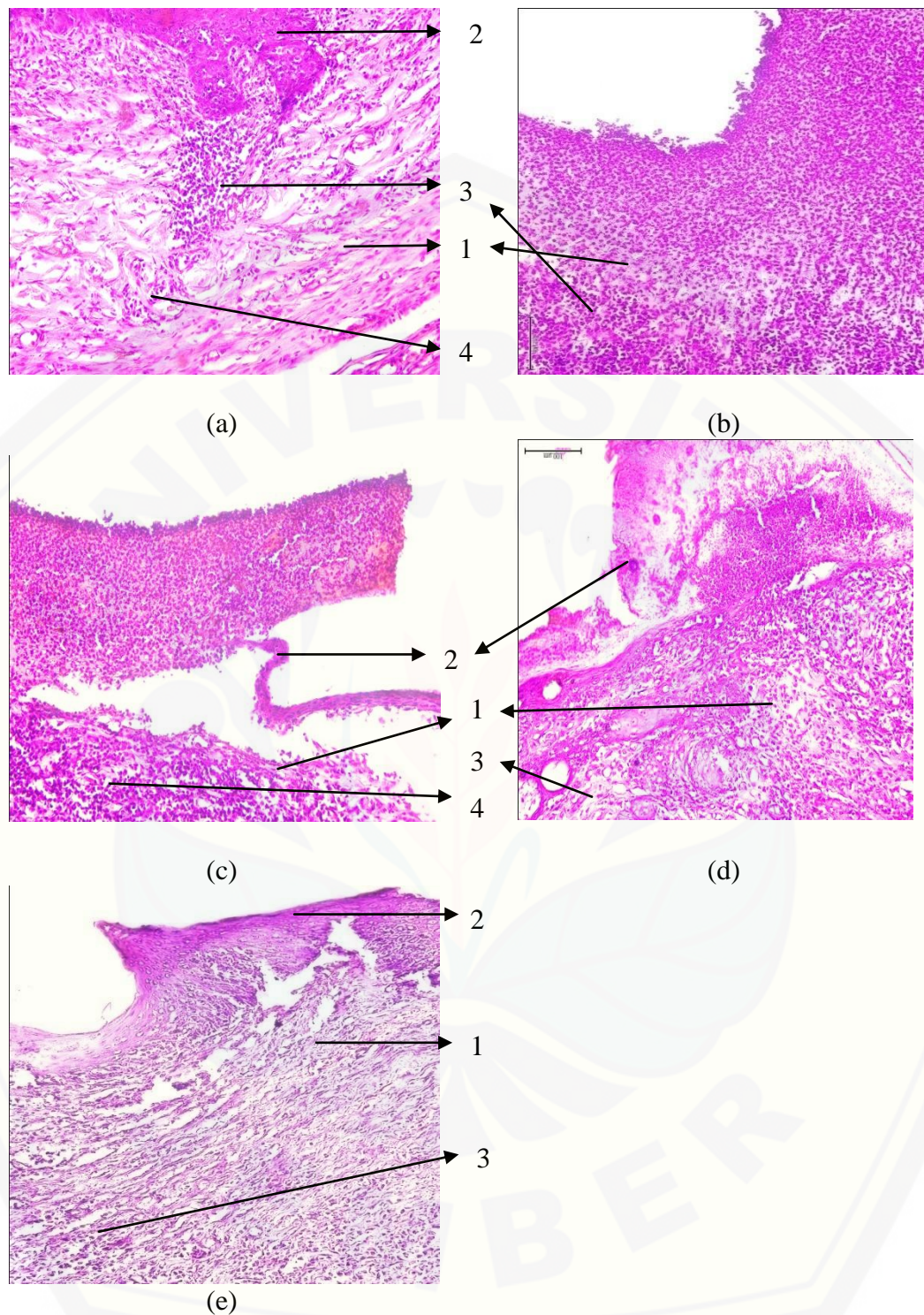
Pada gambar 4.1 terlihat gambaran HPA penyembuhan kulit tikus diabetes dengan pewarnaan *Hematoxylin-eosin* pembesaran 40x pada masing-masing kelompok, dimana pada kelompok kontrol negatif terlihat proses pembentukan jaringan ikat yang masih rendah, kolagen terbentuk tipis dan reepitelisasi belum sempurna (Gambar 4.1.b.). Pada gambar 4.1.a (kelompok kontrol positif) terlihat reepitelisasi sempurna walaupun masih tidak beraturan, kolagen sudah terbentuk tetapi masih tebal, jaringan granulasi yang berisi sel-sel radang limfosit masih terlihat dominan. Pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak 100 mg terlihat gambaran HPA nya menyerupai gambaran HPA kelompok kontrol positif dimana reepitelisasi terbentuk sempurna walaupun masih tidak beraturan, kolagen terlihat sudah mulai menipis dan teratur, tetapi jaringan granulasi dan sel radang masih terlihat jelas (Gambar 4.1.c).

Pada gambar 4.1.D. menunjukkan gambaran HPA pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak binahong 200 mg terlihat proses penyembuhan dimana kolagen dan jaringan ikat terbentuk tebal tetapi epitel belum terbentuk sempurna (masih diskontinuitas / terpisah) dan populasi limfosit masih terlihat padat didalam jaringan granulasi. Gambar 4.1.E yaitu gambaran HPA kelompok perlakuan yang diberi binahong 400 mg menunjukkan proses penyembuhan, dimana kontinuitas epitel mulai terlihat, kolagen dan jaringan ikat terbentuk padat dan populasi limfosit didalam jaringan mulai menurun dalam bentuk fokus-fokus yang terlokalisir.



Gambar 4.1. Histopatologi kulit tikus dengan pewarnaan Haematoxylin-Eosin pembesaran 40x. (a) kontrol positif (b) kontrol negatif (c) ekstrak daun binahong dosis 100 mg (d) ekstrak daun binahong dosis 200 mg (e) ekstrak daun binahong dosis 400 mg. (1) kolagen (2) epitel (3) jaringan ikat dan jaringan granulasi (4) limfosit.





Gambar 4.2. Histopatologi kulit tikus dengan pewarnaan Haematoxylin-Eosin pembesaran 400x. (a) kontrol positif (b) kontrol negatif (c) ekstrak daun binahong dosis 100 mg (d) ekstrak daun binahong dosis 200 mg (e) ekstrak daun binahong dosis 400 mg. (1) kolagen (2) epitel (3) jaringan ikat dan jaringan granulasi (4) limfosit.

Data skoring penyembuhan luka diabetik dianalisis dengan menggunakan uji nonparametrik *Kruskal Wallis* dan didapatkan perbedaan bermakna antar keenam kelompok pada parameter sel epitel dengan nilai  $p=0,007$ , jaringan ikat dengan nilai  $p=0,016$  dan limfosit dengan nilai  $p=0,05$  tetapi pada parameter sel kolagen menunjukkan hasil yang tidak berbeda signifikan dengan nilai  $p=0,97$ , dimana  $p<0,005$  berarti terdapat perbedaan yang signifikan. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk melihat adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol kelompok dosis pada tiap parameter yang digunakan. Data hasil analisis menggunakan uji *Mann Whitney* pada tabel 4.3.

Hasil uji *Mann Whitney* pada tabel 4.2 menunjukkan perbedaan tingkat penyembuhan pada masing-masing kelompok secara statistik pada setiap parameter penyembuhan epitel yaitu terlihat adanya perbedaan bermakna antara kelompok P2 dan K (+) dan antara kelompok K (+) dan K (-) sedangkan pada parameter jaringan ikat juga terlihat adanya perbedaan yang bermakna antara seluruh kelompok perlakuan (P1, P2 dan P3) dengan K (-) tetapi tidak bermakna dengan kelompok K (+). Sedangkan proses penyembuhan parameter infiltrasi limfosit terlihat perbedaan yang bermakna (K (-), P1 dan P2) dengan kontrol positif dan tidak ada perbedaan yang bermakna pada kelompok perlakuan P3

Tabel 4.3. Nilai  $p$  pada uji Mann Whitney antar kelompok

Parameter	Perlakuan	K (+)	K(-)	P1	P2	P3
Epitel	K (+)					
	K (-)	0,014 (*)				
	P1	0,513	0.015 (*)			
	P2	0,026 (*)	0.866	0.028 (*)		
	P3	1.000	0,014 (*)	0.513	0,032 (*)	
Jaringan Ikat	K (+)					
	K (-)	0,031 (*)				
	P1	0,513	0,042 (*)			
	P2	0,322	0,020 (*)	0,120		
	P3	0,221	0,011(*)	0,072	0,905	
Limfosit	K (+)					
	K (-)	0,020 (*)				
	P1	0,031 (*)	0,549			
	P2	0,020 (*)	0,655	0,322		
	P3	0,513	0,011 (*)	0,014 (*)	0,016 (*)	

(\*) : berbeda bermakna

## 4.2 PEMBAHASAN

Penyembuhan luka merupakan suatu proses normal sebagai respon adanya cedera pada jaringan kulit dan merupakan proses biologis yang kompleks dan dinamis, di mana faktor-faktor yang terlibat adalah regenerasi dan perbaikan kerusakan jaringan untuk digantikan dengan jaringan baru yang sehat (Miladiyah dan Prabowo, 2012). Setelah cedera, respon inflamasi terjadi dan sel-sel di bawah dermis mulai meningkatkan produksi kolagen serta jaringan epitel akan mengalami regenerasi. Pada penderita diabetes melitus proses penyembuhan luka lebih lama dibandingkan dengan luka biasa, hal ini terjadi karena pada penderita diabetes terdapat hambatan sirkulasi darah dan oksigen akibat peningkatan kadar glukosa darah, sehingga terjadi penurunan sintesis kolagen dan fibronectin (Nayak, 2006).

Penyembuhan luka yang lama pada penderita diabetes juga terjadi karena adanya hubungan gangguan fungsi sel, ketidakseimbangan inflamasi, protease, sitokin, dan *growth factor*. Pada ulkus kaki diabetik terjadi peningkatan apoptosis fibroblas, dan penurunan proliferasi sel fibroblas dan pemanjangan reaksi inflamasi, terbukti dengan adanya neutrofil granulosit dalam jumlah besar di dalam luka. Neutrofil granulosit mensekresi sitokin proinflamasi terutama *TNF- $\alpha$*  dan *interleukin-1  $\beta$  (IL-1 $\beta$ )*. Kedua sitokin ini merangsang sintesa *matrix metalloprotease (MMP)*, menyebabkan degradasi matrik protein dan *growth factor* sehingga penyembuhan luka menjadi terputus dan tidak terkoordinasi (Lobmann *et al.*, 2005). *VEGF* merupakan salah satu *growth factor* yang memiliki peran penting dalam neovaskularisasi penyembuhan luka (Brem *et al.*, 2009). *VEGF* akan meningkatkan proses angiogenesis pada pembentukan jaringan granulasi (Frank *et al.*, 1995). Jaringan granulasi luka terdiri dari fibroblast, kolagen, edema, dan pembuluh darah baru yang kecil. Fibroblast adalah sel jaringan ikat yang bertanggung jawab untuk deposisi kolagen yang diperlukan untuk memperbaiki cedera jaringan. Kolagen merupakan komponen utama dari jaringan ekstra selular, yang memberikan integritas, kekuatan dan struktur (Nayak, 2006).

Pemeriksaan histopatologi ulkus diabetik menunjukkan gambaran struktur kulit yang jelas dan menampakkan warna yang ungu yang timbul karena respon

inflamasi yang terjadi hingga tahap terbentuknya jaringan ikat. Salah satu pemicu terbentuknya jaringan ikat adalah banyaknya jaringan nekrosis yang kemudian diikuti dengan pembentukan jaringan granulasi (Cheville, 1999). Pada penelitian ini jenis luka yang dibuat pada tikus Wistar adalah luka iris. Dengan pemberian ekstrak daun binahong secara topikal diharapkan proses penyembuhan luka dapat menjadi lebih cepat bila dibandingkan dengan dibiarkan sembuh secara alami atau yang hanya diberikan salep mupirocin.

Penyembuhan luka ditandai dengan penutupan permukaan luka, dan mempercepat periode epitelisasi dan kontraksi kolagen dan kepadatan jaringan ikat (Dovi *et al.*, 2003; Nayak, 2006). Parameter lain yang menandakan terjadinya proses penyembuhan adalah ada tidaknya infeksi (Lipsky *et al.*, 2007). Proses penyembuhan luka dibagi menjadi tiga fase penyembuhan luka, yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase remodelling (Greenhalgh, 1998). Pada fase inflamasi terjadi peningkatan aliran darah ke daerah luka. Bersamaan dengan aliran darah, terjadi juga aliran fibrin untuk menutup pembuluh darah yang luka dan melindungi adanya infeksi bakteri. Pada fase ini, juga terjadi pengerahan sel darah putih, monosit, dan makrofag yang berfungsi untuk memakan mikroorganisme dan sisa sel-sel yang mati (Harvey, 2005).

Fase berikutnya adalah fase proliferasi, pada fase ini fibroblas membentuk kolagen dan jaringan ikat. Fase ini menunjukkan terjadinya proses penyembuhan yang dimulai dengan peningkatan pertumbuhan kapiler dan pertumbuhan jaringan granulasi dari dasar luka (Harvey, 2005; Schultz, *et al.*, 2005). Proses granulasi berjalan seiring dengan proses reepitelisasi. Pada proses reepitelisasi terjadi migrasi dan proliferasi dari fibroblas yang akan mengeluarkan *keranocyte growth factor*, sitokin dan reseptor yang akan memproduksi metalloprotein matriks dan inhibitor. Matriks ekstraselular kemudian akan mensintesis fibronectins, vitronectin, dan kolagen. Dengan sintesa kolagen oleh fibroblas, pembentukan lapisan dermis ini akan disempurnakan dengan mengatur keseimbangan jaringan granulasi dan dermis. Proses penyembuhan yang terjadi pada kelompok dosis maupun kelompok kontrol berada pada fase proliferasi yang ditandai dengan adanya jaringan granulasi dan proses reepitelisasi yang terjadi hingga pada tahap

akhir proses penyembuhan. Fase selanjutnya adalah fase remodeling yang berlangsung di atas 21 hari, pada fase ini terjadi ikatan kolagen tebal yang mengawetkan jaringan bekas luka dan proses epitelisasi yang melapisi kulit serta terfokusnya infiltrasi sel radang limfosit.

Berdasarkan hasil pengamatan secara HPA kulit tikus diperoleh tingkat penyembuhan luka yang berbeda antara kelompok kontrol (K (+) dan K (-)) yang dengan prosentase sebesar 60% pada epitel dan jaringan ikat (skor 1); 60% pada limfosit (skor 2) serta sebesar 80% pada kolagen (skor 2) dari total keseluruhan sampel. Sedangkan pada kelompok kontrol negatif, sebagian besar epitel belum mengalami reepitelisasi sempurna (80%) meskipun kolagen berada pada skor 1 (100%). Berdasarkan prosentase tersebut dapat disimpulkan bahwa proses penyembuhan yang terjadi pada kelompok K (+) memberikan dampak yang positif dibandingkan dengan K (-).

Pada kelompok perlakuan yang diberik ekstrak binahong (dosis 100 mg, 200 mg, dan 400 mg), pemberian ekstrak binahong dosis 100 mg (P1) menunjukkan respon penyembuhan luka dengan prosentase sebagai berikut 80% (epitel: skor 1), 60 % (kolagen dan limfosit: skor 1) dan 80% (jaringan ikat: skor 1). Pemberian ekstrak binahong dosis 200 mg (P2) menunjukkan respon penyembuhan luka dengan prosentase sebesar 75 % (epitel: skor 0; kolagen dan jaringan ikat: skor 2; dan limfosit: skor 1). Tingkat penyembuhan luka pada dosis 400 mg (P3) menunjukkan prosentase penyembuhan luka yang lebih baik dibandingkan P1 dan P2 yaitu sebesar 60% pada epitel (skor 1), 60% pada kolagen (skor 2), 80% pada jaringan ikat (skor 2) dan limfosit (skor 2). Jadi, dapat dikatakan bahwa semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin cepat tingkat penyembuhan luka. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong yang diberikan secara topikal mampu meningkatkan proses penyembuhan luka.

Pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak binahong dosis 200 mg (P2) menunjukkan respon penyembuhan yang lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok P1 apabila diamati secara histopatologi, akan tetapi proses penyembuhan luka diabetik yang diamati secara makroskopik menunjukkan hasil yang positif yaitu dengan prosentase 56,06%. Pada kelompok dosis 200 mg menunjukkan adanya proses penyembuhan luka yang bersifat sekunder yang ditandai dengan adanya infeksi, dimana prosentase pembentukan kolagen dan jaringan ikat telah berada pada skor 2 dengan prosentase 75% meskipun pembentukan kolagen rendah dan infiltrasi sel radang masih dominan.

Kemampuan daun binahong dalam penyembuhan luka disebabkan daun binahong mengandung senyawa terpenoid saponin, alkaloid, triterpenoid dan steroid (Aini, 2012). Ekstrak n-heksan positif mengandung senyawa golongan triterpenoid (Murdianto, 2012). Senyawa terpenoida merupakan senyawa hidrokarbon yang berasal dari molekul isoprena dan kerangka karbonnya dibangun oleh penyambungan dua atau lebih satuan C5. Terpenoida terdiri atas beberapa macam senyawa, mulai dari komponen minyak atsiri, yaitu monoterpenoida dan seskuiterpenoida yang mudah menguap (C10 dan C15), diterpena yang lebih sukar menguap (C20), sampai senyawa yang tidak menguap, yaitu triterpenoida dan sterol (C30), serta pigmen karotenoida (C40) (Sameeno, 2007; Raaman, 2006).

Terpenoid merupakan suatu senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antimikroba (Scortichini dan Pia, 1991). Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri oleh senyawa terpenoid yaitu terpenoid akan bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya substansi, akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan, 1999).

Triterpenoid merupakan kelompok senyawa bahan alam turunan terpenoid dengan kerangka karbon yang dibangun oleh enam C-5 yang di sebut unit isopren (2-metilbuta-1,3-diene) (Nassar *et al.*, 2010). Triterpenoid mempunyai peran

untuk membantu proses penyembuhan luka melalui sifatnya sebagai antimikroba, antioksidan dan astringen pada kontraksi luka dan peningkatan terbentuknya proses epitelisasi (Scortichini dan Pia, 1991; Saroja *et al.*, 2012). Senyawa lain yang terkandung dalam daun binahong adalah steroid dan asam oleanolik. Steroid merupakan senyawa yang memiliki kerangka dasar triterpena asiklik (Astuti *et al.*, 2011). Fungsi steroid dalam menyembuhkan luka adalah meningkatkan deposisi kolagen, reepitelisasi, angiogenesis dan kontraksi luka pada fase proliferasi (John *et al.*, 2003). Sedangkan fungsi dari asam oleanik yang terkandung dalam daun binahong memiliki manfaat sebagai anti-inflamasi (Vasconcelos *et al.*, 2006). Dari berbagai kandungan tersebut dapat disimpulkan bahwa daun binahong dapat mempercepat penyembuhan luka dengan menghambat infeksi dan mempercepat proses inflamasi. Selain itu, daun binahong dapat membantu pertumbuhan sel-sel yang beregenerasi pada daerah luka dan juga melalui jalur epitelisasi yang pada akhirnya akan membantu kontraksi penutupan luka.



## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak n-heksana daun binahong (*Anredera cordifolia.*) mampu membantu proses penyembuhan luka pada tikus yang diinduksi aloksan.
2. Ekstrak daun binahong pada dosis 400 mg memiliki aktivitas yang sama dengan kontrol positif berdasarkan dari parameter terjadinya penyembuhan luka.

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan peneliti adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pengaruh ekstrak daun binahong pada fase-fase mekanisme penyembuhan luka kulit tikus yang lebih tepat, dengan mengamatinya lebih sering dari hari ke hari untuk mengetahui lebih jelas dan rinci perubahan-perubahan yang terjadi secara histopatologi.
2. penelitian dapat digunakan sebagai acuan penelitian selanjutnya dan memformulasi dalam bentuk sediaan topikal agar dapat bekerja efektif sebagai sediaan persembuhan luka.

**DAFTAR PUSTAKA**

**Buku**

- American Diabetes Association. 2003. *Standarts of Medical Care For Patients With Diabetes Mellitus*. Clinical Diabetes.
- Ansel, H. C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Jakarta: UI Press
- Cheville, N. F. 1999. *Introduction to Veterinary Pathology*. Ed ke-21. United States Of America: Iowa State University Press.
- Cavallerano, O. D. dan Jerry. 2009. *Optometric Clinical Practice Guideline Care Of The Patient With Diabetes Mellitus Reference Guide for Clinician*. Amerika : American Optometric Association.
- Cowan, M. 1999. *Plant Product as Antimicrobial Agent*. *Clinical Microbiology Reviews*. 12 (4). 564-582.
- Dalimartha S. 2003. *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Diabetes Mellitus*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Decroli, E., Karimi, J., Manaf, A., dan Syahbuddin, S. 2008. *Profil Ulkus Diabetik pada Penderita Rawat Inap di Bagian Penyakit Dalam RSUP Dr M. Djamil Padang*. *Majalah Kedokteran Indonesia* Volume: 58, Nomor: 1. Padang : Fakultas Kedokteran Universitas Andalas
- Dellman, H. D. dan Brown, E. M. 1992. *Buku Teks Histologi Veteriner II*, 3rd. UI Press:Jakarta.
- Ditjen POM. 2000. *Metode Analisis PPOM*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Djokomoeljanto. 1997. *Tinjauan Umum Tentang Kaki Diabetes*. Dalam : Djokomoeljanto, dkk, editor, *Kaki Diabetik Patogenesis dan penatalaksanaanya*, Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro.
- Erman, F. 1998. *Profil Diabetes rawat inap di SMF Penyakit Dalam RSUP H.Adam Malik Medan*, Medan: Kongres Persadia
- Ganong, W. F. 2000. *Fisiologi Kedokteran*, terjemahan Adrianto, P. Jakarta: EGC.
- Gavin, M. dan Zachary. 2007. *Pathologic Basis Veterinary Disease*. Missouri: Mosby Elseiver.

- Guyton, A. C. dan Hall, J. E. 2001. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, Alih bahasa: Setiawan, I. dan Santoso, A. Jakarta: EGC.
- Hanafiah, K. A. 2001. *Rancangan Percobaan*. Jakarta : Rajawali Press.
- Harborne, J. B. 1996. *Metode Fitokimia*. Bandung:Institut Teknologi Bandung.
- Harvey, C. 2005. Wound Healing. *Orthopaedic Nursing*. 24(2): 143-159
- John, L., Burns, M.D., John, S., Mancoll, M.D., Linda, G., dan Phillips, M. D. 2003. Impairments To Wound Healing. *Division of Plastic Surgery, University of Texas Medical Branch*, 6124-47–56.
- Junquiera, L. C. 1998. *Histologi Dasar Edisi ke-8*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Junqueira, L. C. dan Carneiro, J. 1982. *Histologi Dasar (Basic Histology)*. Edisi III. Alih Bahasa Adji Dharma. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hal. 255.
- Kevin, W. 1999. *Antimicrobial Therapy for Diabetic Foot Infection*. Halaman 85 – 94
- Kozier, B., Erb, G., Blais, K. dan Wilkinson, J. M. 1995. *Fundamentals of nursing: concepts process and practice*. Fourth edition. California: Addison Wesley.
- Mc Gavin and Zachary. 2007. *Pathologic Basis Veterinary Disease*. Missouri: Mosby Elseiver.
- Miladiyah, I. dan Prabowo, B. R. 2012, *Ethanollic Extract of Anredera cordifolia (Ten.) Stenis Leaves Improved Wound Healing in Guinea Pig*. Universitas Medan. Halaman 4-11.
- Morton, J. J. P. and Malone. 1972. Evaluation of Vulnerary Activity by An Open Wound Procedure In Rats. *Arc Internat Pharmacodyn* (196): 117-128.
- Notoatmodjo, S. 1987. *Metode Penelitian Kesehatan Edisi Revisi*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Perdanakusuma, S. D. 2007. Anatomi Fisiologi Kulit dan Penyembuhan Luka. Surabaya: *Plastic Surgery Departement Airlangga University School of Medicine*. [11 September 2012].
- Price, A. dan Wilson, L. M. 1992, *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Jakarta: EGC. Halaman 57-76.

- Punopas, K. G., Chitsomboon, B., dan Nakkiew, P. 2003. *The Study of Antibacterial Activity of some Medicinal Plants in Lamiaceae Family*. Thailand: Suranaree University of Technology.
- Raaman, N. (2006). *Phytochemical Techniques..* New Delhi: New India Publishing Agency
- Riset Kesehatan Dasar. 2013. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan DepKes RI, Laporan Nasional Riset Kesehatan Dasar Tahun. Jakarta.
- Schultz, G. S., Ladwig, G., and Wysocki, A. 2005. *Extracellular matrix: review of its roles in acute and chronic wounds*. World Wide Wound.
- Sjamsuhidayat, R. dan Wim, J. D. 2004. *Buku Ajar Ilmu Bedah edisi 2*. Jakarta: EGC.
- Smeltzer, C., Suzanne., dan Bare, G.B. 2002. *Buku Ajar Keperawatan Medikal – Bedah*. Alih Bahasa: dr. H. Y. Kuncara. Jakarta: EGC
- Sudoyo, A.W., Setiyohadi, B., AlwiI, S. M., dan Setiati S. 2006. *Buku ajar Ilmu Penyakit Dalam Edisi 4*. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam.
- Sumartiningsih, S. 2011. *The Effect of Binahong to Hematoma*. World Academy of Science, Engineering and Technology: Semarang.
- Suntoro, S. H. 1983. *Metode Pewarnaan*. Jakarta: Penerbit Bhratara Karya Aksara.
- Suyono, S. 2005. *Patofisiologi Diabetes Mellitus, Penatalaksanaan Diabetes Mellitus Terpadu*. Jakarta: Penerbit FKUI.
- Taylor, C., Lillis, C. dan LeMone, P. 1997. *Fundamental of Nursing : The Art and Science of Nursing Care*. Edisi 3. New York: Lippincott.
- Tjay, T. H. dan Rahardja, K. 2002. *Obat – Obat Penting*. Edisi Kelima. Jakarta: . Penerbit Elex Media Komputindo.
- Tortora, G. J. 1986. *Principles of Human anatomy*. New York : Harper and Raw Publisher.
- Tortora, G.J. dan Derrickson, B.H. 2009. *Principles of Anatomy and Physiology. Twelfth Edition*. Asia: Wiley.
- Vasconcelos, M A L., Royo, V.A., Ferreira, D. S., Crotti, A. E. M., Silva, M. L. A., dan Carvalho, J. C. T. 2006. *In vivo Analgesic and Anti-Inflammatory Activity of*

*Ursolic Acid and Oleanolic Acid from Miconia albicans (Melastomataceae)*. Z. Naturforsch. 61c(7-8): 477-82.

Wagner, F., Levin, M. dan O'Neal, L. 1983. *Supplement: algorithms of foot care*. In *The Diabetic Foot, Edisi 3*. St. Louis, MO, CV. Mosby

Waspadji, S. 2006. *Diabetes mellitus di Indonesia*, Dalam : Aru W, dkk, editors, *Ilmu Penyakit Dalam*, Jilid III, Edisi 4. Jakarta: FK UI.

World Health Organization. 2005. *Diabetes Mellitus : Report of a WHO Study Group*: Geneva.

### **Tidak Diterbitkan**

Aini, N. A. 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: Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Aulia, N. F. 2008. *Pola Kuman Aerob dan Sensitifitas Pada Gangren Diabetik*. Tidak Diterbitkan. Tesis. Sumatera: Program Pasca Sarjana Universitas Sumatera Utara.

Kumalasari, N. D. 2005. *Pengaruh Berbagai Dosis Filtrat Daun Putri Malu (Mimosa pudica) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus (Rattus norvegicus)*. Skripsi. Jurusan MIPA. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Malang: Universitas Muhammadiyah.

Rachmawati, S. 2008. *Study Makroskopi, Mikroskopi dan Skrining Fitokimia Daun Anredera cordifolia (Ten.) Steenis*. Thesis. Surabaya: AirlanggaUniversity.

Setiaji, A. Yuliani, R., dan Da'i, M. 2009. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat dan Etanol 70% Rhizoma Binahong (Anredera cordifolia (Tenore) Steenis) Terhadap Staphylococcus aureus ATCC25923 dan Escherichia coli ATCC 11229 serta Skrining Fitokimianya*. Skripsi. Surakarta: Fakultas Farmasi UMS.

Novitasari, 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 Negeri Jember.

**Terbitan Berkala**

- Astuti, S. M. 2012. Skrining Fitokimia dan Uji Aktifitas Antibiotika Ekstrak Etanol Daun, Batang, Bunga dan Umbi Tanaman (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis). Malaysia: Universitas Malaysia Pahang (UMP).
- Astuti, S. M., Sakinah, M. A. M., Andayani, R. B. M., dan Awwaludin, R. 2011. Determination of Saponin Compound From *Anredera cordifolia* (Ten) Steenis Plant (Binahong) To Potential Treatment For Several Diseases. *Journal of Agricultural Science*. Vol. 3, No. 4.
- Boulton, A. J., Kirsner, S., dan Vileykite, L. 2004. Neuropathic diabetic foot ulcers. *N Engl J Med.*;351:48-55.
- Brem, H., Kodra, A., Golinko, M.S., Entero, H., Stojadinovic, O., Wang, V.M., Sheahan, C.M., Weinberg, A.D., Woo, S.L.C., Ehrlich H.P. dan Tomic-Canic, M. 2009. Mechanism of Sustained Release of Vascular Growth Factor in Accelerating Experimental Diabetic Healing. *Journal of Investigative Dermatology*. 129:2275-87.
- Dovi, J. V., He, L.K. dan Dipietro, L. A. 2003. Accelerated wound closure in neutrophil-depleted mice. *Journal of Leukocytes Biology*. 73. 448–55.
- Gorus, F. K., Mallaise, W. J., dan Pieleers, D. G. 1982. Selective Uptake of Alloxan by Pancreatic B-Cell. *Biochemical Journal*208: 513-515.
- Greenhalgh, D. G. 1998. The role of apoptosis in wound healing. *Int J Biochem Cell Biol*. 30(9):1019-30.
- Lipsky, P. Giordano, S. Choudhri, and J. Song. 2007. Treating diabetic foot infections with sequential intravenous to oral moxifloxacin compared with piperacillin-tazobactam/ amoxicillin-clavulanate. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 60 (II): pp. 370–6.
- Manoi, F. 2009. Binahong (*Anredera cordifolia*) (Ten) Steenis Sebagai Obat. *Jurnal Warta Penelitian Dan Pengembangan Tanaman Industri*. Volume 15 Nomor 1:3
- Maritim, A. C., Sanders, R. A., dan Watkins, J. B. 2003. Diabetes, Oxidative Stress, and Antioxidants. *J Biochem & Molekular Toxicology* 17(1): 24-38.
- Murdianto, A. R., Enny, F., dan Dewi, K. 2012. Isolasi, Identifikasi Serta Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid Dari Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steen) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Semarang: Universitas Diponegoro.

- Nayak, S. 2006. Influence of Ethanol Extract of *Vinca rosea* on Wound Healing in Diabetic Rats. *J Biol Scie* 6: 51-55. [15 September 2012]
- Nassar, Zeyad., Abdalrahim., dan Amin M.S. 2010. The Pharmacological Properties of terpenoid from *Sandoricum Koetjape*. *Journal Medcentral*. Hal 1-11.
- Saroja, M., Santhi, R., dan Annapoorani, S. 2012. Wound Healing Activity of Flavonoid Fraction of *Cynodon Dactylon* in Swiss Albino Mice. *International Research Journal of Pharmacy* 3(2). Hal 230-231.
- Scortichini, M. dan Pia, R. M. 1991. Preliminary in vitro evaluation of the antimicrobial activity of terpenes and terpenoids towards *Erwinia amylovora* (Burrill). *J Appl Bacteriol*. 71:109-112.
- Selawa, W., Runtuwene, M. R. J., dan Citraningtyas, G. 2013. Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.)Steenis.). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. Volume 2 : 2302 – 2493.
- Singer, A. J. dan Clark, R. A. F. 1999. Cutaneous Wond Healing. *N England J Med* : 341:738-154.
- Steven L. Percival, PhD., Katja E. Hill, PhD., David W. Wiliams, PhD., Samuel J. Hooper, PhD., dan John W. Costerton, PhD. Tanpa Tahun. Wound Repair and Regeneration. *The International Journal Of Tissue Repair and Regeneration*, 20: 647-657
- Tshikalange, T.E., Meyer., dan Husein, A. A. (2005). Antimicrobial activity, toxicity and the isolation of a bioactive compound from plants used to treat sexually transmitted diseases, *Journal of Ethno pharmacology*, 96, pp 515-519. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2004.09.057>
- Winarsih, W. Wintarsih, E. H., Estuningsih, S. D., dan Widhyari. 2009. Kajian Aktivitas Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma tonga*) Dalam Proses Persembuhan Luka Pada Mencit Sebagai Model Penderita Diabetes. *Prosiding Seminar Hasil-Hasil Penelitian IPB*.

### Internet

- Mus. 2008. Informasi Spesies Binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. <http://www.plantamor.com>. [11 September 2012].
- Sameeno, B. (2007). Chemistry of Natural Compounds. 10.09.2011. <http://nsdl.niscair.res.in/bitstream/123456789/700/1/revised+terpenoids.pdf>. [10 September 2011]

Suharmiati. 2003. *Pengujian Bioaktivitas Anti Diabetes Mellitus Tumbuhan Obat*. Cermin Dunia Kedokteran No. 140, 2003.

[http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/06\\_PengujianBioaktivitasAntiDiabetes.pdf](http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/06_PengujianBioaktivitasAntiDiabetes.pdf). [7 September 2012].

Wunderlin, R. P. dan Hansen, B. F. 2008. Atlas of Florida Vascular Plants.

<http://florida.plantatlas.usf.edu/>.





**LAMPIRAN**

**A. VOLUME MAKSIMAL PEMBERIAN LARUTAN SEDIAAN UJI PADA BEBERAPA HEWAN UJI**

Jenis hewan uji	Volume maksimal (ml) sesuai jalur pemberian				
	i.v	i.m	i.p	s.c	p.o
Mencit (20-30 g)	0,5	0,05	1,0	0,5-1,0	1,0
Tikus (100 g)	1,0	0,1	2-5	2-5	5,0
Hamster (50 g)	-	0,1	1-2	2,5	2,5
Marmut (250 g)	-	0,25	2-5	5,0	10,0
Kelinci (2,5 kg)	5-10	0,5	10-20	5-10	20,0
Kucing (3 kg)	5-10	1,0	10-20	5-10	50,0
Anjing (5 kg)	10-20	5,0	20-50	10,0	100,0

Dikutip dari: Ritschell. 1974. *Laboratory Manual of Biopharmaceutics*.  
Hamilton: Drug Intelligence Publication.

**B. PERHITUNGAN****B. 1 Perhitungan Randemen Ekstrak**

Bobot serbuk daun binahong = 440 gram

Perbandingan bobot serbuk daun binahong dengan n-Heksana adalah 1 : 7,5

Sehingga volume etanol 96% yang dibutuhkan

$$\begin{aligned} &= \frac{7,5}{1} \times 440 \text{ gram} \\ &= 3.300 \text{ ml} \end{aligned}$$

Setelah dirotavapor diperoleh ekstrak kental sebanyak 10,55 gram

Sehingga rendemen yang diperoleh yaitu:

$$\begin{aligned} &= \frac{10,55 \text{ gram}}{440 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 2,40\% \end{aligned}$$

Jadi rendemen yang diperoleh adalah 2.40%

**B. 2 Perhitungan Aloksan Dosis 150 mg/kg bb**

Aloksan diberikan secara i.p dengan dosis 150mg/ kg bb

Jika berat tikus 200 mg/ kg bb dan volume yang diberikan sebesar 0.2 ml, maka:

$$150 \text{ mg} \times \frac{200 \text{ mg}}{1000\text{mg}} = 30 \text{ mg dalam } 0,2 \text{ ml}$$

Jika larutan aloksan yang dibuat sebesar 5ml maka bobot aloksan yang ditimbang adalah:

$$\begin{aligned} \frac{30 \text{ mg}}{0,2 \text{ ml}} &= \frac{x \text{ mg}}{5 \text{ ml}} \\ x &= 750 \text{ mg} \end{aligned}$$

Jadi bobot aloksan yang ditimbang adalah 750 mg dalam 5 ml larutan NaCl 0.9%.

**C. DATA HASIL PENELITIAN****C. 1 Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah**

Kelompok Hewan Uji		Kadar Glukosa Sebelum Induksi	Kadar Glukosa Setelah Induksi	Kadar Glukosa Akhir
Kontrol Negatif	T1	87	421	407
	T2	116	415	381
	T3	124	389	380
	T4	94	357	351
	T5	97	375	366
Kontrol Positif	T1	87	421	417
	T2	116	415	392
	T3	124	389	380
	T4	94	357	350
	T5	97	375	370
Dosis 100 mg	T1	102	417	402
	T2	115	362	360
	T3	84	397	385
	T4	94	415	412
	T5	97	402	395
Dosis 200 mg	T1	89	387	382
	T2	101	354	351
	T3	105	423	419
	T4	98	409	397
	T5	92	369	360
Dosis 400 mg	T1	121	376	367
	T2	92	432	425
	T3	93	421	419
	T4	114	380	371
	T5	108	398	395

## C. 2 Data Pemeriksaan Histopatologi Luka Tikus

### C.2.1 Laporan Hasil Pemeriksaan Patologi Anatomi

**Laporan Hasil Pemeriksaan Patologi Anatomi**

Nama : Ida Marwa  
Sediaan : Kulit tikus  
Pewarnaan : HE  
Tanggal Pemeriksaan : 24 Juni 2015  
Pemeriksa : Prof.drg.Mei Syafriadi M.D.Sc., Ph.D

**Metode Pemeriksaan**  
Metode skoring derajat penyembuhan luka pada pemeriksaan ini dilakukan menurut metode Mc Gavin dan Zachary (2007) yang telah dimodifikasi. Pemeriksaan dilakukan di Fakultas Kedokteran Gigi Bagian Biomedik Laboratorium Patologi Anatomi.

**I. Kelompok Kontrol Negatif**

**Gambaran histopatologi:**  
Pada slide 1, 2, 3, 4, 5 menunjukkan terbentuknya kolagen tebal dengan pembentukan epitel yang belum sempurna dengan bentuk yang tidak teratur. Terlihat infiltrasi sel radang limfosit pada slide 2 dan 3 dan jaringan granulasi masih terlihat padat pada slide 2 dan 3. Pada slide 4 dan 5 terlihat adanya pus.

**Diagnosa/kesan:**  
Slide no 1, 2, 3, 4, dan 5 : Respon penyembuhan luka rendah, dan slide 4, 5 menunjukkan adanya infeksi sekunder.

**II. Kelompok Kontrol Positif**

**Gambaran histopatologi:**  
Pada slide 1, 2, 3, 4, 5 menunjukkan adanya kelenjar minyak dimana epitel telah mengalami pembentukan yang sempurna pada slide 1 dan 3. Pada slide 1, 2, 4 dan 5 kolagen telah mengalami penebalan dan pada ke-5 slide menunjukkan adanya fibrous, jaringan parut diisi limfosit pada tempat tertentu (focus)

**Diagnosa/kesan:**  
Slide no 1, 2, 3, 4, dan 5 : Respon tingkat penyembuhan luka baik, tanpa ada tanda-tanda komplikasi infeksi.

**III. Kelompok Perlakuan Dosis 100 mg**

**Gambaran histopatologi:**  
Pada slide 1 menunjukkan adanya kelenjar minyak dimana epitel telah mengalami pembentukan yang sempurna. Pada slide 1 dan 5 kolagen telah mengalami penebalan. Terlihat adanya pembentukan jaringan fibrous, jaringan granulasi terlihat masih dominan dengan adanya infiltrasi sel radang limfosit padat. Pada slide 4 ditemukan adanya pus/ nanah.

**Diagnosa/kesan:**

Slide no 1, 2, 3, 4, dan 5 : Respon tingkat penyembuhan masih rendah  
Slide no 4 : Terjadi komplikasi infeksi sekunder

**IV. Kelompok Perlakuan Dosis 200 mg****Gambaran histopatologi:**

Pada slide 1 menunjukkan adanya pembentukan epitel (reepitelisasi) yang belum terbentuk sempurna. Pada slide 2, 3 dan 4 kolagen didaerah subcutan telah mengalami penebalan disertai adanya jaringan fibrous, jaringan granulasi dan adanya infiltrasi sel radang limfosit dominan. Pada slide 3 dan 4 ditemukan adanya pus/ nanah.

**Diagnosa/kesan:**

Slide no 1, 2, 3, 4, dan 5 : Respon tingkat penyembuhan masih rendah  
Slide no 2 dan 4 : Terjadi komplikasi infeksi sekunder  
Slide no 5 : Artefak (tidak terbaca)

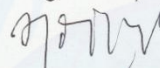
**V. Kelompok Perlakuan Dosis 400 mg****Gambaran histopatologi:**

Pada slide 1, 2, 3, 4, 5 menunjukkan adanya pembentukan kelenjar minyak dimana epitel telah mengalami pembentukan yang sempurna pada slide 1 dan 2. Pada slide 1, 3 dan 4 kolagen yang menebal dan pembentukan jaringan fibrous (jaringan ikat) didaerah subcutan dari jaringan granulasi yang sudah tidak dominan. Infiltrasi sel radang limfosit ditemukan pada beberapa tempat saja.

**Diagnosa/kesan:**

Slide no 1, 2, 3, 4, dan 5 : Respon tingkat penyembuhan luka baik tanpa komplikasi

Jember, 7 Juli 2015  
Mengetahui,



(Prof.drg.Mei Syafriadi M.DSc., Ph.D)  
NIP. 196805291994031003

## C.2.2 Data Pemeriksaan Skoring Histopatologi Kulit

Kelompok Hewan Uji		Skoring Perubahan Histopatologi Kulit				Pus
		Epitel	Kolagen	Jaringan Ikat	Sel radang limfosit	
Kontrol Negatif	T1	0	1	0	0	(-)
	T2	0	1	0	1	(-)
	T3	1	1	1	1	(-)
	T4	0	1	0	0	(+)
	T5	0	1	1	0	(+)
Kontrol Positif	T1	2	2	1	2	(-)
	T2	1	2	1	1	(-)
	T3	2	1	2	1	(-)
	T4	1	2	1	2	(-)
	T5	1	2	2	2	(-)
Dosis 100 mg	T1	2	2	2	0	(-)
	T2	1	1	1	1	(-)
	T3	1	1	1	1	(-)
	T4	1	1	1	0	(+)
	T5	1	2	1	1	(-)
Dosis 200 mg	T1	1	1	1	1	(-)
	T2	0	2	2	0	(-)
	T3	0	2	2	0	(+)
	T4	0	2	2	0	(+)
	T5	-	-	-	-	-
Dosis 400 mg	T1	2	2	2	1	(-)
	T2	2	1	2	2	(-)
	T3	1	2	2	2	(-)
	T4	1	2	2	2	(-)
	T5	1	1	1	2	(-)

**D. HASIL ANALISIS DATA****D. 1 Uji Kruskal-Wallis****Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	epitel	kolagen	ikat	limfosit
Chi-Square	14.192	4.664	12.163	14.982
df	4	4	4	4
Asymp. Sig.	.007	.324	.016	.005

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: perlakuan

**D. 2 Uji Mann-Whitney****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
epitel	kontrol negatif	5	3.30	16.50
	kontrol positif	5	7.70	38.50
	Total	10		
ikat	kontrol negatif	5	3.60	18.00
	kontrol positif	5	7.40	37.00
	Total	10		
limfosit	kontrol negatif	5	3.40	17.00
	kontrol positif	5	7.60	38.00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	epitel	ikat	limfosit
Mann-Whitney U	1.500	3.000	2.000
Wilcoxon W	16.500	18.000	17.000
Z	-2.460	-2.154	-2.324
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014	.031	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016 <sup>a</sup>	.056 <sup>a</sup>	.032 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Ranks**

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
epitel	kontrol negatif	5	3.40	17.00
	dosis 100 mg	5	7.60	38.00
	Total	10		
ikat	kontrol negatif	5	3.80	19.00
	dosis 100 mg	5	7.20	36.00
	Total	10		
limfosit	kontrol negatif	5	5.00	25.00
	dosis 100 mg	5	6.00	30.00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>b</sup>**



	epitel	ikat	limfosit
Mann-Whitney U	2.000	4.000	10.000
Wilcoxon W	17.000	19.000	25.000
Z	-2.425	-2.032	-.600
Asymp. Sig. (2-tailed)	.015	.042	.549
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.032 <sup>a</sup>	.095 <sup>a</sup>	.690 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

#### Ranks

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
epitel	kontrol negatif	5	4.90	24.50
	dosis 200 mg	4	5.13	20.50
	Total	9		
ikat	kontrol negatif	5	3.20	16.00
	dosis 200 mg	4	7.25	29.00
	Total	9		
limfosit	kontrol negatif	5	5.30	26.50
	dosis 200 mg	4	4.63	18.50
	Total	9		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	epitel	ikat	limfosit
Mann-Whitney U	9.500	1.000	8.500
Wilcoxon W	24.500	16.000	18.500
Z	-.169	-2.324	-.447
Asymp. Sig. (2-tailed)	.866	.020	.655
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.905 <sup>a</sup>	.032 <sup>a</sup>	.730 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Ranks**

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
epitel	kontrol negatif	5	3.30	16.50
	dosis 400 mg	5	7.70	38.50
	Total	10		
ikat	kontrol negatif	5	3.20	16.00
	dosis 400 mg	5	7.80	39.00
	Total	10		
limfosit	kontrol negatif	5	3.20	16.00
	dosis 400 mg	5	7.80	39.00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	epitel	ikat	limfosit
Mann-Whitney U	1.500	1.000	1.000
Wilcoxon W	16.500	16.000	16.000
Z	-2.460	-2.545	-2.545
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014	.011	.011
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016 <sup>a</sup>	.016 <sup>a</sup>	.016 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Ranks**

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
epitel	kontrol positif	5	6.00	30.00
	dosis 100 mg	5	5.00	25.00
	Total	10		
ikat	kontrol positif	5	6.00	30.00
	dosis 100 mg	5	5.00	25.00
	Total	10		
limfosit	kontrol positif	5	7.40	37.00
	dosis 100 mg	5	3.60	18.00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	epitel	ikat	limfosit
Mann-Whitney U	10.000	10.000	3.000
Wilcoxon W	25.000	25.000	18.000
Z	-.655	-.655	-2.154
Asymp. Sig. (2-tailed)	.513	.513	.031
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.690 <sup>a</sup>	.690 <sup>a</sup>	.056 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Ranks**

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
epitel	kontrol positif	5	6.70	33.50
	dosis 200 mg	4	2.88	11.50
	Total	9		
ikat	kontrol positif	5	4.30	21.50
	dosis 200 mg	4	5.88	23.50
	Total	9		
limfosit	kontrol positif	5	6.80	34.00
	dosis 200 mg	4	2.75	11.00
	Total	9		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	epitel	ikat	limfosit
Mann-Whitney U	1.500	6.500	1.000
Wilcoxon W	11.500	21.500	11.000
Z	-2.226	-.990	-2.324
Asymp. Sig. (2-tailed)	.026	.322	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.032 <sup>a</sup>	.413 <sup>a</sup>	.032 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Ranks**

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
epitel	kontrol positif	5	5.50	27.50
	dosis 400 mg	5	5.50	27.50
	Total	10		
ikat	kontrol positif	5	4.50	22.50
	dosis 400 mg	5	6.50	32.50
	Total	10		
limfosit	kontrol positif	5	5.00	25.00
	dosis 400 mg	5	6.00	30.00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	epitel	ikat	limfosit
Mann-Whitney U	12.500	7.500	10.000
Wilcoxon W	27.500	22.500	25.000
Z	.000	-1.225	-.655
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000	.221	.513
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>	.310 <sup>a</sup>	.690 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Ranks**

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
epitel	dosis 100 mg	5	6.60	33.00
	dosis 200 mg	4	3.00	12.00
	Total	9		
ikat	dosis 100 mg	5	3.90	19.50
	dosis 200 mg	4	6.38	25.50
	Total	9		
limfosit	dosis 100 mg	5	5.70	28.50
	dosis 200 mg	4	4.13	16.50
	Total	9		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	epitel	ikat	limfosit
Mann-Whitney U	2.000	4.500	6.500
Wilcoxon W	12.000	19.500	16.500
Z	-2.191	-1.556	-.990
Asymp. Sig. (2-tailed)	.028	.120	.322
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.063 <sup>a</sup>	.190 <sup>a</sup>	.413 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Ranks**

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
epitel	dosis 100 mg	5	5.00	25.00
	dosis 400 mg	5	6.00	30.00
	Total	10		
ikat	dosis 100 mg	5	4.00	20.00
	dosis 400 mg	5	7.00	35.00
	Total	10		
limfosit	dosis 100 mg	5	3.30	16.50
	dosis 400 mg	5	7.70	38.50
	Total	10		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	epitel	ikat	limfosit
Mann-Whitney U	10.000	5.000	1.500
Wilcoxon W	25.000	20.000	16.500
Z	-.655	-1.800	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.513	.072	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.690 <sup>a</sup>	.151 <sup>a</sup>	.016 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Ranks**

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
epitel	dosis 200 mg	4	2.88	11.50
	dosis 400 mg	5	6.70	33.50
	Total	9		
ikat	dosis 200 mg	4	4.88	19.50
	dosis 400 mg	5	5.10	25.50
	Total	9		
limfosit	dosis 200 mg	4	2.63	10.50
	dosis 400 mg	5	6.90	34.50
	Total	9		



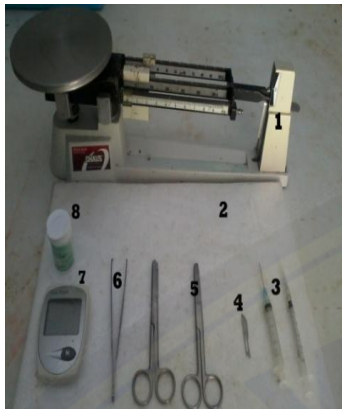
**Test Statistics<sup>b</sup>**

	epitel	ikat	limfosit
Mann-Whitney U	1.500	9.500	.500
Wilcoxon W	11.500	19.500	10.500
Z	-2.226	-.169	-2.488
Asymp. Sig. (2-tailed)	.026	.866	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.032 <sup>a</sup>	.905 <sup>a</sup>	.016 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**E. GAMBAR PENELITIAN**



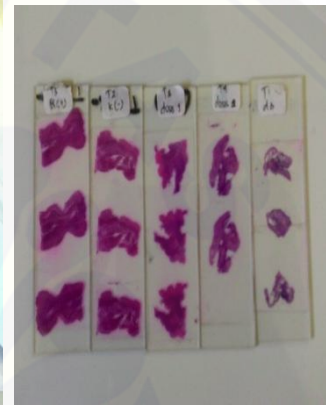
- Keterangan :
1. Timbangan tikus
  2. Papan fiksasi
  3. Spuit injeksi
  4. Pisau bedah
  5. Gunting bedah
  6. Pinset
  7. Glukotes
  8. Strip glukotes



rotary evaporator



mikroskop Olympus BX53



Slide histologi



maserasi



maserat



ekstrak



Induksi Aloksan (i.p)



Pengukuran glukosa



Pembuatan Luka



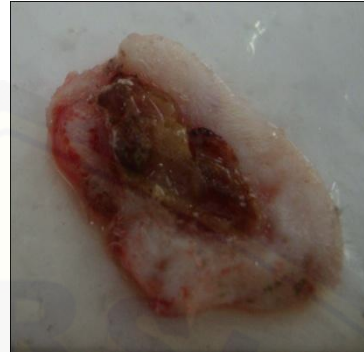
Luka pada hari ke-21



F. Gambar Penyembuhan Luka Secara Makroskopis



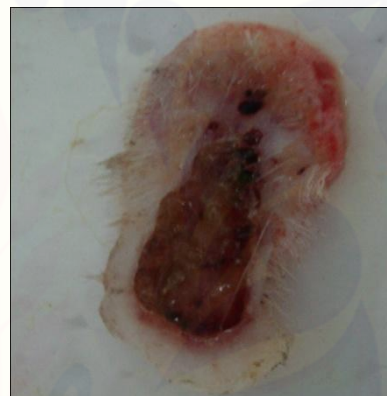
luka tikus pada hari ke-1  
setelah pembuatan luka



penyembuhan luka kelompok  
kontrol negatif



penyembuhan luka kelompok  
kontrol positif



penyembuhan luka kelompok  
dosis 100 mg



penyembuhan luka kelompok  
dosis 200 mg



penyembuhan luka kelompok  
dosis 400 mg