



**PENGARUH FRAKSINASI EKSTRAK UMBI BIDARA UPAS
(*Merremia mammosa Lour*) TERHADAP PENYEMBUHAN
LUKA PADA PENDERITA DIABETES**

SKRIPSI

Oleh

**Mega Citra Prameswari
NIM 142010101078**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



**PENGARUH FRAKSINASI EKSTRAK UMBI BIDARA UPAS
(*Merremia mammosa Lour*) TERHADAP PENYEMBUHAN
LUKA PADA PENDERITA DIABETES**

SKRIPSI

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

Oleh

**Mega Citra Prameswari
NIM 142010101078**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT, atas segala rahmat dan karunia-Nya yang membuat saya tidak pernah berhenti bersyukur;
2. Nabi Muhammad SAW yang selalu menjadi teladan bagi saya;
3. Ibunda Wiwik Nurhadi Astuti dan ayahanda Sugeng Suprajitno yang tercinta;
4. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
5. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember

MOTO

“dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam (tumbuh-tumbuhan) yang baik?”
(terjemahan Surat *Asy-Syu'ara'* ayat 7)^{*)}



^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 2009. *Al Qur'an dan Terjemahannya Special for Woman*. Bandung: Syaamil Quran.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Mega Citra Prameswari

NIM : 142010101078

menyatakan dengan sesungguhnya bahawa karya ilmiah yang berjudul “Pengaruh Fraksinasi Ekstrak Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa Lour*) Terhadap Penyembuhan Luka Pada Penderita Diabetes” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 28 Desember 2017

Yang menyatakan,

Mega Citra Prameswari

NIM 142010101078

SKRIPSI

**PENGARUH FRAKSINASI EKSTRAK UMBI BIDARA UPAS
(*Merremia mammosa Lour*) TERHADAP PENYEMBUHAN
LUKA PADA PENDERITA DIABETES**

Oleh

**Mega Citra Prameswari
NIM 142010101078**

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing II : dr. Dita Diana Parti, Sp. OG.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Fraksinasi Ekstrak Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa Lour*) terhadap Penyembuhan Luka pada Penderita Diabetes” karya Mega Citra Prameswari telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Rabu, 27 Desember 2017

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,

Anggota I,

dr. Cicih Komariah, Sp.M.
NIP 19740928 200501 2 001

dr. Al Munawir, M. Kes., Ph.D.
NIP 19690901 199903 1 003

Anggota II,

Anggota III,

dr. Ancah Caesarina Novi M., Ph.D.
NIP 19820309 200812 2 002

dr. Dita Diana Parti, Sp. OG.
NIP 19680423 199802 2 001

Mengesahkan
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember,

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

RINGKASAN

Pengaruh Fraksinasi Ekstrak Umbi Bidara Upas (*Merremia Mammosa Lour*) terhadap Penyembuhan Luka Pada Penderita Diabetes; Mega Citra Prameswari, 142010101078; 2017; 110 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Diabetes Melitus (DM) merupakan penyakit metabolik menahun akibat pankreas tidak memproduksi cukup insulin atau tubuh tidak dapat menggunakan insulin yang diproduksi secara efektif. Salah satu komplikasi yang dialami penderita DM adalah luka diabetes. Proses penyembuhan luka pada penderita diabetes lebih lama dibandingkan luka normal akibat terganggunya fase inflamasi pada proses penyembuhan luka. Pengobatan kaki diabetes selama ini salah satunya dengan mengandalkan antibiotik topikal jenis gentamicin. Namun gentamicin mempunyai efek samping yaitu dapat mengakibatkan iritasi kulit, kemerahan, alergi, hingga edema. Sehingga, dibutuhkan obat alternatif lain dalam hal ini dengan memanfaatkan umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*).

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh fraksinasi ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) terhadap penyembuhan luka pada penderita diabetes dan jenis fraksi yang berpengaruh. Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *true experimental laboratories* dengan rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design* yang terdiri atas 5 kelompok yaitu kontrol negatif (aquades), kontrol positif (gentamicin), kelompok fraksi air, kelompok fraksi etil asetat, dan kelompok fraksi n-heksana. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih galur Wistar yang didapat dari peternakan di Malang. Kriteria sampel adalah tikus wistar jenis kelamin jantan usia 2-3 bulan berat 150-220gram. Jumlah sampel 25 yang dihitung berdasarkan rumus Federer. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah jenis fraksi Umbi Bidara Upas dan salep gentamicin 0,1%. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah tingkat kepadatan kolagen kulit tikus. Pembuatan ekstrak umbi bidara upas dengan teknik ultrasonikasi kemudian dilanjutkan tahap fraksinasi dengan tiga jenis pelarut yang berbeda yaitu air, etil, dan n-heksana.

Lama penelitian ini yaitu 1 bulan yaitu dimulai dengan adaptasi tikus selama 7 hari, induksi streptozotocin, pemeriksaan glukosa, pemberian luka, pengukuran luas luka, dan pemberian terapi masing-masing kelompok yaitu dengan dosis 25 mg. Pengamatan menghitung luas luka tiap 2 hari sekali dengan metode Mun'im *et al.* (2011) sedangkan pengamatan kepadatan kolagen dilakukan dengan mengambil gambar preparat histopatologi pewarnaan *Masson's Trichome* dengan mikroskop Olympus seri DP21 dengan perbesaran 400x dalam 6 lapang pandang kemudian diolah dengan menggunakan *software imageJ*. Uji statistika dilakukan dengan menggunakan uji *One Way Anova* dan uji *Kruskal Wallis* dengan *Post Hoc Tukey* dan *Mann-Withney*.

Hasil pengamatan kepadatan kolagen didapatkan nilai rata-rata pada K- (pemberian aquades) 40.59%, K+ (pemberian gentamicin) 55.94%, P1 (pemberian fraksi etil asetat) 48.21%, P2 (pemberian fraksi air) 70.02%, dan P3 (pemberian fraksi n-heksana) 63.01%. Dari hasil analisis statistika uji *one way anova* data didapatkan nilai $p < 0.05$ yang menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok, sedangkan data hasil *post hoc Tukey* menunjukkan kelompok K- dengan K+, P2, dan P3 nilai $p < 0,05$ berarti terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok. K+ dengan kelompok K- dan P2 nilai $p < 0,05$ berarti terdapat perbedaan yang bermakna. P1 dengan P2 dan P3 nilai $p < 0,05$ berarti terdapat perbedaan yang bermakna. Kelompok P2 dengan K-, K+, dan P1 nilai $p < 0,05$ berarti terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok. Kelompok P3 dengan K- dan P1 nilai $p < 0,05$ berarti terdapat perbedaan yang bermakna.

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh fraksinasi ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mamosa Lour*) terhadap penyembuhan luka pada penderita diabetes, fraksi air dan n-heksana berpengaruh terhadap penyembuhan luka pada penderita diabetes, sedangkan fraksi etil asetat tidak berpengaruh. Fraksi air merupakan jenis fraksi ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mamosa Lour*) paling berpengaruh terhadap penyembuhan luka pada penderita diabetes.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT, atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Fraksinasi Ekstrak Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa Lour*) terhadap Penyembuhan Luka Pada Penderita Diabetes”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis menyampaikan terimakasih kepada :

1. dr. Ancah Caesarina Novi M., Ph.D. selaku dosen pembimbing utama dan dr. Dita Diana Parti, Sp. OG. selaku dosen pembimbing anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
2. dr. Cicih Komariah, Sp.M. dan dr. Al Munawir, M. Kes., Ph.D. selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
3. dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si dan Bu Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si., Apt terimakasih atas bantuan yang diberikan selama penelitian;
4. dr. Bagus Hermansyah, M. Biomed selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
5. ayah Sugeng Suprajitno dan Ibu Wiwik Nurhadi Astuti yang selalu mencintai dan mendoakan penulis;
6. sahabat-sahabat saya Ain Yuanita, Mega Ratnasari, Rifqia Zahara, Dita Puspita, Trinita Dyah, Amalia Nur, Nihayah Lukman, Yuli Lusi, Aprilia Tiyah, Shofi Iqda, Mufti Nabil, Yully Astika, Rizqi Mamluatul, dan Arifah Nur yang selama ini telah memberikan dukungan dan doa kepada penulis serta tempat berbagi suka duka;
7. rekan kerja seperjuangan penelitian saya Annisa Dewi, Haqiqotul, dan Gusfita, terimakasih atas kerja sama dan bantuan yang diberikan selama penelitian;

8. teman-teman Fakultas Kedokteran angkatan 2014, terimakasih atas kebersamaan dan persaudaraan;
9. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 14 Desember 2017

Penulis



DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|---------|
| HALAMAN SAMPUL | i |
| HALAMAN JUDUL | ii |
| HALAMAN PERSEMBAHAN | iii |
| HALAMAN MOTO | iv |
| HALAMAN PERNYATAAN | v |
| HALAMAN PEMBIMBING | vi |
| HALAMAN PENGESAHAN | vii |
| RINGKASAN | viii |
| PRAKATA | x |
| DAFTAR ISI | xii |
| DAFTAR GAMBAR | xv |
| DAFTAR TABEL | xvi |
| DAFTAR LAMPIRAN | xvii |
| | |
| BAB 1. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 3 |
| 1.3.1 Tujuan Umum..... | 3 |
| 1.3.2 Tujuan Khusus..... | 3 |
| 1.4 Manfaat Penelitian | 4 |
| BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA | 5 |
| 2.1 Umbi Bidara Upas (<i>Merremia mammosa Lour</i>) | 5 |
| 2.1.1 Taksonomi Umbi Bidara Upas (<i>Merremia mammosa Lour</i>)..... | 5 |
| 2.1.2 Kegunaan Umbi Bidara Upas (<i>Merremia mammosa Lour</i>)..... | 5 |
| 2.2 Diabetes Melitus | 7 |
| 2.2.1 Definisi Diabetes Melitus..... | 7 |
| 2.2.2 Klasifikasi Diabetes Melitus..... | 7 |
| 2.2.3 Diagnosis Diabetes Melitus..... | 8 |
| 2.3 Luka pada Penderita Diabetes | 8 |
| 2.3.1 Definisi Luka pada Penderita Diabetes..... | 8 |
| 2.3.2 Patofisiologi Luka pada Penderita Diabetes..... | 9 |
| 2.3.3 Klasifikasi Luka pada Penderita Diabetes..... | 9 |
| 2.3.4 Penatalaksanaan Luka pada Penderita Diabetes.. | 10 |
| 2.4 Model Tikus Diabetes | 11 |
| 2.4.1 Hewan Percobaan Diabetes Tipe 1..... | 12 |
| 2.4.2 Hewan Percobaan Diabetes Tipe 2..... | 13 |
| 2.5 Proses Penyembuhan Luka | 13 |
| 2.5.1 Proses Penyembuhan Luka pada Penderita Diabetes..... | 15 |

| | | |
|---------------|--|----|
| 2.6 | Kepadatan Kolagen | 16 |
| 2.6.1 | Definisi Kepadatan Kolagen..... | 16 |
| 2.6.2 | Sintesis Kolagen | 16 |
| 2.6.3 | Peranan Kolagen Dalam Penyembuhan Luka | 17 |
| 2.6.4 | Pengukuran Kepadatan Kolagen | 18 |
| 2.7 | Tinjauan Umum Tentang Metode Ekstraksi dan Fraksinasi | 19 |
| 2.7.1 | Ekstraksi | 19 |
| 2.7.2 | Fraksinasi | 21 |
| 2.8 | Kerangka Konseptual Penelitian | 24 |
| 2.6 | Hipotesis | 25 |
| BAB 3. | METODE PENELITIAN | 26 |
| 3.1 | Jenis Penelitian | 26 |
| 3.2 | Rancangan Penelitian | 26 |
| 3.3 | Populasi dan Sampel Penelitian | 27 |
| 3.3.1 | Populasi Penelitian | 27 |
| 3.3.2 | Sampel Penelitian | 27 |
| 3.3.3 | Besar Sampel Penelitian | 27 |
| 3.4 | Tempat dan Waktu Penelitian. | 28 |
| 3.5 | Variabel Penelitian | 29 |
| 3.5.1 | Variabel Bebas | 29 |
| 3.5.2 | Variabel Terikat | 29 |
| 3.5.3 | Variabel Terkendali | 29 |
| 3.6 | Definisi Operasional | 29 |
| 3.6.1 | Fraksi Umbi Bidara Upas (<i>Merremia mammosa Lour</i>)..... | 29 |
| 3.6.2 | Dosis Streptozotocin (STZ) | 30 |
| 3.6.3 | Dosis Dextrose..... | 30 |
| 3.6.4 | Kadar Glukosa | 30 |
| 3.6.5 | Waktu dan Lama Perlakuan Hewan Coba..... | 30 |
| 3.6.6 | Pemeliharaan dan Perlakuan Hewan Coba..... | 31 |
| 3.6.7 | Usia Tikus..... | 31 |
| 3.6.8 | Jenis Kelamin Tikus | 31 |
| 3.6.9 | Berat Badan Tikus | 31 |
| 3.6.10 | Kepadatan Kolagen | 31 |
| 3.7 | Alat dan Bahan | 32 |
| 3.7.1 | Alat Penelitian | 32 |
| 3.7.2 | Bahan Penelitian..... | 33 |
| 3.8 | Prosedur Penelitian | 33 |
| 3.8.1 | Uji Kelayakan Etik. | 33 |
| 3.8.2 | Pemilihan Hewan Coba | 33 |
| 3.8.3 | Adaptasi Hewan Coba | 33 |
| 3.8.4 | Pembagian Kelompok Perlakuan | 34 |
| 3.8.5 | Pembuatan Ekstrak | 34 |
| 3.8.6 | Pembuatan Fraksi | 34 |
| 3.8.7 | Penginduksian Streptozotocin (STZ) | 35 |

| | |
|---|-----------|
| 3.8.8 Pemeriksaan Kadar Glukosa..... | 35 |
| 3.8.9 Pemberian Luka Eksisi | 35 |
| 3.8.10 Pemberian Fraksi Ekstrak Umbi Bidara Upas... | 36 |
| 3.8.11 Pengukuran Luas Penyembuhan Luka | 36 |
| 3.8.12 Pengambilan Jaringan Kulit | 36 |
| 3.8.13 Pembuatan Preparat HistoPA | 36 |
| 3.8.14 Pengamatan Kepadatan Kolagen..... | 38 |
| 3.9 Analisis Data..... | 38 |
| 3.10 Alur Penelitian | 39 |
| BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN | 42 |
| 4.1 Hasil dan Analisis Data | 42 |
| 4.1.1 Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi | 42 |
| 4.1.2 Persentase Penyembuhan Luka..... | 42 |
| 4.1.3 Kepadatan Kolagen | 47 |
| 4.1.4 Glukosa Darah..... | 51 |
| 4.2 Pembahasan | 52 |
| BAB 5. PENUTUP..... | 59 |
| 5.1 Kesimpulan | 59 |
| 5.2 Saran | 59 |
| DAFTAR PUSTAKA | 58 |
| LAMPIRAN | 65 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|---|---------|
| 2.1 Umbi Bidara Upas (<i>Merremia mammosa Lour</i>)..... | 5 |
| 2.2 Fase Penyembuhan Luka | 13 |
| 2.3 Kepadatan Kolagen dengan Pewarnaan <i>Masson's Trichome</i> | 18 |
| 2.4 Kerangka Konseptual Penelitian..... | 24 |
| 3.1 Skema Rancangan Penelitian..... | 26 |
| 3.2 Skema Prosedur Ekstraksi Umbi Bidara Upas..... | 39 |
| 3.3 Skema Prosedur Fraksinasi Umbi Bidara Upas... .. | 40 |
| 3.3 Skema Prosedur Penyembuhan Luka pada Penderita Diabetes.. .. | 41 |
| 4.1 Grafik Persentase Penyembuhan Luka..... | 43 |
| 4.2 Grafik Hasil Pengamatan Kepadatan Kolagen..... | 48 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|---|---------|
| 2.1 Klasifikasi Luka Diabetes PEDIS <i>International Consensus on the Diabetic Foot 2003</i> | 9 |
| 2.2 Klasifikasi Luka Diabetes TEXAS | 10 |
| 2.3 Klasifikasi Luka Diabetes Wagner Meggit..... | 10 |
| 2.4 Kategori Hiperglikemia Berdasarkan Tingkat Keparahan..... | 12 |
| 3.1 Pembagian Kelompok Perlakuan.. | 34 |
| 4.1 Rerata Persentase Penyembuhan Luka..... | 43 |
| 4.2 Hasil Uji Normalitas <i>Shapiro Wilk</i> Persentase Penyembuhan Luka..... | 44 |
| 4.3 Hasil Uji Homogenitas <i>Lavene's Test</i> Persentase Penyembuhan Luka. ... | 44 |
| 4.4 Hasil Uji Normalitas <i>Shapiro Wilk</i> Persentase Penyembuhan Luka Setelah Transformasi Data..... | 45 |
| 4.5 Hasil Uji Homogenitas <i>Lavene's Test</i> Persentase Penyembuhan Luka Setelah Transformasi Data..... | 45 |
| 4.6 Hasil Uji <i>One Way Anova</i> Persentase Penyembuhan Luka.. | 45 |
| 4.7 Hasil Uji <i>Kruskal Wallis</i> Persentase Penyembuhan Luka..... | 45 |
| 4.8 Hasil Uji <i>Post Hoc Tukey</i> dan <i>Mann-Whitney</i> Persentase Penyembuhan luka..... | 46 |
| 4.9 Hasil Pengamatan Kepadatan Kolagen..... | 47 |
| 4.10 Luas Luka dan Preparat Histopatologi..... | 49 |
| 4.11 Hasil Uji Normalitas <i>Shapiro Wilk</i> dan Uji Homogenitas <i>Lavene's Test</i> Kepadatan Kolagen..... | 50 |
| 4.12 Hasil Uji <i>One Way Anova</i> Kepadatan Kolagen.. | 50 |
| 4.13 Hasil <i>Post Hoc Tukey</i> Kepadatan Kolagen.. | 51 |
| 4.14 Hasil Pemeriksaan Glukosa Darah..... | 52 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|--|---------|
| 3.1 Dokumentasi Kegiatan Penelitian..... | 64 |
| 3.2 Surat Keterangan Persetujuan Etik.. .. | 68 |
| 4.1 Hasil dan Uji Statistik Persentase Penyembuhan Luka..... | 70 |
| 4.2 Hasil dan Uji Statistika Kepadatan Kolagen... .. | 96 |
| 4.3 Hasil dan Uji Deskriptif Glukosa Darah.. .. | 102 |
| 4.4 Hasil Luas Luka, Histopatologi, dan Analisis Kepadatan Kolagen.. .. | 104 |
| 4.5 Cara Analisis Kepadatan Kolagen Menggunakan <i>Software ImageJ</i> | 105 |
| 4.6 Penggunaan Larutan dan Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi.. .. | 109 |

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) merupakan penyakit metabolik menahun akibat pankreas tidak memproduksi cukup insulin atau tubuh tidak dapat menggunakan insulin yang diproduksi secara efektif. Menurut *Internasional Diabetes Federation* (IDF) 2010, terdapat 382 juta orang yang hidup dengan DM di dunia pada tahun 2013 dan diperkirakan jumlah tersebut akan meningkat menjadi 592 juta orang di tahun 2035. Kasus DM di Indonesia berada pada peringkat ke-9 dengan jumlah sekitar 6.963.500 penderita dengan angka kematian 147.390 pada kelompok usia 20-79 tahun (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2014; Suyono, 2015).

Sebanyak 25% penderita DM mengalami luka diabetes dan 85% diantaranya mengalami amputasi. Hal tersebut dapat terjadi karena 50% penderita DM mengalami neuropati yaitu kehilangan sensitivitas di daerah tertentu seperti tidak dapat merasakan panas, dingin, ataupun nyeri. Hilangnya sensitivitas tersebut akan menyebabkan penurunan kewaspadaan terhadap benda yang dapat melukai kaki yang dapat memicu terjadinya luka dan infeksi. Disisi lain, peningkatan kadar gula darah juga akan menghambat kerja dari leukosit sehingga luka akan menjadi ulkus dan terjadi perluasan (Chin & Boulton, 2009; Nurlitasari, 2015).

Proses penyembuhan luka pada penderita diabetes lebih lama dibandingkan luka pada penderita bukan diabetes akibat terganggunya fase inflamasi pada proses penyembuhan luka. Luka pada penderita diabetes yang tidak segera mendapatkan pengobatan dan perawatan akan mudah terjadi infeksi bakteri yang cepat meluas dan dalam keadaan lebih lanjut menyebabkan gangren. Perawatan luka pada pasien DM dilakukan dengan tujuan untuk mencegah terjadinya infeksi, mempercepat penyembuhan dan menurunkan resiko amputasi. Efektivitas perawatan luka dapat dilihat melalui perubahan area luka, perbaikan keparahan luka, waktu penyembuhan luka, dan penyembuhan luka secara total (Agustina, 2011; Badr, 2013).

Pengobatan luka pada penderita diabetes selama ini salah satunya dengan mengandalkan antibiotik salah satunya gentamicin secara topikal. Namun gentamicin mempunyai efek samping yaitu dapat mengakibatkan iritasi kulit, kemerahan, alergi, dan edema sehingga dibutuhkan obat alternatif lain dalam hal ini dengan memanfaatkan umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*). Tanaman ini diketahui mengandung senyawa tanin (sebagai antibakteri) dan flavonoid (sebagai antiinflamasi dan antioksidan) yang diperlukan untuk penyembuhan luka pada penderita diabetes. Kandungan tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri, memicu makrofag menghasilkan *growth factor*, menetralkan radikal bebas, mempercepat fase inflamasi, memicu terjadinya proliferasi sel, dan meningkatkan sintesis kolagen yang berperan dalam penutupan luka (Farizal, 2012; Hidayat *et al.*, 2015; Sofiana *et al.*, 2015; Agatha, 2015).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Julianto (2015) dan Sofiana *et al.* (2015) ekstrak yang digunakan adalah ekstrak etanol umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*). Pada penelitian tersebut didapatkan ekstrak dosis 200 mg memberikan hasil yang positif terhadap persentase penyembuhan luka dan jumlah fibroblas luka pada tikus diabetes. Namun, ekstrak tersebut tidak hanya mengandung bahan aktif saja tetapi masih bercampur dengan komponen yang tidak aktif. Komponen yang tidak aktif tersebut akan menurunkan efektivitas dari ekstrak sehingga perlu dilakukan pemisahan untuk mengisolasi senyawa bertingkat (Mukriani, 2014).

Peneliti ingin melanjutkan penelitian tersebut dengan menggunakan metode fraksinasi dari ekstrak etanol umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) dengan tiga jenis pelarut yang berbeda berdasarkan polaritas yaitu air, etil asetat, dan n-heksana dengan melihat pengaruh secara mikroskopis yaitu kepadatan kolagen yang terbentuk. Fraksinasi perlu dilakukan untuk memisahkan senyawa dengan sifat kepolaran pelarut sehingga diharapkan fraksinasi ini dapat menurunkan jumlah bahan nonaktif pada ekstrak dan mengurangi efek yang tidak diinginkan. Sedangkan pemeriksaan kepadatan kolagen dipilih karena kolagen memiliki peranan yang sangat penting pada proses penyembuhan luka. Kolagen mempunyai kemampuan antara lain peranan dalam hemostasis, interaksi dengan

trombosit, interaksi dengan fibronectin, meningkatkan komponen seluler, meningkatkan faktor pertumbuhan, dan mendorong proses fibroplasia serta proliferasi epidermis. Kolagen diproduksi oleh sel fibroblas. Kolagen terdiri dari serabut-serabut yang akan meningkat kepadatannya sehingga dapat menutup luka dan akan sembuh. Pembentukan jaringan kolagen yang terganggu akibat kondisi DM akan menghambat proses penyembuhan luka (Novriansyah, 2008; Dewi, 2007; Sugara *et al.*, 2016).

Berdasarkan hal tersebut maka peneliti ingin melihat pengaruh fraksinasi ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) terhadap penyembuhan luka pada penderita diabetes.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, rumusan masalah dari penelitian ini adalah bagaimana pengaruh fraksinasi ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) terhadap penyembuhan luka pada penderita diabetes?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh fraksinasi ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) terhadap penyembuhan luka pada penderita diabetes.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mengetahui pengaruh fraksi air ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) terhadap penyembuhan luka pada penderita diabetes.
- b. Mengetahui pengaruh fraksi etil asetat ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) terhadap penyembuhan luka pada penderita diabetes.
- c. Mengetahui fraksi n-heksana ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) terhadap penyembuhan luka pada penderita diabetes.

- d. Mengetahui jenis fraksi ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) yang paling berpengaruh terhadap penyembuhan luka pada penderita diabetes.

1.4 Manfaat Peneliti

1.4.1 Manfaat teoritis

- a. Sebagai informasi ilmiah mengenai pemberian fraksi ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) secara topikal dalam penyembuhan luka pada penderita diabetes.
- b. Dapat dijadikan sebagai salah satu dasar pengembangan penelitian umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) sebagai terapi dalam penyembuhan luka pada penderita diabetes.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa Lour*)

2.1.1 Taksonomi

Klasifikasi dari tumbuhan umbi bidara upas adalah (Plantamour, 2012) :

| | |
|-------------|--|
| Kingdom | : Plantae (Tumbuhan) |
| Subkingdom | : Tracheobionta (berpembuluh) |
| Superdivisi | : Spermatophyta (menghasilkan biji) |
| Divisi | : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga) |
| Kelas | : Magnoliopsida (dikotil) |
| Subkelas | : Asteridae |
| Ordo | : Solanales |
| Famili | : Convolvulaceae (suku kangkung-kangungan) |
| Genus | : <i>Merremia</i> |
| Spesies | : <i>Merremia mammosa Lour.</i> |

Tanaman umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) ditunjukkan oleh Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa Lour*)
(Sumber : <https://www.google.co.id/>)

2.1.2 Kegunaan Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa Lour*)

Umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) diketahui mengandung senyawa yang diperlukan untuk penyembuhan luka pada penderita diabetes yaitu flavonoid dan tanin. Kandungan flavonoid dapat berperan sebagai antiinflamasi dan antioksidan. Flavonoid sebagai antiinflamasi akan merangsang makrofag untuk menghasilkan *growth factor* dan sitokin seperti EGF, TGF- β , IL-1, IL-4,

dan IL- 8. Sedangkan flavonoid sebagai antioksidan akan menetralkan radikal bebas yang dihasilkan oleh netrofil dan makrofag yang dapat menghambat migrasi dan proliferasi berbagai tipe sel sehingga akan mempercepat fase inflamasi dan memicu terjadinya proliferasi, selanjutnya dapat meningkatkan sintesis kolagen oleh fibroblas yang akan berperan dalam penutupan luka. Sedangkan tanin sebagai antibakteri dapat mencegah terjadinya infeksi pada luka pada penderita diabetes dengan cara menginaktivkan adhesin sel bakteri, menginaktivkan enzim, dan mengganggu protein pada lapisan sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel bakteri kurang sempurna kemudian menjadi lisis dan akan mati. Kegunaan umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) selama ini dipercaya untuk mengobati berbagai penyakit, antara lain difteria, disentri, kencing batu, kusta, *typhoid*, tuberkulosis, dan sifilis (Farizal, 2012; Agil *et al.*, 2011; Hidayat *et al.*, 2015; Ngajowa *et al.*, 2013; Agatha, 2015).

Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan, umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti penelitian yang dilakukan oleh Farizal (2012) yang membuktikan ekstrak etanol umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) dan Lubis (2013) yang menggunakan ekstrak etil asetat umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) dapat menghambat *Salmonella typhi*, Mazni (2008) membuktikan ekstrak etanol umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) dapat menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, Olevianingrum (2010) membuktikan ekstrak n-heksana, metanol dan air umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) dapat menghambat *Mycobacterium tuberculosis*, serta Sya'idah (2011) yang menggunakan fraksi n-heksana ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) dapat menghambat *Mycobacterium tuberculosis*. Sedangkan pada proses penyembuhan luka dibuktikan pada penelitian yang dilakukan oleh Julianto (2015) dan Sofiana *et al.* (2015) bahwa ekstrak etanol umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) dapat mempercepat proses penyembuhan luka pada penderita diabetes dan berpengaruh terhadap fibroblas.

2.2 Diabetes Melitus

2.2.1 Definisi Diabetes Melitus

Diabetes Melitus (DM) merupakan suatu kelainan klinis metabolik ditandai oleh adanya hiperglikemia akibat pankreas tidak memproduksi cukup insulin atau tubuh tidak dapat menggunakan insulin yang diproduksi secara efektif (Suyono, 2015).

2.2.2 Klasifikasi Diabetes Melitus

Klasifikasi DM menurut *American Diabetes Association* (ADA) tahun 2009 terdapat 4 jenis DM yaitu :

1. DM tipe 1 yaitu adanya destruksi pada sel β pankreas yang disebabkan oleh penyakit autoimun. Sel β pankreas merupakan penghasil insulin, apabila terjadi kerusakan maka produksi insulin akan menurun dan kadar glukosa dalam tubuh akan meningkat .
2. DM tipe 2 yaitu DM yang disebabkan oleh resistensi insulin yaitu kondisi otot, lemak, dan sel hati tidak menggunakan insulin secara efektif. Pada DM ini terjadi penurunan kemampuan insulin di jaringan perifer dan disfungsi sel β sehingga pankreas tidak mampu memproduksi insulin yang cukup untuk mengatasi resistensi insulin.
3. Diabetes dalam kehamilan terjadi karena peningkatan sekresi berbagai hormon yang mempunyai efek metabolik terhadap toleransi glukosa. Pada kondisi ini terjadi peningkatan resistensi insulin. Pada umumnya terjadi pada trimester kedua atau ketiga.
4. DM tipe lainnya yakni penderita yang mengalami hiperglikemia karena kelainan genetik fungsi sel β pankreas, kelainan genetik kerja insulin, endokrinopati, pengaruh obat/zat kimia, sindroma genetik lainnya seperti *syndrom down*, *syndrom klinefelter*, *syndrom turner*, dan sebagainya (Suyono, 2015)

2.2.3 Diagnosis Diabetes Melitus

Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (PERKENI) membagi alur diagnosis DM menjadi dua bagian besar berdasarkan ada tidaknya gejala khas DM. Gejala khas DM terdiri dari poliuria, polidipsia, polifagi, dan berat badan menurun tanpa sebab yang jelas. Sedangkan gejala tidak khas DM diantaranya lemas, kesemutan, luka yang sulit sembuh, gatal, mata kabur, disfungsi ereksi (pria) dan pruritus vulva (pada wanita) (Suyono, 2015).

Diagnosis DM juga dapat ditegakkan dengan melalui kriteria sebagai berikut :

1. Gejala klasik DM + glukosa plasma sewaktu >200 mg/dL (11,1 mmol/L)
Glukosa plasma sewaktu merupakan hasil pemeriksaan sesaat pada suatu hari tanpa memperhatikan waktu makan terakhir.
2. Gejala klasik DM + glukosa plasma puasa >126 mg/dL (7,0 mmol/L)
Puasa diartikan pasien tidak mendapat kalori tambahan sedikitnya 8 jam.
3. Glukosa plasma 2 jam pada TTGO >200 mg/dL (11,1 mmol/L)
TTGO dilakukan dengan standar WHO, menggunakan beban glukosa yang setara dengan 75 gram glukosa anhidrus dilarutkan ke dalam air (Suyono, 2015).

2.3 Luka Pada Penderita Diabetes

2.3.1 Definisi Luka Pada Penderita Diabetes

Luka pada penderita diabetes dapat terjadi karena komplikasi dari DM yang tidak tertangani yaitu adanya gangguan mikrovaskular berupa neuropati, nefropati, dan retinopati. Penderita DM akan kehilangan sensitivitas di daerah tertentu sehingga kewaspadaan terhadap benda-benda yang dapat melukai tubuh berkurang. Selain itu, kondisi hiperglikemi menghambat kerja leukosit dalam mengatasi infeksi. Penurunan sirkulasi darah pada daerah tersebut juga dapat menghambat proses penyembuhan luka yang mengakibatkan kuman masuk ke dalam luka dan terjadi infeksi. Luka akan menjadi ulkus dan terjadi perluasan bila tidak diobati (Nurlitasari, 2015).

2.3.2 Patofisiologi Luka Pada Penderita Diabetes

Terjadinya luka pada penderita diabetes diawali adanya hiperglikemia pada penyandang DM yang menyebabkan kelainan neuropati baik neuropati sensorik, motorik, maupun autonomik dan kelainan pembuluh darah. Kondisi tersebut akan menyebabkan gangguan fungsi sel imun, respon inflamasi menjadi tidak efektif, disfungsi sel endotel, gangguan neovaskularisasi, penurunan sintesis kolagen, memburuknya epitelisasi dan penurunan proses angiogenesis pada fase proliferasi serta fibroblas yang tidak membentuk ekstraseluler matriks secara maksimal hal ini menyebabkan kurangnya sirkulasi darah dan oksigen ke daerah luka sehingga luka sulit sembuh dan mudah terjadi perluasan ulkus (Agustina,2011; Waspadji, 2015).

2.3.3 Klasifikasi Luka Pada Penderita Diabetes

Luka pada penderita diabetes dapat diklasifikasikan dengan metode klasifikasi sebagai berikut :

a. Klasifikasi PEDIS *International Consensus on the Diabetic Foot 2003*

Klasifikasi luka pada penderita diabetes berdasarkan PEDIS *International Consensus on the Diabetic Foot 2003* ditunjukkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Klasifikasi Luka Pada Penderita Diabetes PEDIS *International Consensus on the Diabetic Foot 2003*

| | | |
|---|---|--|
| Impaired Perfusion | 1 | = none |
| | 1 | = PAD+but not critical |
| | 2 | = critical limb ischemia |
| Size/Extent in mm ² Tissue Loss/Depth | 1 | = superficial fullthickness, not deeper than dermis |
| | 2 | = deep ulcer, below dermis, involving subcutaneous structure, fascia, muscle or tendon |
| | 3 | = all subsequent layer of the foot involved including bone and or joint |
| Infection | 1 | = no symptoms or sign of infection |
| | 2 | = infection of skin and subcutaneous tissue only |
| | 3 | = erythema > 2cm or infection. Involving subcutaneous structure(s). no systemic sign(s) of inflammatory response |
| | 4 | = infection with systemic manifestation: fever, leukocytosis, shift to the left, metabolic instability, hypotension, azotemi |
| Impaired sensation | 1 | = absent |
| | 2 | = present |

(Sumber : Waspadji, 2015)

b. Klasifikasi Texas

Klasifikasi luka pada penderita diabetes berdasarkan TEXAS ditunjukkan pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Klasifikasi Luka Pada Penderita Diabetes TEXAS

| Stadium | Tingkat | | | |
|---------|---|--|--------------------------------------|---------------------------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 |
| A | Tanpa Tukak atau pasca tukak, kulit intak/utuh tulang | Luka superficial tidak sampai tendon atau kapsul sendi | Luka sampai tendon atau kapsul sendi | Luka sampai tulang/sendai |
| B | | Dengan infeksi | | |
| C | | Dengan iskemia | | |
| D | | Dengan infeksi dan iskemia | | |

(Sumber: Kartika, 2017)

c. Klasifikasi Wagner Meggit

Klasifikasi luka pada penderita diabetes berdasarkan Wagner Meggit ditunjukkan pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Klasifikasi Luka Pada Penderita Diabetes Wagner Meggit

| | |
|-----------|---------------------------------|
| Derajat 0 | Simptom pada kaki seperti nyeri |
| Derajat 1 | Ulkus superficial |
| Derajat 2 | Ulkus dalam |
| Derajat 3 | Ulkus sampai mengenai tulang |
| Derajat 4 | Gangren telapak kaki |
| Derajat 5 | Gangren seluruh kaki |

(Sumber: Kartika, 2017)

2.3.4 Penatalaksanaan Luka Pada Penderita Diabetes

Pengelolaan luka pada penderita diabetes dapat dibagi mejadi 2 kelompok besar yaitu pencegahan terjadinya luka pada penderita diabetes dan terjadinya ulkus (pencegahan primer sebelum terjadi perlukaan pada kulit) dan pencegahan agar tidak terjadi kecacatan yang lebih parah (pencegahan sekunder dan pengelolaan ulkus gangren yang sudah terjadi) (Waspadji, 2015).

a. Pencegahan primer

Penyuluhan cara terjadinya kaki diabetes sangat penting, harus selalu dilakukan setiap saat. Berbagai usaha pencegahan sesuai dengan tingkat risiko dengan melakukan pemeriksaan dini setiap ada luka pada kaki secara mandiri ataupun ke dokter terdekat (Kartika, 2017).

b. Pencegahan sekunder

Menurut Waspadji (2015), pengelolaan holistik ulkus/gangren diabetes kerjasama multidisiplin sangat diperlukan. Berbagai hal harus ditangani dengan baik dan dikelola bersama, meliputi :

1. *Wound control*

Dengan melakukan *debridement* dan *dressing* bertujuan mengurangi jaringan nekrotik, sehingga akan mengurangi produksi pus/cairan dari ulkus/gangren

2. *Microbiological control-infection control*

Pemberian antibiotik untuk mengontrol infeksi pada luka

3. *Mechanical control-pressure control*

Jika luka terdapat di kaki dan tetap dipakai untuk berjalan (menahan berat badan/*weight bearing*) dimana luka selalu mendapat tekanan sehingga akan menghambat proses penyembuhan, terutama bila terletak di plantar seperti pada kaki *Charcot*. Berbagai metode pembedahan dapat dilakukan untuk mengurangi tekanan pada luka seperti:

a) Dekompresi ulkus/gangren dengan insisi abses

b) Prosedur koreksi bedah seperti operasi untuk *hammer toe*, *metatarsal head resection*, *Achilles tendon lengthening*, *partial calcaneotomy*

4. *Educational control*

2.4 Model Tikus Diabetes

Hewan coba yang dapat dikatakan DM apabila mengalami hiperglikemia. Kategori hiperglikemia berdasarkan tingkat keparahan ditunjukkan oleh Tabel 2.4. Hiperglikemia pada tikus dapat dibedakan menjadi dua yaitu : (1) terinduksi, misalnya melalui pankreatektomi, senyawa kimia (diabetogenik), dan virus; (2)

spontan (*spontaneous*) misalnya menggunakan tikus BB (*bio breeding*) atau mencit atau tikus NOD (*non-obese diabetic*) (Nugroho, 2006).

Tabel 2.4 Kategori Hiperglikemia Berdasarkan Tingkat Keparahan

| Kategori | Glukosa |
|-----------------|---------------------|
| <i>Normal</i> | <200 mg/dL |
| <i>Mild</i> | 200 mg/dL-300 mg/dL |
| <i>Moderate</i> | 300mg/dL-400 mg/dL |
| <i>Severe</i> | >400 mg/dL |

(Sumber: Nakahara *et al.*, 2013)

2.4.1 Hewan Percobaan Diabetes Tipe 1

DM tipe 1 dapat dirancang dengan pankeatektomi total, secara genetik seperti tikus LETL (Long Evans Tokushima Lean), tikus tipe C57 BL/6J, tikus Wistar tipe bio-breeding (BB), dan senyawa toksin yaitu streptozotosin (STZ) dan aloksan (Nugroho, 2006; King, 2012; Goud *et al.*, 2015).

Mekanisme aloksan yaitu dengan membentuk oksigen reaktif yang menyebabkan kerusakan pada DNA sel β langerhans dan gangguan pada homeostatis kalsium intraseluler yang mengakibatkan depolarisasi sel β Langerhans sehingga konsentrasi insulin meningkat sangat cepat yang secara signifikan mengakibatkan gangguan pada sensitivitas insulin perifer dalam waktu singkat.

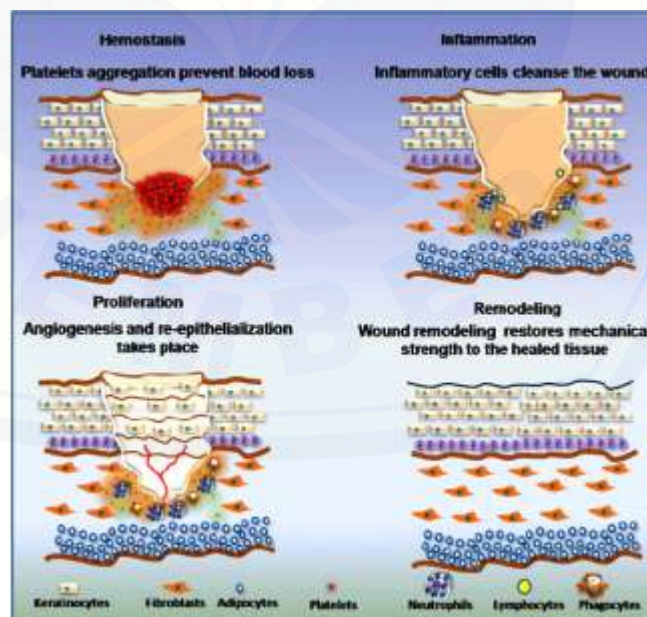
STZ dosis 40-50 mg/KgBB secara intravena maupun intraperitoneal pada tikus dewasa akan membuat tikus menjadi DM tipe satu dengan mekanisme merusak masa kritis sel β Langerhans atau menimbulkan proses autoimun terhadap sel β . STZ menembus sel β Langerhans melalui transporter glukosa GLUT 2. Aksi STZ intraseluler menghasikan perubahan DNA sel β pankreas. Alkilasi DNA oleh STZ melalui gugus nitrosoarea mengakibatkan kerusakan pada sel β pankreas. STZ merupakan donor NO (*nitric oxide*) yang mempunyai kontribusi terhadap kerusakan sel tersebut melalui peningkatan aktivitas guanilil siklase dan pembentukan cGMP. STZ juga mampu membangkitkan oksigen reaktif yang mempunyai peran tinggi dalam kerusakan sel β pankreas (Nugroho, 2006; King, 2012; Goud *et al.*, 2015).

2.4.2 Hewan Percobaan Diabetes Tipe 2

Hewan uji DM tipe 2 dapat dibuat dengan beberapa cara yaitu pemberian nutrisi yang dapat menstimulasi resistensi insulin seperti mengkondisikan tikus dalam kondisi obesitas atau makanan kaya akan fruktosa pada tikus selama lebih dari 2 bulan, pankreatektomi parsial, pemberian senyawa diabetogenik seperti pemberian STZ pada tikus neonatal, dan secara genetik seperti tikus Ob/Ob, tikus db/db, tikus Zucker (fa/fa) obese, tikus Diabetic Torri (Nugroho, 2006; King, 2012; Goud *et al.*, 2015).

2.5 Proses Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka adalah respon tubuh terhadap berbagai cedera dengan proses pemulihan yang kompleks dan dinamis yang menghasilkan pemulihan anatomi dan fungsi secara terus menerus. Perubahan tersebut berkaitan dengan lingkungan luka dan kesehatan individu. Proses penyembuhan luka yang normal terdiri dari 4 fase yaitu hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodeling yang ditunjukkan oleh Gambar 2.2 (Orsted *et al.*, 2011; Snyder dan Sigal, 2005; Flanagan, 2000).



Gambar 2.2 Fase Penyembuhan Luka (Sumber: www.researchgate.net)

a. Fase Hemostatis

Pada penyembuhan luka, platelet akan bergerak menuju pembuluh darah. Platelet akan mensekresikan substansi vasokonstriktif yang berperan dalam menstabilkan kerusakan pembuluh darah tersebut. ADP juga mensekresikan faktor pembekuan seperti memproduksi thrombin yang akan menginisiasi perubahan fibrinogen menjadi fibrin. Fibrin akan diperkuat oleh agregasi platelet untuk mencapai hemostatis yang stabil. Platelet akan mensekresikan *growth factor* seperti *platelet derived growth factor* yang menjadi salah satu faktor utama penyembuhan. *Growth factor* ini akan meningkatkan neutrofil dan monosit untuk menginisiasi ke fase berikutnya, dan menstimulasi sel epitel dan fibroblast. Fase hemostatis ini terjadi dalam waktu beberapa menit setelah terjadi cedera kecuali jika terdapat gangguan pada faktor pembekuan (Orsted *et al.*, 2011; Snyder dan Sigal, 2005; Flanagan, 2000).

b. Fase Inflamasi

Tujuan fase inflamasi adalah untuk menghilangkan jaringan yang tersamar dan mencegah infeksi invasif. Secara klinis, inflamasi ditandai dengan adanya eritema, bengkak, dan peningkatan suhu yang dihubungkan dengan rasa sakit, secara klasik: rubor, tumor, calor, dan dolor. Tahap ini biasanya terjadi selama 4 hari setelah terjadi cedera. Pada fase ini terjadi pembersihan dari debris oleh neutrofil yaitu sel *polymorphonuclear* (PMN). Respon inflamasi ini akan menyebabkan pembuluh darah menjadi bocor kemudian akan mengeluarkan plasma dan neutrofil ke sekitar jaringan. Neutrofil dan sel mast akan memfagosit debris dan mikroorganisme sebagai pertahanan awal. Kemudian fibrin akan rusak dan diikuti oleh fibroblas dan sel epitel.

Disisi lain juga memproduksi substansi lain seperti kolagen untuk membentuk ekstraseluler matrik. Ekstraseluler matrik ini juga berperan sebagai reseptor integrin, mengarah ke aktivasi platelet, migrasi sel epitel, dan pergerakan sel fibroblas.

Di dalam sirkulasi monosit akan berubah menjadi makrofag dan akan keluar dari pembuluh darah menuju ekstraseluler matrik. Makrofag ini akan

memfagosit bakteri sebagai pertahanan kedua dan mensekresikan ekstraselular enzim untuk mendegradasi jaringan nekrotik. Substansi yang disekresikan yaitu antara lain matrix metaloprotease (MMP), IL-1, IL-6, dan TNF- α (Orsted *et al.*, 2011; Snyder dan Sigal, 2005; Flanagan, 2000).

c. Fase Proliferasi

Fase proliferasi atau granulasi dimulai hari ke 4 sampai hari ke 21. Pada fase ini terjadi keseimbangan antara pembentukan jaringan parut dan regenerasi jaringan. Fase ini ditandai dengan angiogenesis, desposisi kolagen, pembentukan granulasi jaringan, kontraksi luka, dan epitelisasi. Secara klinis, ditandai dengan adanya jaringan yang berwarna merah atau kolagen pada dasar luka dan menggantikan jaringan dermal kadang subdermal. Fibroblas akan mensekresikan kolagen yang akan meregenerasi jaringan dermal. Perisit akan meregenerasi kapiler dan sel endotel yang disebut dengan angiogenesis. Keratinosit bertanggungjawab terhadap proses epitelisasi. Pada tahap akhir akan terbentuk lapisan stratum korneum (Orsted *et al.*, 2011; Snyder dan Sigal, 2005; Flanagan, 2000).

d. Fase Remodeling

Fase remodeling yang bertujuan untuk memaksimalkan kekuatan dan integritas struktural luka. Pada fase ini jaringan dermal akan mengalami peningkatan kekuatan oleh fibroblas. Remodeling membutuhkan waktu 21 hari hingga 2 tahun setelah terjadi cedera (Orsted *et al.*, 2011; Snyder dan Sigal, 2005; Flanagan, 2000).

2.5.1 Proses Penyembuhan Luka Pada Penderita Diabetes

Proses penyembuhan pada penderita diabetes membutuhkan waktu yang lama. Pada perawatan luka standart lama waktu penyembuhan luka diabetik dapat mencapai 12-20 minggu. Hal tersebut dapat terjadi akibat terganggunya fase inflamasi. Pada fase inflamasi akan mengalami perpanjangan karena netrofil dan makrofag tidak hanya memproduksi *growth factor* dan sitokin namun juga

memproduksi produk sampingan berupa oksigen reaktif. Oksigen reaktif ini akan menghambat migrasi dan proliferasi sel akibatnya fase inflamasi mengalami perpanjangan dan tidak dapat berlanjut pada fase berikutnya yaitu fase proliferasi (Margolis *et al.*, 1999).

2.6 Kepadatan Kolagen

2.6.1 Definisi Kolagen

Kolagen adalah protein alami penyusun jaringan ikat tubuh yang merupakan 25% sampai 35% seluruh protein tubuh. Kolagen paling banyak ditemukan pada jaringan fibrous seperti tendon, ligamen dan kulit. Deposisi kolagen meningkatkan kekuatan jaringan baru luka (Gurtner, 2007).

2.6.2 Sintesis Kolagen

Kolagen disintesis di retikulum endoplasma pada fase proliferasi. Komponennya sintesis kolagen berasal dari sel fibroblas. Sintesis kolagen membutuhkan oksigen dan vitamin C yang merupakan ko-faktor yang penting selama hidrosilasi prolin dan lysin dalam proses pembentukan protokolagen. Sintesis kolagen matur memerlukan *prolyl-hidroxyase* dan *lysyl-hidroxyase*, kedua enzim tersebut fungsinya tergantung oksigen. Pada proses sintesis 1 atom kolagen dibutuhkan 1 atom oksigen setiap 3 urutan asam amino. Kemudian prokolagen akan membelah diri pada segmen terminal dan disebut tropokolagen. Tropokolagen bergabung dengan tropokolagen lainnya membentuk filamen kolagen. Filamen ini akan bergabung membentuk fibril. Fibril-fibril akan membentuk serat-serat kolagen. Sintesis kolagen dimulai hari ke-3 setelah luka dan berlangsung cepat pada minggu ke 2-4 (Novriansyah, 2008).

Kolagen sendiri terdiri dari berbagai tipe. Kolagen tipe III dibentuk pada hari pertama sampai ketiga pasca trauma yang akan mencapai puncaknya pada minggu pertama. Kolagen tipe III ini akan digantikan oleh kolagen tipe I yang lebih kuat saat proses penyembuhan luka memasuki fase remodeling yaitu sekitar minggu ketiga pasca cedera. Segera setelah proses penyembuhan luka dimulai, sintesis kolagen melebihi degradasinya dimana proses sintesis dan degradasi ini

akan mencapai keseimbangan pada akhir penyembuhan luka. Jaringan baru di daerah luka pada akhirnya akan didominasi oleh kolagen (Gurtner, 2007).

2.6.3 Peranan Kolagen dalam Penyembuhan Luka

Kolagen dapat membantu agregasi trombosit karena kemampuannya mengikat fibronektin. Mekanisme yang pasti dari interaksi kolagen belum diketahui pasti, tetapi interaksi kolagen dan trombosit merupakan proses penyembuhan yaitu fase hemostasis, kemudian diikuti vasokonstriksi dan vasodilatasi. Selama vasodilatasi, daerah non trauma menjadi lebih permeabel dan selanjutnya terjadi perembesan hormon, protein plasma, elektrolit, antibod, cairan, dan leukosit PMN. Terjadi vasokonstriksi dan diikuti vasodilatasi serta proses pembersihan luka. Terjadi akumulasi cepat dari leukosit PMN dan makrofag pada tempat trauma. Kolagen mempunyai kemampuan kemotaksis terhadap monosit. Monosit seperti makrofag berfungsi melakukan fagositosis kuman di daerah luka dan membersihkan debris. Menurunnya jumlah makrofag akan memperlambat pembersihan luka. Makrofag akan menarik fibroblas ke tempat luka kemudian akan mulai terjadi sintesis kolagen (Novriansyah, 2008).

2.6.4 Pengukuran Kepadatan Kolagen

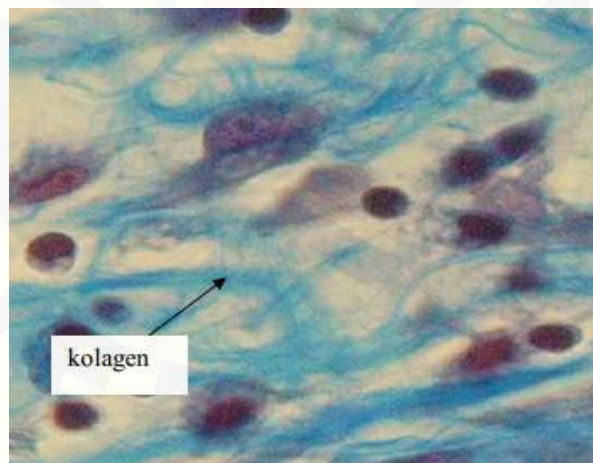
Pemeriksaan kepadatan yaitu dengan melihat serabut kolagen dengan pengecatan *Masson's trichom*. *Masson's trichom* merupakan pewarnaan spesifik dalam pemeriksaan kolagen yang akan memberikan warna biru atau hijau terang pada serabut kolagen. Pengamatan kolagen dapat dilakukan dengan 2 metode yaitu secara kuantitatif dan semikuantitatif (Novriansyah, 2008; Chen *et al.*, 2017; Enggalhardjo *et al.*, 2015).

Pengamatan dengan metode kuantitatif dapat dilakukan dengan pengamatan preparat histopa kulit dengan menggunakan mikroskop, dilihat pada 6 lapang pandang dengan perbesaran 400x, kemudian diambil gambar. Kepadatan kolagen dapat diukur dengan mengolah gambar menggunakan *software imageJ* (Enggalhardjo *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2017).

Sedangkan pengamatan dengan menggunakan metode semikuantitatif dapat dilakukan dengan skoring kolagen yaitu dengan mengamati preparat histopa kulit dengan mikroskop kemudian memprediksi kepadatan kolagennya menurut skoring kepadatan kolagen dengan metode *double blind* (Rizka *et al.*, 2012).

Skoring kepadatan kolagen menurut Rizka *et al.* (2012) sebagai berikut

1. Kepadatan kolagen dikatakan tidak ada apabila presentase kepadatan kolagen 0%
2. Kepadatan kolagen dikatakan rendah apabila presentase kepadatan kolagen 0-10%
3. Kepadatan kolagen dikatakan sedang apabila presentase kepadatan kolagen 10-50%
4. Kepadatan kolagen dikatakan rapat apabila presentase kepadatan kolagen 50-90%
5. Kepadatan kolagen dikatakan sangat rapat apabila presentase kepadatan kolagen 90-100%



Gambar 2.3 Kepadatan Kolagen dengan Pewarnaan *Masson's Trichome*
(Sumber: Novriansyah, 2008)

2.7 Tinjauan Umum Tentang Metode Ekstraksi Dan Fraksinasi

2.7.1 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan teknik isolasi senyawa dan bahan yang berasal dari tumbuhan. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi (Mukhriani, 2014).

Proses ekstraksi untuk bahan yang berasal dari tumbuhan adalah sebagai berikut :

1. Pengelompokan bagian tumbuhan (daun, bunga, dan lain-lain), pengeringan, dan penggilingan bagian tumbuhan.
2. Pemilihan pelarut
3. Pelarut polar: air, etanol, metanol, dan sebagainya.
4. Pelarut semipolar: etil asetat, diklorometan, dan sebagainya.
5. Pelarut nonpolar: n-heksana, petroleum eter, kloroform, dan sebagainya (Mukhriani, 2014)

Jenis metode ekstraksi sebagai berikut :

a. Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar (Mukhriani, 2014).

b. *Ultrasound-Assisted Solvent Extraction*

Ultrasound-Assisted Solvent Extraction merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan menggunakan bantuan ultrasound (sinyal dengan frekuensi tinggi, 20 kHz). Wadah yang berisi serbuk sampel ditempatkan dalam wadah

ultrasonik dan ultrasound. Hal ini dilakukan untuk memberikan tekanan mekanik pada sel hingga menghasilkan rongga pada sampel. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam pelarut dan meningkatkan hasil ekstraksi. Pada metode ini, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah percolator yaitu wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya. Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu (Mukhriani, 2014).

c. Soxhlet

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

d. *Reflux* dan Destilasi Uap

Pada metode *reflux*, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu. Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung

dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Mukhriani, 2014).

2.7.2 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan tahapan kedua dari proses pemisahan senyawa setelah ekstraksi. Fraksinasi adalah teknik pemisahan dan pengelompokan senyawa kimia pada ekstrak berdasarkan kepolaran (Mukhriani, 2014; Akhsanita, 2012).

Jenis metode fraksinasi sebagai berikut :

a. Metode Cair-cair atau Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Metode cair-cair atau kromatografi cair vakum (KCV) merupakan metode pemisahan kromatografi yang menggunakan vakum untuk mempercepat kecepatan alir dari fase gerak. KCV memiliki beberapa keunggulan seperti peralatan yang sederhana, pemisahan yang cepat, resolusi yang lebih baik, dan kapasitas pemisahan besar. KCV menggunakan kolom berukuran pendek, kolom kromatografi dikemas dengan *dry adsorbent*. Kolom kromatografi yang kering dikondisikan dalam keadaan vakum agar diperoleh kerapatan kemasan maksimum. Vakum dihentikan, pelarut yang kepolaran rendah dituangkan ke permukaan penyerap lalu divakumkan lagi. Kolom dihisap sampai kering dan siap digunakan. Cuplikan dilarutkan dalam pelarut yang cocok, dimulai dengan pelarut yang kepolaran rendah lalu ditingkatkan kepolarannya secara perlahan-lahan kemudian kolom dihisap sampai kering pada setiap pengumpulan fraksi (Sya'idah, 2011; Hartini dan Wulandari, 2016).

b. Kromatografi Kolom (KK)

Kromatografi kolom merupakan suatu metode pemisahan preparatif. Metode ini memungkinkan untuk melakukan pemisahan suatu sampel yang berupa campuran dengan berat beberapa gram. Pada prinsipnya kromatografi kolom adalah suatu teknik pemisahan yang didasarkan pada peristiwa adsorpsi. Sampel yang biasanya berupa larutan pekat diletakkan pada ujung atas kolom. Komponen tunggal yang ada pada sampel dijerap oleh fase diam yang telah

dibentuk atau biasa digunakan silica gel yang terdapat pada kolom, namun apabila dialirkan pelarut secara kontinyu maka akan terjadi migrasi senyawa dan senyawa tersebut terbawa oleh pelarut sesuai dengan polaritasnya. Kecepatan eluasi sebaiknya dibuat konstan. Jika kecepatan eluasi terlalu kecil maka senyawa-senyawa akan terdifusi ke dalam eluen dan akan menyebabkan pita makin melebar yang akibatnya pemisahan tidak dapat berlangsung dengan baik. Dan apabila kecepatan eluasi terlalu besar maka pemisahan kurang baik dan tidak berdasarkan tingkat polaritasnya sehingga akan diperoleh fraksi yang sama dan menyebabkan fase diam cepat menjadi kering dan dikhawatirkan terjadi cracking. Permukaan adsorben harus benar-benar horizontal, hal ini dilakukan untuk menghindari terjadinya cacat yang dapat terjadi selama proses eluasi berjalan. Cara kerja kromatografi kolom adalah komponen tunggal ditahan pada fasa diam berupa adsorben karena telah terikat. Ketika eluen dialirkan, maka senyawa akan melakukan migrasi, terbawa oleh eluen sesuai dengan kesesuaian kepolaran.

c. *Size-Exclusion Chromatography (SEC)*

Metode fraksinasi *Size-Exclusion Chromatography (SEC)* didasarkan pada ukuran berat molekul. Prinsip kerja SEC adalah analit akan melewati fasa diam yang berpori. Molekul dengan ukuran lebih besar dari pori fasa diam akan terelusi keluar dari kolom untuk pertama kalinya, sedangkan untuk molekul dengan ukuran lebih kecil akan masuk ke dalam pori fasa diam sehingga tertahan oleh kolom tergantung dari ukuran molekulnya. Pemisahan ini dimungkinkan akibat penahanan ukuran yang terjadi dalam partikel gel. Metode ini dikelompokkan menjadi dua macam yaitu kromatografi permeasi gel yang mengacu pada pemisah makromolekul yang larut dalam air dan kromatografi filtrasi gel untuk makromolekul yang larut dalam pelarut organik. Untuk bekerja dalam medium tidak berair, gel yang tepat digunakan adalah *Sephadex LH-20* (Purbowati, 2017).

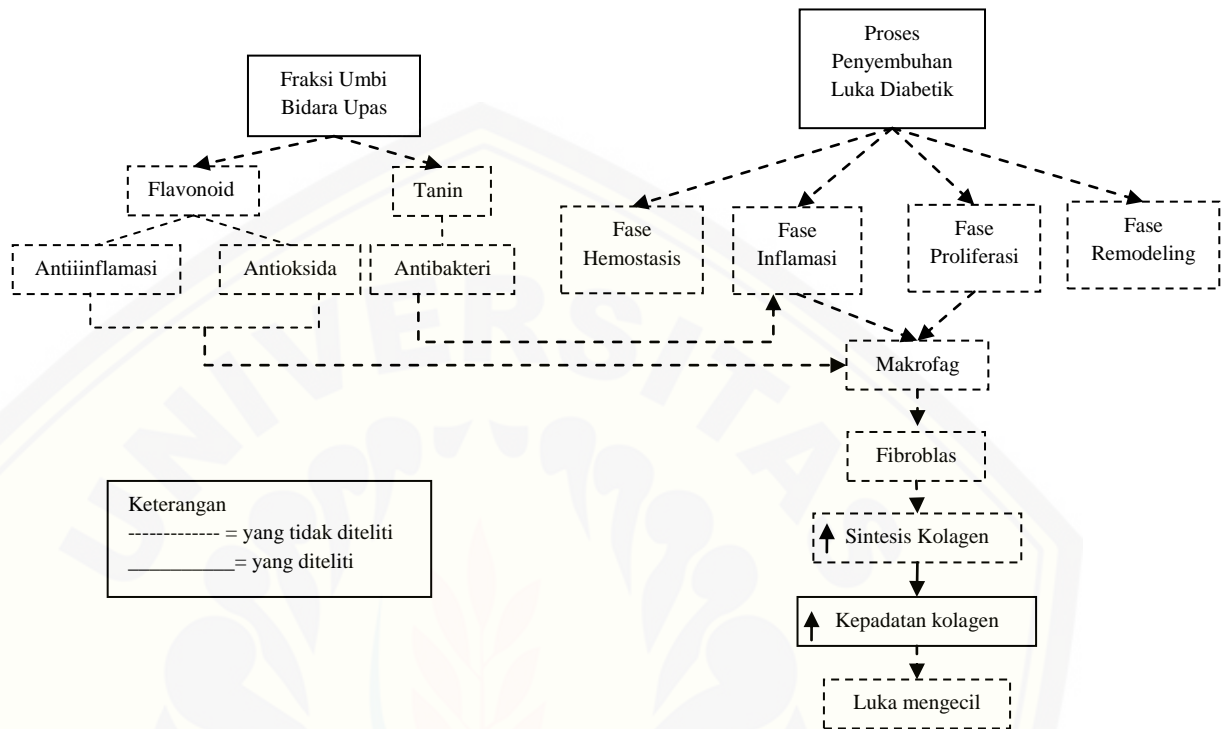
d. *Solid-Phase Extraction (SPE)*

Solid-Phase Extraction (SPE) merupakan metode lebih efisien dan ekonomis yang dapat secara signifikan mengurangi volume pelarut organik yang dibutuhkan. Terdapat 4 tahap prosedur SPE yaitu:

1. Pengkondisian Catridge (Penjerap) dialiri dengan pelarut sampel untuk membasahi permukaan penjerap dan untuk menciptakan nilai pH yang sama sehingga perubahan kimia yang tidak diharapkan ketika sampel dimasukkan dapat dihindari
2. Retensi sampel yaitu larutan sampel dilewatkan ke cartidge baik untuk menahan analit yang dituju sementara komponen lain terelusi atau menahan komponen yang tidak diharapkan sementara analit yang dituju terelusi
3. Pembilasan yaitu menghilangkan komponen yang tidak tertahan oleh penjerap selama retensi
4. Elusi yaitu tahap pengambilan analit yang dituju jika analit tertahan pada penjerap (Silva, 2012)

2.8 Kerangka Konseptual Penelitian

Kerangka konsep pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.4 Kerangka Konseptual Penelitian

Fraksi ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) mengandung flavonoid dan tanin. Zat tanin sebagai antibakteri akan menginaktifkan adhesin sel bakteri, menginaktifkan enzim, dan mengganggu protein pada lapisan sel bakteri pada fase inflamasi sehingga pembentukan dinding sel bakteri kurang sempurna kemudian menjadi lisis dan akan mati sehingga dapat mencegah terjadinya infeksi. Sedangkan flavonoid sebagai antiinflamasi dan antioksidan akan merangsang makrofag untuk menghasilkan *growth factor* dan sitokin seperti EGF, TGF- β , IL-1, IL-4, dan IL-8, menetralkan radikal bebas, mempercepat fase inflamasi, memicu terjadinya proliferasi sel, dan meningkatkan sintesis kolagen. Selanjutnya serabut-serabut kolagen yang akan meningkat kepadatannya dan dapat menutup luka sehingga luka akan mengecil dan sembuh.

2.9 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah terdapat pengaruh fraksinasi ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa Lour*) terhadap proses penyembuhan luka pada penderita diabetes.



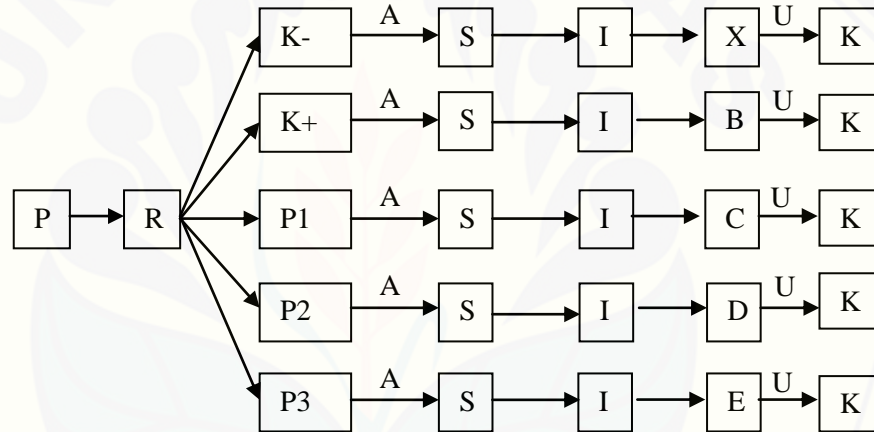
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

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

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design*. Secara sistematis rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan :

P : Populasi

R : Randomisasi

K(-) : Kelompok Negatif

K(+) : Kelompok Positif

P1 : Kelompok 1 (Fraksi Air)

P2 : Kelompok 2 (Fraksi Etil Asetat)

P3 : Kelompok 3 (Fraksi n-Heksana)

A : Adaptasi selama 7 hari

S : Pemberian STZ dosis 40 mg/kgBB dan pengukuran BB pada hari ke-8 kemudian diberi *Dextrose* 10% 50ml per tikus

- I : Pemberian luka eksisi 2x2 cm pada hari ke-14
- X : Pemberian aquades setiap 2 hari sekali dimulai pada hari ke-15 hingga hari 25
- B : Pemberian Salep gentamicin 0,1% setiap 2 hari sekali dimulai pada hari ke-15 hingga hari 25
- C : Pemberian Fraksi Air setiap 2 hari sekali dimulai pada hari ke-15 hingga hari 25
- D : Pemberian Fraksi Etil Asetat setiap 2 hari sekali dimulai pada hari ke-15 hingga hari 25
- E : Pemberian Fraksi n-Heksana setiap 2 hari sekali dimulai pada hari ke-15 hingga hari 25
- U : Pengukuran luas luka setiap 2 hari sekali dimulai pada hari ke-15 hingga hari ke-26
- K : Pengambilan jaringan kulit untuk dilihat kepadatan kolagen dengan metode histoPA pada hari ke-26

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih galur Wistar yang didapat dari peternakan di Malang.

3.3.2 Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah tikus putih galur Wistar jantan berusia 2-3 bulan dengan berat antara 150-220 gram.

3.3.3 Besar Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini diambil dengan teknik random sederhana (*simple random sampling*) dari populasi tikus akan dibagi menjadi 5 kelompok. Jumlah sampel yang diambil dalam penelitian menggunakan rumus Federer adalah sebagai berikut.

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

p: jumlah perlakuan

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

n: jumlah replikasi

$$(4)(n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4.75 \text{ (dibulatkan menjadi 5)}$$

$$\text{Sampel} = p \times n$$

$$= 5 \times 5$$

$$= 25$$

Perlakuan pada penelitian ini terdiri dari 5 kelompok perlakuan dengan minimal jumlah replikasi 5 pada masing-masing kelompok, sehingga pada penelitian ini diperlukan sampel sebanyak 25 ekor tikus. Sampel dipilih memiliki kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut.

a. Kriteria inklusi

1. Tikus jenis Wistar
2. Jenis kelamin jantan
3. Usia 2-3 bulan
4. Berat 150-220 gram
5. Tidak ada kelainan anatomis
6. Sehat dan aktif selama masa adaptasi
7. Kadar glukosa darah $\geq 200\text{mg/dL}$

b. Kriteria Eksklusi

1. Mati
2. Sakit selama masa adaptasi (gerakan tidak aktif)
3. Terdapat tanda-tanda infeksi pada luka

3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di beberapa tempat. Pemeliharaan dan pemberian perlakuan di Laboratorium Biomedik Hewan Coba Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Pembuatan fraksi umbi bidara upas di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Jember. Pembuatan sediaan histoPA di Laboratorium

Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Pengamatan dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember. Pelaksanaan penelitian ini dimulai pada bulan Juni-Juli 2017.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah jenis pelarut yang digunakan dalam membuat fraksi ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammos Lour*).

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kepadatan kolagen kulit tikus.

3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah:

1. Usia hewan coba
2. Jenis kelamin tikus
3. Berat badan tikus
4. Pemeliharaan dan perlakuan tikus
5. Waktu dan lama perlakuan tikus
6. Dosis pemberian streptozotocin (STZ) 40 mg/kgBB
7. Dosis pemberian dekstrose 10%

3.6 Definisi Operasional

3.6.1 Fraksi Umbi Bidara Upas (*Merremia mammos Lour*)

Fraksi umbi bidara upas (*Merremia mammos Lour*) yang digunakan pada penelitian ini adalah hasil dari fraksinasi ekstrak etanol umbi bidara upas (*Merremia mammos Lour*) yang dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Jember. Dosis fraksi yang diberikan pada penelitian ini adalah 25 mg/luka diberikan sesuai dengan kelompok perlakuan setiap 2 hari sekali dari hari

ke 15 sampai hari ke 25 mengacu pada penelitian yang dilakukan Mahmood *et al.* (2016). (Dwitiyanti *et al.*, 2015; Nayak *et al.*, 2007, Mahmood *et al.*, 2016).

3.6.2 Dosis Streptozotocin (STZ)

Dosis Streptozotocin (STZ) yang digunakan pada penelitian ini sebesar 40 mg/kgBB yang diberikan pada hari ke-8 secara intraperitoneal (Damasceno *et al.*, 2014). Injeksi intraperitoneal dilakukan pada bagian kuadran posterior abdomen menggunakan spuit ukuran 0.1 mL. Tikus di pegang bagian punggungnya, jarum diinjeksikan dengan sudut kemiringan 45° di posisi bawa lekukan lutut kiri atau kanan dari garis tengah untuk mencegah penetrasi ke dalam kandung kemih (Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan, 2017)

3.6.3 Dosis Dextrose

Dosis dextrose yang digunakan pada penelitian ini adalah dextrose 10% sebanyak 50 mL per tikus diberikan setelah pemberian STZ selama 24 jam (Wijaya *et al.*, 2017).

3.6.4 Kadar Glukosa Darah

Kadar glukosa darah pada penelitian ini dikatakan tikus dikatakan positif mengalami hiperglikemi jika melebihi 200 mg/dL pada hari ke-5 setelah pemberian STZ mengacu pada Nakahara (2013).

3.6.5 Waktu dan Lama Perlakuan Hewan coba

Waktu dan lama perlakuan hewan coba pada penelitian ini yaitu selama 26 hari dengan rincian 7 hari adaptasi, hari ke-8 pemberian STZ dan dextrose, pemeriksaan glukosa dan BB seminggu sekali dimulai dari hari ke-13, hari ke-14 pemberian luka eksisi, hari ke-15 sampai hari ke-25 pemberian fraksi dan pengukuran luka setiap 2 hari sekali, hari ke-26 teminasi dan pengambilan jaringan.

3.6.6 Pemeliharaan dan Perlakuan Hewan Coba

Pemeliharaan dan perlakuan hewan coba yang dilakukan pada penelitian ini dengan menggunakan kandang berukuran 45 x 30 x 20 cm dan beralaskan jaring-jaring yang dibawahnya diberi sekam kering. Setiap kandang berisi 1 hewan coba dengan pemberian makanan pellet dan minuman berupa aquades secara *ad libitum* pada semua kandang.

3.6.7 Usia Tikus

Usia tikus yang dilakukan pada penelitian ini yaitu usia 2-3 bulan karena pada usia tersebut organ hewan coba terutama pankreas telah matur baik secara anatomis maupun fisiologis (Julianto, 2015; Noel, 2013).

3.6.8 Jenis Kelamin Tikus

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan karena untuk mengurangi efek hormonal (Julianto, 2015).

3.6.9 Kepadatan Kolagen

Kepadatan kolagen yang dimaksud dalam penelitian ini adalah luas persentase serabut kolagen preparat histopatologi luka pada tikus diabetes dengan pengecatan spesifik kolagen yaitu *Masson's trichome* (Novriansyah, 2008). Pengambilan kulit tikus diambil dengan luas 1,5 cm x 1,5 cm dengan sentral kulit yang terdapat luka (Isrofah *et al.*, 2015). Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop Olympus seri DP21 dengan objek perbesaran 400x yang diamati 6 lapang pandang kemudian diambil gambar. Gambar diolah dengan menggunakan *software imageJ* (Enggalhardjo, 2015).

3.7 Alat dan Bahan

3.7.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah

- a. Alat untuk pemeliharaan tikus adalah bak plastik, penutup kawat, alas jaring-jaring dari kawat, tempat makan, botol minum, dan label, dan kassa sebagai pelapis penutup tutup kandang.
- b. Alat untuk pembuatan fraksi umbi bidara upas adalah *blender*, ayakan, beaker glass, timbangan, corong *Buchner*, *rotator evaporator*, maserator, *freeze dryer*, handscoon, dan pengaduk.
- c. Alat untuk pemberian fraksi umbi bidara upas adalah aluminium foil, spatula, neraca ohaus, ultrasonic, dan handscoon.
- d. Alat untuk pemberian STZ adalah *beaker glass*, pengaduk, spuit, neraca ohaus, dan handscoon.
- e. Alat untuk memeriksa glukosa darah tikus adalah gunting bedah dan *glucotest*
- f. Alat untuk pemberian luka eksisi pada tikus adalah spuit, stempel cetakan luka 2,5x2,5 cm, alat bedah, dan *handscoon*
- g. Alat untuk mengukur luas penyembuhan luka adalah kertas kalkir dan spidol
- h. Alat mengambil jaringan kulit adalah alat bedah, tempat fiksasi, dan handscoon
- i. Alat pengamatan preparat histoPA kulit adalah mikroskop, kamera, komputer/laptop, dan *software imageJ*

3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah

- a. Bahan untuk pemeliharaan tikus adalah pakan turbo dan sekam kering.
- b. Bahan untuk pembuatan fraksi umbi bidara upas adalah umbi bidara upas, etanol 70%, aquades, etil asetat, dan n-heksana.

- c. Bahan untuk pemberian fraksi umbi bidara upas adalah fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana.
- d. Bahan untuk pemberian STZ adalah STZ, dan buffer sitrat.
- e. Bahan untuk pemeriksaan glukosa darah tikus adalah stik glukosa dan darah ekor tikus yang digunting 0,5 cm.
- f. Bahan untuk pemberian luka eksisi pada tikus adalah ketamin dan xylazin.
- g. Bahan pengambilan jaringan kulit adalah klorofom dan formalin 10%.
- h. Bahan pengamatan preparat histoPA kulit adalah *Masson's trichom* kit.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Uji Kelayakan Etik

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

3.8.2 Pemilihan Hewan Coba

Jumlah hewan coba adalah 25 ekor tikus (*Rattus wistar*) dibagi menjadi 5 kelompok secara randomisasi dengan sesuai dengan kriteria inklusi.

3.8.3 Adaptasi Hewan Coba

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

3.8.4 Pembagian Kelompok Perlakuan

Jumlah kelompok pada penelitian ini adalah 5 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 5 tikus. Pembagian kelompok tikus dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Pembagian Kelompok Perlakuan

| Nama Kelompok | Perlakuan yang Diberikan |
|---------------|--|
| Kelompok K- | Pemberian aquades |
| Kelompok K+ | Pemberian gentamicin 0,1% |
| Kelompok P1 | Pemberian Fraksi Etil asetat umbi bidara upas dosis 25mg/tikus |
| Kelompok P2 | Pemberian Fraksi Air umbi bidara upas dosis 25mg/tikus |
| Kelompok P3 | Pemberian Fraksi n-Heksana umbi bidara upas dosis 25mg/tikus |

3.8.5 Pembuatan Ekstrak

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

3.8.6 Pembuatan Fraksi Ekstrak Umbi Bidara Upas

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

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

2. Ditambahkan 360 mL n-heksana dalam corong pisah lalu dikocok 2-5 menit dan didiamkan sampai lapisan n-heksana dan air terpisah, kemudian seluruh lapisan n-heksana diambil. Tahap ini diulang dua kali
3. Lapisan n-heksana yang didapatkan dipekatkan dengan *rotary evaporator* untuk mendapatkan fraksi n-heksana
4. Sedangkan lapisan air ditambahkan 360 mL etil asetat dalam corong pisah, kemudian dikocok 2-5 menit dan didiamkan sampai lapisan etil asetat dan air terpisah. Seluruh lapisan etil asetat diambil. Tahap ini diulang dua kali
5. Lapisan etil asetat yang didapatkan dipekatkan dengan *rotary evaporator* untuk mendapatkan fraksi etil asetat
6. Sedangkan lapisan air kemudian dipekatkan dengan *freeze drying* untuk mendapatkan fraksi air.
7. Ekstrak yang tidak dapat larut dalam air, n-heksana, dan etil asetat dianggap sebagai lapisan etanol yang tidak digunakan dalam penelitian ini

3.8.7 Penginduksian Streptozotocin (STZ)

Induksi STZ dilakukan secara intraperitoneal dengan dosis 40 mg/kgBB dalam 0,1 M Buffer sitrat pada hari ke-8 (Badr, 2013; Damasceno *et al.*, 2014).

3.8.8 Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah

Pemeriksaan kadar glukosa darah dengan cara mengambil darah dengan memotong 0,5 cm ekor tikus kemudian darah yang keluar diperiksa dengan *glucotest* merk *easy touch*. Pemeriksaan dilakukan setiap 1 minggu sekali dimulai 5 hari setelah induksi STZ dan sebelum terminasi yaitu pada hari ke-13, 21, dan 26.

3.8.9 Pemberian Luka Eksisi

Pemberian luka Eksisi pada tikus dilakukan pada hari ke 14 didahului dengan pemberian ketamin dosis 80 mg/KgBB dan xylazin 10 mL/KgBB secara intramuskular (Badr, 2013). Pemberian kombinasi ketamin dan xylazin sebagai keperluan anastesi hewan coba untuk mengurangi rasa nyeri akibat pemberian

luka. Ketamin sebagai analgesik dan xylazin akan menyebabkan relaksasi pada otot (Yudaniayanti *et al.*, 2010). Ditunggu hingga tikus tidur, kemudian bulu tikus dicukur bersih pada bagian kulit yang akan dilakukan eksisi. Diberi stempel cetakan luka 2.5x2.5 cm, kemudian dilakukan eksisi sesuai dengan ukuran cetakan. Jaringan yang diambil adalah jaringan kulit dari lapisan epidermis sampai lapisan subkutis (Julianto, 2015).

3.8.10 Pemberian Fraksi Ekstrak Umbi Bidara Upas

Pemberian Fraksi dilakukan setiap 2 hari sekali dimulai 24 jam setelah pemberian luka atau pada hari ke-15 sampai hari ke-25. Pemberian dosis tiap fraksi adalah 25 mg sesuai dengan kelompok perlakuan (Mahmood *et al.*, 2016).

3.8.11 Pengukuran Luas Penyembuhan Luka

Luas luka diukur dengan metode Mun'im *et al.* (2011) yaitu dengan mengukur luas luka dengan menggunakan kertas transparan atau kalkir kemudian diletakkan pada kertas *millimeter block* untuk menghitung luas areanya. Pengukuran luas penyembuhan luka dilakukan 2 hari sekali dimulai 24 jam setelah diberi luka eksisi dan sebelum terminasi yaitu hari ke-15 sampai hari ke-26. Pengukuran dilakukan dengan teknik *blind* dan diukur 2 kali untuk menghindari bias. Persentase penyembuhan luka dihitung dengan cara:

$$\text{Luas penyembuhan luka pada hari } X (\%) = \left(\frac{\text{Luas area luka hari 0} - \text{Luas area luka hari } X}{\text{Luas area hari 0}} \right) \times 100\%$$

(Mun'im *et al.*, 2011)

3.8.12 Pengambilan Jaringan Kulit

Pengambilan jaringan kulit yang luka dilakukan pada hari ke-26. Sebelum diambil jaringannya, tikus diterminasi dengan diberi anastesi inhalasi kloroform, kemudian diambil jaringan kulit yang luka dan disimpan dalam botol jaringan yang sudah berisi formalin 10%.

3.8.13 Pembuatan Preparat HistoPA

Pembuatan preparat histoPA dengan menggunakan pewarnaan *Masson's trichome* yaitu pewarnaan spesifik untuk kolagen yang akan memberikan warna biru atau hijau terang pada serabut kolagen. Pembuatan preparat dilakukan di laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Teknik pembuatan preparat histopa kulit dengan pewarnaan *Masson's trichome* adalah sebagai berikut :

a. Fiksasi

Jaringan kulit dimasukkan dalam larutan formalin buffer (larutan formalin 10% dalam phospat buffer salin ppada PH 7,0) selama 18-24 jam. Setelah fiksasi selesai jaringan dimasukkan dalam larutan aquadest selama 1 jam agar larutan fiksasi hilang.

b. Dehidrasi

Jaringan dimasukkan dalam alkohol konsentrasi bertingkat. Jaringan akan menjadi lebih jernih dan transparan. Jaringan kemudian dimasukkan kedalam larutan *alcohol-xylol* selama 1 jam, kemudian larutan xylol murni selama 2x2 jam

c. Impregnasi

Potongan jaringan dimasukkan dalam paraffin cair selama 2x2 jam

d. Embedding

Potongan jaringan dimasukkan ke dalam paraffin padat dengan titik lebur 56-58°C ditunggu sampai paraffin menjadi padat. Jaringan dalam paraffin dipotong setebal 4 mikron dengan menggunakan alat mikrotom. Potongan jaringan ditempelkan diatas objek glass yang sebelumnya telah diolesi polilisin sebagai perekat. Selanjutnya jaringan pada kaca objek dipanaskan di dalam inkubator suhu 56-58°C sampai paraffin mencair

e. Pewarnaan dengan metode *Masson's trichome*

Preparat difiksasi dengan formalin 10%, kemudian dilakukan deparafinisasi dengan aquabidest, dimasukkan kedalam larutan boin's selama 1 jam pada suhu 56°C, didinginkan dan cuci dengan air mengalir

sampai warna kuningnya menghilang, kemudian dibilas dengan aquabidet. Preparat dimasukkan ke dalam larutan *weigert's iron hematoxylin* selama 10 menit lalu cuci dengan air mengalir selama 10 menit, kemudian dibilas dengan aquabidest. Kemudian direndam dalam larutan *biebrich scarlet-acid fuchsin* selama 2 menit, dibilas kembali dengan aquabidest, dimasukkan ke dalam asam *phosphomolybdic-phosphotungstic* selama 10 menit lalu larutan anillin blue selama 5 menit, dibilas dengan aquabidest, dimasukkan ke dalam larutan asam glacial asetat selama 3 menit. Didehidrasi dengan alkohol 95%-100%, dibersihkan dengan xylene sebanyak 2x, kemudian dilakukan *mounting* dengan kanada balsam (Novriansyah, 2008)

3.8.14 Pengamatan Kepadatan Kolagen

Pengamatan dilakukan dengan arahan ahli Patologi Anatomi. Lokasi pengamatan kolagen adalah di daerah bekas luka eksisi dengan metode *blind*. Pengamatan kepadatan kolagen dengan menggunakan mikroskop Olympus seri DP21 dengan perbesaran 400x pada 6 lapang kemudian diambil gambar selanjutnya diukur kepadatan kolagen dengan menggunakan *software imageJ* (Enggalhardjo, 2015; Chen *et al.*, 2017).

3.9 Analisis Data

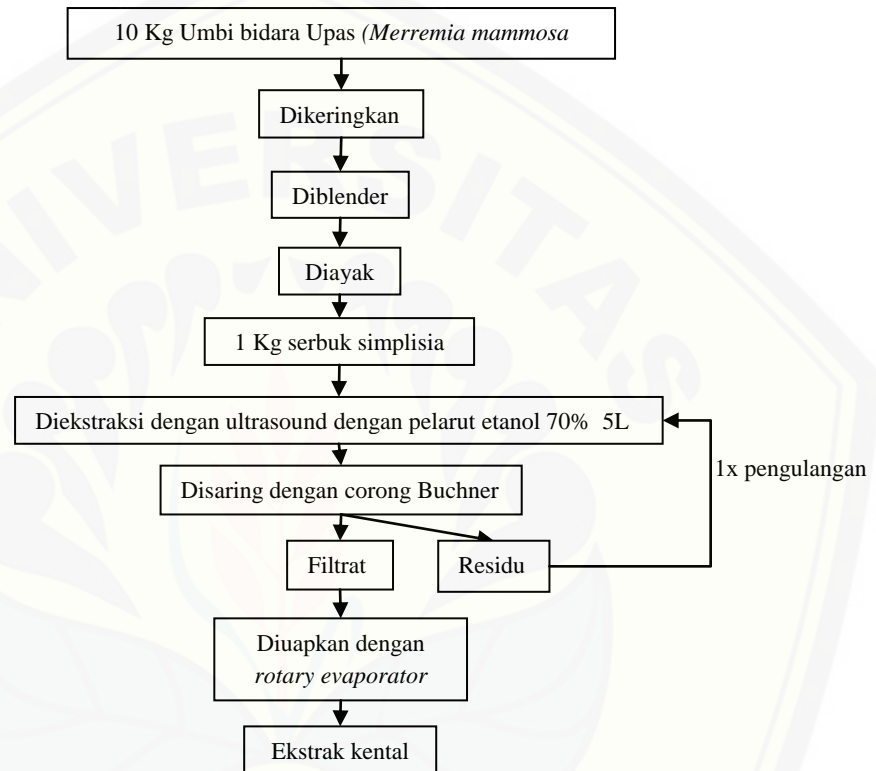
Analisis data penelitian ini menggunakan program SPSS versi 23.0. Sebelum dilakukan uji statistik, dilakukan uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas menggunakan *lavene's test*. Apabila data terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* ($p < 0,05$) dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey* ($p < 0,05$), apabila tidak maka dilanjutkan dengan uji *Kruskal Wallis* ($p < 0,05$) dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Mann-Whitney* ($p < 0,05$).

3.10 Alur Penelitian

Tahapan penelitian adalah sebagai berikut :

a. Skema Proses Ekstraksi Umbi Bidara Upas

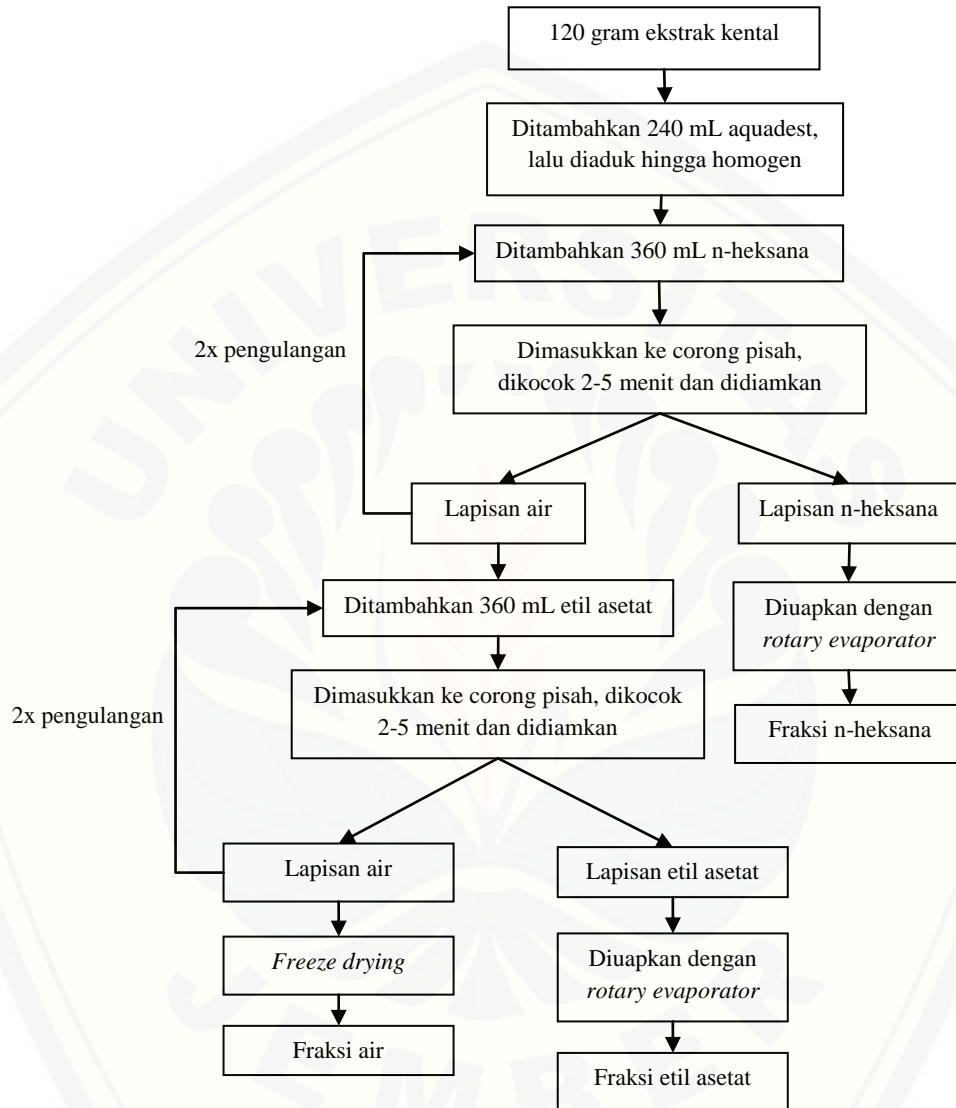
Skema proses ekstraksi umbi bidara upas dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Skema Proses Ekstraksi Umbi Bidara Upas

b. Skema Prosedur Fraksinasi Ekstrak Umbi Bidara Upas

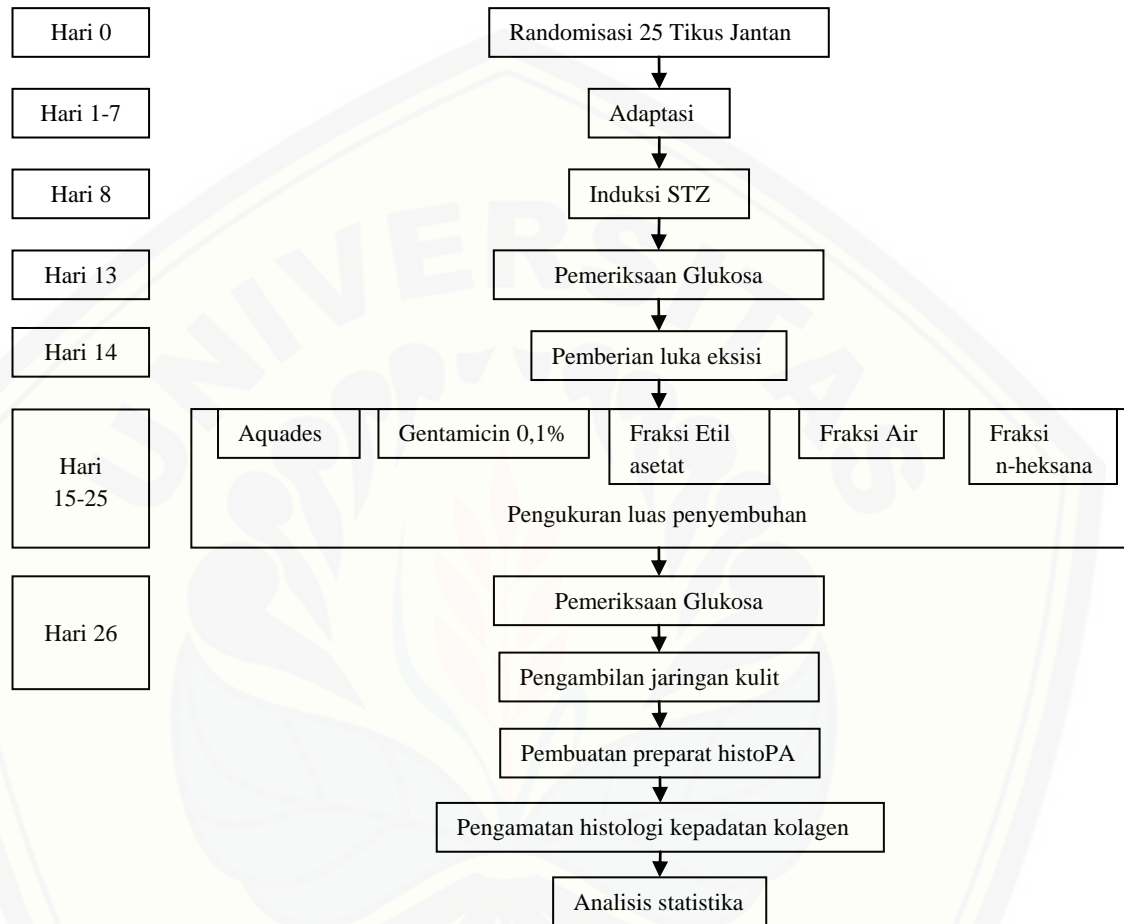
Skema prosedur fraksinasi ekstrak umbi bidara upas dapat dilihat pada Gambar 3.3.



Gambar 3.3 Skema Prosedur Fraksinasi Ekstrak Umbi Bidara Upas

c. Skema Prosedur Penyembuhan Luka pada Penderita Diabetes

Skema prosedur penyembuhan luka pada penderita diabetes dapat dilihat pada Gambar 3.4.



Gambar 3.4 Skema Prosedur Penyembuhan Luka pada Penderita Diabetes

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Fraksinasi ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mamosa Lour*) berpengaruh terhadap penyembuhan luka pada penderita diabetes.
2. Fraksi air ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mamosa Lour*) berpengaruh terhadap penyembuhan luka pada penderita diabetes.
3. Fraksi etil asetat ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mamosa Lour*) tidak berpengaruh terhadap penyembuhan luka pada penderita diabetes.
4. Fraksi n-Heksana fraksi ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mamosa Lour*) berpengaruh terhadap penyembuhan luka pada penderita diabetes.
5. Fraksi air merupakan jenis fraksi ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mamosa Lour*) paling berpengaruh terhadap penyembuhan luka pada penderita diabetes.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, penulis dapat memberikan saran sebagai berikut.

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan mempertimbangkan variasi dosis fraksi ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mamosa Lour*) untuk mengetahui dosis efektif.
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan mempertimbangkan bahan pembawa (*vehicle*) sebagai campuran dalam pemberian fraksi ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mamosa Lour*) untuk lebih mengefektifkan terapi.

3. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan melakukan isolasi flavonoid dan tanin dari tiap jenis fraksi ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mamosa* Lour).



DAFTAR PUSTAKA

- Agil, M., N. R. Widyowati, dan N. E. Nasution. 2016. *Fraksinasi dan Uji Daya Hambat Bakteri Mycobacterium tuberculosis Dari Ekstrak N-Heksana dan Metanol Umbi Bidara Upas (Merremia mammosa Hall.)*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Agustina, D.R. 2011. Pengaruh Pemberian Secara Topikal Kombinasi Rebusan Daun Sirih Merah (*Piper Ef. Fragile, Benth*) Dan Herba Pegagan (*Centella asiatica, (L.) Urb*) Terhadap Penyembuhan Luka Tikus Putih Jantan Yang Dibuat Diabetes. *Skripsi*. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
- Akhsanita, M. 2012. Uji Sitotoksik Ekstrak, Fraksi, dan Sub-Fraksi Daun Jati (*Tectona grandis Linn. F.*) Dengan Metoda *Brine Shrimp Lethality Bioassay*. *Skripsi*. Padang: Universitas Andalas.
- Amaliya, S., B. Soemantri, dan Y. W. Utami. 2013. Efek Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) Dalam Mempercepat Penyembuhan Luka Terkontaminasi Pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Galur Wistar. *Jurnal Ilmu Keperawatan* 1(1):19-25.
- Badr, G. 2013. Camel Whey Protein Enhances Diabetic Wound Healing In a Streptozotocin-Induced Diabetic Mouse Model: The Critical Role Of B-Defensin-1, -2 And -3. *Badr Lipids in Health and Disease*: 12:46.
- Brasaslu, E. D. 2007. Normal Blood Glucose In White Wistar Rat And Its Change Following Anesthesia. *Journal Lucrari Stiintifice Medicina Veterinara* 40:121.
- Chen, Y., Q. Yu, dan C. Xu. 2017. A Convenient Method For Quantifying Collagen Fibers In Atherosclerotic Lesions By ImageJ Software. *Int J Clin Exp Med* 10(10):14904-14910.
- Chin, L.C.H. dan A.J.M. Boulton. 2009. The Diabetic Foot : Epidemiology, Risk Factor, and Standards of Care In General Surgery. *Springer* 1867-1876.
- Choulage, A. D., S.N. Panaskar, P. M. Gurao, dan A. U Arvindekar. 2007. Optimization of Alloxan Dose is Essential to Induce Stable Diabetes for Prolonged Period. *Asian Journal of Biochemistry* 2(6):402-408.
- Damasceno, D. C., A. O. Netto, I. L. Iessi, F. Q. Gallego, S. B. Corvino, B. Dallaqua, Y. K. Sinzato, A. Bueno, I. M. P. Calderon, dan M. V. C. Rudge. 2014. Streptozotocin-Induced Diabetes Models:

- Pathophysiological Mechanisms and Fetal Outcomes. Hindawi Publishing Corporation. *BioMed Research International*:1-11.
- Dewi, A.S. 2007. Uji Antioksidan Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Ekstrak Etanol The Hijau Melalui Penangkapan Radikal Hidroksil dengan Metode Deoksiribosa. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Djunaidi, F., E. Mardiyah, Widjiati. 2015. Pemberian Topikal Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya*) pada Hewan Coba Mencit (*Mus musculus*) Bunting Meningkatkan Kepadatan Kolagen Jaringan Vagina. *Majalah Obstetri & Ginekologi* 23(3):118-127.
- Dwitiyanti, Sediarto, dan A. A. Kusuma. 2015. Pengaruh Pemberian Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol 70% Herba Pegagan Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Tikus Putih Jantan. *Media Farmasi* 12(2): 176-185.
- Enggalhardjo, M., S. Wahid, D. Sajuthi, dan I. Yusuf. 2015. Effect of Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells in Photoaging Balb/C Mouse Model. *American Journal of Medical and Biological Research* 3 (1): 48-52.
- Ezzat, S. M., M. A. Choucry, dan Z. A. Kandil. 2015. Antibacterial, antioxidant, and topical anti-inflammatory activities of *Bergia ammannioides*: A wound-healing plant. *Pharmaceutical Biology*:1-10.
- Faisal, A. P. dan Azhari. 2017. Identifikasi Meyabolit Sekunder Dan Aktivitas Antioksidan Daun Mojo Daun Mojo (*Aegle Marmelos L.*) Terhadap Radikal Bebas DPPH (*1,1 Difenil-2-pikrilhidrazil*). *Mahakam Medical Laboratory Technology Journal* 11(1):27-36.
- Farizal, J. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa*) Terhadap Proliferasi Limfosit Dan Produksi Roi Makrofag Studi Eksperimental Infeksi *Salmonella Typhimurium* pada Mencit Balb. *Tesis*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Flanagan, M. 2000. The Physiology Of Wound Healing. *Journal Of Wound Care* 9(6):299-300.
- Goud, B. J., D. V., dan B.K.C. Swamy. 2015. Streptozotocin - A Diabetogenic Agent in Animal Models. *International Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Research* 3(1).
- Hidayat, F. K. , U. Elfiah, dan K. D. Sofiana. 2015. Jumlah Makrofag pada Luka Insisi Full Thickness yang diberi Ekstrak Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa (Lour)*) pada Tikus Wistar Jantan. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan* 3 (3): 386-390.

- Julianto, I.G.P. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Umbi Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa (Lour)*) terhadap Proses Penyembuhan Luka dan Kadar Gula Darah pada Tikus Wistar Jantan Hiperglikemi. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Kartika, R.W. 2017. Pengelolaan Gangren Kaki Diabetesik. *CDK-248* 44(1): 248.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2014. *Situasi dan Analisis Diabetes*. Jakarta Selatan : Pusat Data dan Informasi Kementrian Kesehatan RI.
- King, A. JF. 2012. The Use of Animal Models in Diabetes Research. *British Journal of Pharmacology* 166 :877–894.
- Kintoko, H. Karimatulhadj, T. Y. Elfasyari, E. A. Ihsan, T. A. Putra, P. Hariadi, C. Ariani, dan Nurkhasanah. 2017. Effect of Diabetes Condition on Topical Treatment of Binahong Leaf Fraction in Wound Healing Process. *Traditional Medicine Journal* 22(2): 103-110.
- Lubis, A. A. 2013. Pengaruh Ekstrak Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa (Lour) Hall.f*) Terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhi*. *Skripsi*. Padang: Sekolah Tinggi Keguruan dan Ilmu Pendidikan PGRI Sumatera Barat.
- Mahmood, A., A. K. Tiwari, K. Sahin, O. Kucuk ,dan S.Ali. 2016. Triterpenoid Saponin-Rich Fraction of *Centella Asiatica* Decreases IL-1 β And NF-K κ B, and Augments Tissue Regeneration and Excision Wound Repair. *Turkish Journal of Biology* 40: 399-409.
- Margolis, D. J., J. Kantor, dan J. A. Berlin. 1999. Healing Of Diabetic Neuropathic Foot Ulcers Reveiving Standard Treatment. *Diabetes Care* 22(5):692-695.
- Marpaung, P. N. S., A. C. Wullur, dan P. V. Y. Yamlean. 2014. Uji Efektivitas Sediaan Salep Ekstrak Daun Miana (*Coleus scutellarioides [L] Benth.*) Untuk Pengobatan Luka Yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT* 3(3): 170-175.
- Mazni, R. 2008. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa Chois*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* serta *Brine Shrimp Lethality Test*. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyama, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan* 7(2):361-367.

- Mun'im, A., Azizahwati, dan F. Ayu. 2011. Wound Healing Effect Of Sirih Merah (*Piper cf. fragile, Benth*) Leaves infusion topically on experimental diabetic rats. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*.
- Nakahara, Y., T. Sano, Y. Kodama², K. Ozaki, dan T. Matsuura. 2013. Glycemic Control with Insulin Prevents Progression of Dental Caries and Caries-related Periodontitis in Diabetic WBN/KobSlc Rats. *Toxicologic Pathology* 41:761-769.
- Nayak, B. S., L. P. Pereira, dan D. Maharaj. 2007. Wound Healing Activity Of Carica Papaya L. In Experimentally Induced Diabetic Rats. *Indian Journal of Experimental Biology* 45:739-743.
- Ngajowa, M., J. Abidjulu, dan V. S. Kamu. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoac (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. *Jurnal Mipa Unsrat Online* 2(2):128-132.
- Novriansyah, R. 2008. Perbedaan Kepadatan Kolagen Disekitar Luka Indisi Tikus Wistar Yang Dibalut Kasa Konvensional dan Penutup Oklusif Hidrokoloid Selama 2 Dan 14 Hari. *Tesis*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Nugroho, A. E. 2006. Review : Hewan Percobaan Diabetes Mellitus : Patologi Dan Mekanisme Aksi Diabetogenik. *Biodiversitas* 7(4):378-382.
- Nurlitasari. 2015. Efek Pemberian Secara Oral Kombinasi Infusa Daun Sirih Merah (*Piper cf. fragile, Benth.*) dan Herba Pegagan (*Centella asiatica, (L.) Urb*) Terhadap Penyembuhan Luka Tikus Putih Jantan Yyng Dibuat Diabetes. *Skripsi*. Depok: Universitas Indonesia.
- Orsted, H. L. D. Kreast, L. Forest-Lalande, dan M. F. Megie. 2011. Basic Prinsiple of Wound Healing. *Wound Care Canada* 9(2):4-12.
- Pasilala, F. B., Daniel, dan C. Saleh. 2016. Uji Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) Dan Aktivitas Antioksidan Dari Daun Sintrong (*Crassocephalum Crepidioides*) Dengan Metode 2,2-diphenyl-1-picrylhidrazil (DPPH). *Jurnal Kimia Mulawarman* 14:13-14.
- Prahesti, N. R., M. Suzery, dan B. Cahyono. 2015. The Antioxidant Activities, Phenolic Total and Cytotoxicity of Extract and Fractions of *Aloe Vera* Linn). *Jurnal Sains dan Matematika* 23 (2): 50-54.

- Pratiwi, L., A. Fudholi, R. Martien, dan S. Pramono. 2016. Ethanol Extract, Ethyl Acetate Extract, Ethyl Acetate Fraction, and n-Heksan Fraction Mangosteen Peels (*Garcinia mangostana L.*) As Source of Bioactive Substance Free-Radical Scavengers. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research* 1: 71 – 82.
- Rahayu, S., N. Kurniasih, dan V. Amalia. 2015. Ekstraksi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Limbah Kulit Bawang Merah Sebagai Antioksidan Alami. *Al Kimiya* 2(1):1-8.
- Rizka, A., V.S. Budipramana, dan D. Fauziah. 2012. Kepadatan Kolagen tipe 1 pada luka operasi tikus Wistar yang mengalami anemia karena perdarahan akut. *Journal of emergency* 1(1).
- Rumayati, N. Idiawati, dan L. Destiarti. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan, Total Fenol Dan Toksisitas Dari Ekstrak Daun Dan Batang *Lakum (Cayratia trifolia (L) Domin)*. *JKK* 3(3):30-35.
- Sasmito, Darsono, Z. Kamal, dan Matrozi. Kemampuan fraksi ekstrak air dan etil asetat daun Benalu petai (*Dendrophthoe pentandra L. Miq*) melarutkan batu ginjal kalsium invitro yang diuji dengan metode aktivasi neutron cepat. 2001. *Majalah Farmasi Indonesia* 12(4):186-193.
- Snyder, R. J. dan B. Sigal. 2005. The Physiology of Wound Healing. *Podiatry Management* 187-192.
- Sofiana, K. D., U. Elfiah, dan E. Umayah. 2015. Pengaruh Ekstrak Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa Lour*) Terhadap Penyembuhan Luka Tikus Jantan Hiperglikemi. <http://repository.unej.ac.id> [Diakses pada 20 Agustus 2017].
- Sugara, T. H, T. T. Irawadi, I. H. Suprpto, dan M. Hanafi. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Tanaman Bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) . *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina* 1(1):88-96.
- Suyono, S. 2015. *Diabetes Melitus di Indonesia*. Editor S. Setiati, I. Alwi, A. W. Sudoyo, M. S. K., B. Setiyohadi, dan A. F. Syam. 2015. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi Empat. Jilid 2. Jakarta: Interna Publishing.
- Tanaya, V., R. Retnowati, dan Suratmo. 2015. Fraksi Semi Polar dari Daun Mangga Kasturi (*Mangifera casturi Kosterm*). *Kimia Student Journal* 1(1):778-784.

- Tripathi, V. dan J. Verma. 2014. Different Models Used To Induce Diabetes: A Comprehensive Review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 6(6).
- Waspadji, S. 2015. *Kaki Diabetes*. Editor S. Setiati, I. Alwi, A. W. Sudoyo, M. S. K., B. Setiyohadi, dan A. F. Syam. 2015. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi Empat. Jilid 2. Jakarta: Interna Publishing.
- Wijaya, M. C., G. M. Sari, dan D. Tinduh. 2017. Hyperglycemia Caused Reduction Of Cortical Bone Thickness In Streptozotocin-Induced Diabetic Rat. *Bali Medical Journal* 6 (1): 161-163.
- Winarsih, W., I. Wientarsih, E. Handharyani, dan R. M. Almira. 2010. Evaluasi Aktivitas Fraksi Hexan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa*) dalam Persembuhan Luka pada Mencit. *Indonesian Journal of Veterinary Science & Medicine* 1(2):37-44.
- Yudaniayanti, I. S, E. Maulana, dan A. Ma'ruf. 2010. Profil Penggunaan Kombinasi Ketamin-Xylazine dan Ketamin-Midazolam Sebagai Anestesi Umum Terhadap Gambaran Fisiologis Tubuh pada Kelinci Jantan. *Veterinaria Medika* 3(1):23-30.

LAMPIRAN

Lampiran 3.1 Dokumentasi Kegiatan Penelitian

a. Proses Ekstraksi



Penimbangan serbuk simplisia



Penambahan etanol 70%



Proses maserasi dengan ultrasonik



Penyaringan



Proses menguapkan dengan
rotary evaporator

b. Proses Fraksinasi



Proses menguapkan dengan
rotary evaporator

c. Prosedur Penyembuhan Luka pada Penderita Diabetes



Kandang pemeliharaan hewan coba



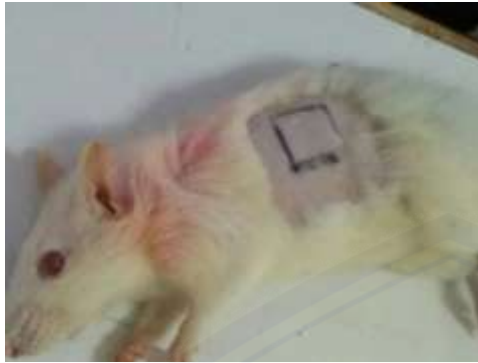
Induksi Ketamin dan Xylazin



Pemeriksaan glukosa darah



Proses pembersihan bulu tikus



Proses mencetak luka
eksisi kulit tikus



Proses eksisi kulit tikus



Hasil eksisi kulit tikus



Pengukuran luas luka tikus

d. Pengamatan Preparat Histopatologi



Pengamatan Preparat Histopatologi
Kepadatan Kolagen

Lampiran 3.2 Surat Keterangan Persetujuan Etik

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

KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK
ETHICAL APPROVAL
Nomor : 1.134 /H25.1.11/KE/2017

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

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

PENGEMBANGAN FRAKSI EKSTRAK UMBI BIDARA UPAS (*Merremia mammosa Lour*) SEBAGAI SEDIAAN GEL PENYEMBUHAN LUKA DIABETIK

Nama Peneliti Utama : dr. Ancah Caesarina Novi M,Ph.D
Name of the principal investigator

NIDN : 0009038206

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

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

Jember, 12 Juni 2017
Ketua Komisi Etik Penelitian

dr. Rini Riyanti, Sp.PK





KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER

KOMISI ETIK PENELITIAN

Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember 68121 – Email :
fk_unej@telkom.net

KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK

ETHICAL APPROVA

Nomor : 1.175 /H25.1.11/KE/2017

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

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

PENGARUH JENIS PELARUT FRAKSI EKSTRAK UMBI BIDARA UPAS (*Merremia Lour*) TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA DIABETES BERDASARKAN KEPADATAN KOLAGEN

Nama Peneliti Utama : Mega Citra Prameswari
Name of the principal investigator

NIM : 142010101078

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

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

Jember, 24 Oktober 2017

Ketua Komisi Etik Penelitian



Dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Lampiran 4.1 Hasil dan Uji Statistika Persentase Penyembuhan Luka

| | Kelompok | H1 | H3 | H5 | H7 | H9 | H11 |
|----|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 1 | 46.88 | 47.52 | 59.12 | 67.68 | 74.72 | 76.48 |
| 2 | 1 | 13.12 | 43.68 | 76.00 | 63.52 | 72.00 | 83.68 |
| 3 | 1 | 23.68 | 46.24 | 64.32 | 64.00 | 69.92 | 82.08 |
| 4 | 1 | 27.36 | 40.00 | 65.12 | 77.44 | 72.80 | 81.76 |
| 5 | 1 | 27.04 | 44.64 | 68.64 | 63.60 | 79.04 | 84.80 |
| 6 | 2 | 30.44 | 63.36 | 81.44 | 88.00 | 90.88 | 91.36 |
| 7 | 2 | 32.00 | 65.12 | 84.64 | 90.56 | 94.40 | 95.68 |
| 8 | 2 | 40.48 | 47.84 | 66.72 | 83.04 | 91.68 | 92.16 |
| 9 | 2 | 24.96 | 31.52 | 43.20 | 77.44 | 78.88 | 91.68 |
| 10 | 2 | 24.32 | 44.48 | 57.60 | 63.68 | 10.24 | 89.92 |
| 11 | 3 | 10.08 | 78.72 | 47.84 | 83.52 | 83.68 | 87.04 |
| 12 | 3 | 27.72 | 54.08 | 71.84 | 65.12 | 92.64 | 92.64 |
| 13 | 3 | 21.08 | 26.56 | 37.76 | 84.32 | 75.36 | 85.12 |
| 14 | 3 | 28.48 | 41.60 | 66.48 | 72.20 | 87.36 | 93.28 |
| 15 | 3 | 19.04 | 37.76 | 41.28 | 55.84 | 72.48 | 84.48 |
| 16 | 4 | 32.00 | 41.76 | 60.64 | 86.88 | 94.40 | 96.80 |
| 17 | 4 | 33.28 | 46.24 | 75.68 | 82.72 | 91.20 | 93.40 |
| 18 | 4 | 31.68 | 43.44 | 73.44 | 75.68 | 83.68 | 92.16 |
| 19 | 4 | 39.68 | 37.92 | 68.96 | 81.28 | 90.08 | 93.76 |
| 20 | 4 | 16.16 | 47.84 | 64.96 | 80.00 | 91.04 | 90.88 |
| 21 | 5 | 32.00 | 48.96 | 55.76 | 74.40 | 72.96 | 95.52 |
| 22 | 5 | 35.20 | 54.24 | 70.88 | 76.32 | 84.00 | 94.88 |
| 23 | 5 | 26.08 | 47.36 | 68.28 | 93.28 | 91.04 | 90.72 |
| 24 | 5 | 49.76 | 60.96 | 69.44 | 85.60 | 83.68 | 84.96 |
| 25 | 5 | 25.60 | 33.44 | 39.20 | 62.08 | 81.12 | 84.64 |

EXAMINE VARIABLES=H1 H3 H5 H7 H9 H11 BY Kelompok

/PLOT NPLOT

/STATISTICS DESCRIPTIVES

/CINTERVAL 95

/MISSING LISTWISE

/NOTOTAL.

Explore

Kelompok

Case Processing Summary

| Kelompok | Cases | | | | | | |
|----------|--------------------|---------|---------|---------|-------|---------|--------|
| | Valid | | Missing | | Total | | |
| | N | Percent | N | Percent | N | Percent | |
| H1 | Negatif | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| | Positif | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| | Fraksi Etil Asetat | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| | Fraksi Air | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| | Fraksi n-Heksana | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| H3 | Negatif | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| | Positif | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| | Fraksi Etil Asetat | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| | Fraksi Air | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| | Fraksi n-Heksana | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| H5 | Negatif | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| | Positif | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| | Fraksi Etil Asetat | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| | Fraksi Air | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| | Fraksi n-Heksana | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| H7 | Negatif | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| | Positif | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| | Fraksi Etil Asetat | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| | Fraksi Air | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| | Fraksi n-Heksana | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| H9 | Negatif | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| | Positif | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| | Fraksi Etil Asetat | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| | Fraksi Air | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| | Fraksi n-Heksana | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| H11 | Negatif | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| | Positif | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |

Case Processing Summary

| Kelompok | Cases | | | | | |
|--------------------|-------|---------|---------|---------|-------|---------|
| | Valid | | Missing | | Total | |
| | N | Percent | N | Percent | N | Percent |
| Fraksi Etil Asetat | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| Fraksi Air | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| Fraksi n-Heksana | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |

Descriptives

| Kelompok | Statistic | Std. Error | |
|--------------------|----------------------------------|------------|-------|
| H1 Negatif | Mean | 27.6160 | |
| | 95% Confidence Interval for Mean | | |
| | Lower Bound | 12.4453 | |
| | Upper Bound | 42.7867 | |
| | 5% Trimmed Mean | 27.3511 | |
| | Median | 27.0400 | |
| | Variance | 149.281 | |
| | Std. Deviation | 12.21807 | |
| | Minimum | 13.12 | |
| | Maximum | 46.88 | |
| | Range | 33.76 | |
| | Interquartile Range | 18.72 | |
| | Skewness | .923 | .913 |
| | Kurtosis | 2.215 | 2.000 |
| Positif | Mean | 30.4400 | |
| | 95% Confidence Interval for Mean | | |
| | Lower Bound | 22.3282 | |
| | Upper Bound | 38.5518 | |
| | 5% Trimmed Mean | 30.2222 | |
| | Median | 30.4400 | |
| | Variance | 42.680 | |
| | Std. Deviation | 6.53299 | |
| | Minimum | 24.32 | |
| | Maximum | 40.48 | |
| | Range | 16.16 | |
| | Interquartile Range | 11.60 | |
| | Skewness | .930 | .913 |
| | Kurtosis | .558 | 2.000 |
| Fraksi Etil Asetat | Mean | 21.2800 | |
| | 95% Confidence Interval for Mean | | |
| | Lower Bound | 11.9922 | |
| | Upper Bound | 30.5678 | |
| | 5% Trimmed Mean | 21.5022 | |
| Median | 21.0800 | | |

Descriptives

| Kelompok | | Statistic | Std. Error |
|------------------|----------------------------------|----------------------------------|------------------------|
| | Variance | 55.953 | |
| | Std. Deviation | 7.48016 | |
| | Minimum | 10.08 | |
| | Maximum | 28.48 | |
| | Range | 18.40 | |
| | Interquartile Range | 13.54 | |
| | Skewness | -.772 | .913 |
| | Kurtosis | .052 | 2.000 |
| Fraksi Air | Mean | 30.5600 | 3.88111 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound 19.7843 | |
| | | Upper Bound 41.3357 | |
| | 5% Trimmed Mean | 30.8533 | |
| | Median | 32.0000 | |
| | Variance | 75.315 | |
| | Std. Deviation | 8.67843 | |
| | Minimum | 16.16 | |
| | Maximum | 39.68 | |
| | Range | 23.52 | |
| | Interquartile Range | 12.56 | |
| | Skewness | -1.404 | .913 |
| | Kurtosis | 3.013 | 2.000 |
| Fraksi n-Heksana | Mean | 33.7280 | 4.39735 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound 21.5190 | |
| | | Upper Bound 45.9370 | |
| | 5% Trimmed Mean | 33.2889 | |
| | Median | 32.0000 | |
| | Variance | 96.684 | |
| | Std. Deviation | 9.83278 | |
| | Minimum | 25.60 | |
| | Maximum | 49.76 | |
| | Range | 24.16 | |
| | Interquartile Range | 16.64 | |
| | Skewness | 1.374 | .913 |
| | Kurtosis | 1.877 | 2.000 |
| H3 | Negatif | Mean | 44.4160 |
| | | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound 40.8466 |
| | | | Upper Bound 47.9854 |
| | | 5% Trimmed Mean | 44.4889 |
| | | Median | 44.6400 |

Descriptives

| Kelompok | | Statistic | Std. Error | |
|----------------------------------|----------------------------------|-------------|------------|---------|
| | Variance | 8.264 | | |
| | Std. Deviation | 2.87466 | | |
| | Minimum | 40.00 | | |
| | Maximum | 47.52 | | |
| | Range | 7.52 | | |
| | Interquartile Range | 5.04 | | |
| | Skewness | -.886 | .913 | |
| | Kurtosis | .868 | 2.000 | |
| | Positif | Mean | 50.4640 | 6.25569 |
| 95% Confidence Interval for Mean | | Lower Bound | 33.0954 | |
| | | Upper Bound | 67.8326 | |
| 5% Trimmed Mean | | 50.7022 | | |
| Median | | 47.8400 | | |
| Variance | | 195.668 | | |
| Std. Deviation | | 13.98815 | | |
| Minimum | | 31.52 | | |
| Maximum | | 65.12 | | |
| Range | | 33.60 | | |
| Interquartile Range | | 26.24 | | |
| Skewness | | -.265 | .913 | |
| Kurtosis | | -1.342 | 2.000 | |
| Fraksi Etil Asetat | | Mean | 47.7440 | 8.90463 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 23.0208 | |
| | | Upper Bound | 72.4672 | |
| | 5% Trimmed Mean | 47.2000 | | |
| | Median | 41.6000 | | |
| | Variance | 396.462 | | |
| | Std. Deviation | 19.91136 | | |
| | Minimum | 26.56 | | |
| | Maximum | 78.72 | | |
| | Range | 52.16 | | |
| | Interquartile Range | 34.24 | | |
| | Skewness | 1.016 | .913 | |
| | Kurtosis | 1.026 | 2.000 | |
| | Fraksi Air | Mean | 43.4400 | 1.73915 |
| 95% Confidence Interval for Mean | | Lower Bound | 38.6113 | |
| | | Upper Bound | 48.2687 | |
| 5% Trimmed Mean | | 43.5022 | | |
| Median | | 43.4400 | | |

Descriptives

| Kelompok | | Statistic | Std. Error |
|------------------|----------------------------------|------------------------|------------|
| | Variance | 15.123 | |
| | Std. Deviation | 3.88886 | |
| | Minimum | 37.92 | |
| | Maximum | 47.84 | |
| | Range | 9.92 | |
| | Interquartile Range | 7.20 | |
| | Skewness | -.466 | .913 |
| | Kurtosis | -.498 | 2.000 |
| Fraksi n-Heksana | Mean | 48.9920 | 4.55688 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound 36.3401 | |
| | | Upper Bound 61.6439 | |
| | 5% Trimmed Mean | 49.1911 | |
| | Median | 48.9600 | |
| | Variance | 103.826 | |
| | Std. Deviation | 10.18950 | |
| | Minimum | 33.44 | |
| | Maximum | 60.96 | |
| | Range | 27.52 | |
| | Interquartile Range | 17.20 | |
| | Skewness | -.751 | .913 |
| | Kurtosis | 1.251 | 2.000 |
| H5 | Negatif | Mean | 66.6400 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound 58.8895 | 2.79153 |
| | | Upper Bound 74.3905 | |
| | 5% Trimmed Mean | 66.5378 | |
| | Median | 65.1200 | |
| | Variance | 38.963 | |
| | Std. Deviation | 6.24205 | |
| | Minimum | 59.12 | |
| | Maximum | 76.00 | |
| | Range | 16.88 | |
| | Interquartile Range | 10.60 | |
| | Skewness | .663 | .913 |
| | Kurtosis | .994 | 2.000 |
| | Positif | Mean | 66.7200 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound 45.4465 | 7.66215 |
| | | Upper Bound 87.9935 | |
| | 5% Trimmed Mean | 67.0311 | |
| | Median | 66.7200 | |

Descriptives

| Kelompok | | Statistic | Std. Error |
|--------------------|----------------------------------|------------------------|------------|
| | Variance | 293.542 | |
| | Std. Deviation | 17.13308 | |
| | Minimum | 43.20 | |
| | Maximum | 84.64 | |
| | Range | 41.44 | |
| | Interquartile Range | 32.64 | |
| | Skewness | -.400 | .913 |
| | Kurtosis | -1.283 | 2.000 |
| Fraksi Etil Asetat | Mean | 53.0400 | 6.82968 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound 34.0778 | |
| | | Upper Bound 72.0022 | |
| | 5% Trimmed Mean | 52.8444 | |
| | Median | 47.8400 | |
| | Variance | 233.222 | |
| | Std. Deviation | 15.27162 | |
| | Minimum | 37.76 | |
| | Maximum | 71.84 | |
| | Range | 34.08 | |
| | Interquartile Range | 29.64 | |
| | Skewness | .437 | .913 |
| | Kurtosis | -2.670 | 2.000 |
| Fraksi Air | Mean | 68.7360 | 2.74044 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound 61.1273 | |
| | | Upper Bound 76.3447 | |
| | 5% Trimmed Mean | 68.8000 | |
| | Median | 68.9600 | |
| | Variance | 37.550 | |
| | Std. Deviation | 6.12781 | |
| | Minimum | 60.64 | |
| | Maximum | 75.68 | |
| | Range | 15.04 | |
| | Interquartile Range | 11.76 | |
| | Skewness | -.264 | .913 |
| | Kurtosis | -1.516 | 2.000 |
| Fraksi n-Heksana | Mean | 60.7120 | 6.01718 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound 44.0056 | |
| | | Upper Bound 77.4184 | |
| | 5% Trimmed Mean | 61.3422 | |
| | Median | 68.2800 | |

Descriptives

| Kelompok | | Statistic | Std. Error |
|----------|----------------------------------|-------------|------------|
| | Variance | 181.032 | |
| | Std. Deviation | 13.45483 | |
| | Minimum | 39.20 | |
| | Maximum | 70.88 | |
| | Range | 31.68 | |
| | Interquartile Range | 22.68 | |
| | Skewness | -1.356 | .913 |
| | Kurtosis | .945 | 2.000 |
| H7 | Negatif | Mean | 67.2480 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 59.8547 |
| | | Upper Bound | 74.6413 |
| | 5% Trimmed Mean | 66.8889 | |
| | Median | 64.0000 | |
| | Variance | 35.455 | |
| | Std. Deviation | 5.95439 | |
| | Minimum | 63.52 | |
| | Maximum | 77.44 | |
| | Range | 13.92 | |
| | Interquartile Range | 9.00 | |
| | Skewness | 1.824 | .913 |
| | Kurtosis | 3.209 | 2.000 |
| | Positif | Mean | 80.5440 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 67.2842 |
| | | Upper Bound | 93.8038 |
| | 5% Trimmed Mean | 80.9244 | |
| | Median | 83.0400 | |
| | Variance | 114.043 | |
| | Std. Deviation | 10.67909 | |
| | Minimum | 63.68 | |
| | Maximum | 90.56 | |
| | Range | 26.88 | |
| | Interquartile Range | 18.72 | |
| | Skewness | -1.160 | .913 |
| | Kurtosis | 1.050 | 2.000 |
| | Fraksi Etil Asetat | Mean | 72.2000 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 57.0841 |
| | | Upper Bound | 87.3159 |
| | 5% Trimmed Mean | 72.4356 | |
| | Median | 72.2000 | |

Descriptives

| Kelompok | | Statistic | Std. Error |
|------------------|---|-----------|------------|
| | Variance | 148.203 | |
| | Std. Deviation | 12.17387 | |
| | Minimum | 55.84 | |
| | Maximum | 84.32 | |
| | Range | 28.48 | |
| | Interquartile Range | 23.44 | |
| | Skewness | -.347 | .913 |
| | Kurtosis | -1.618 | 2.000 |
| Fraksi Air | Mean | 81.3120 | 1.82246 |
| | 95% Confidence Interval for Lower Bound | 76.2521 | |
| | Mean Upper Bound | 86.3719 | |
| | 5% Trimmed Mean | 81.3156 | |
| | Median | 81.2800 | |
| | Variance | 16.607 | |
| | Std. Deviation | 4.07513 | |
| | Minimum | 75.68 | |
| | Maximum | 86.88 | |
| | Range | 11.20 | |
| | Interquartile Range | 6.96 | |
| | Skewness | -.034 | .913 |
| | Kurtosis | .948 | 2.000 |
| Fraksi n-Heksana | Mean | 78.3360 | 5.29104 |
| | 95% Confidence Interval for Lower Bound | 63.6457 | |
| | Mean Upper Bound | 93.0263 | |
| | 5% Trimmed Mean | 78.4089 | |
| | Median | 76.3200 | |
| | Variance | 139.976 | |
| | Std. Deviation | 11.83113 | |
| | Minimum | 62.08 | |
| | Maximum | 93.28 | |
| | Range | 31.20 | |
| | Interquartile Range | 21.20 | |
| | Skewness | -.162 | .913 |
| | Kurtosis | -.169 | 2.000 |
| H9 | Negatif | Mean | 73.6960 |
| | 95% Confidence Interval for Lower Bound | 69.4152 | 1.54182 |
| | Mean Upper Bound | 77.9768 | |
| | 5% Trimmed Mean | 73.6089 | |
| | Median | 72.8000 | |

Descriptives

| Kelompok | | Statistic | Std. Error | |
|----------------------------------|----------------------------------|-------------|------------|----------|
| | Variance | 11.886 | | |
| | Std. Deviation | 3.44762 | | |
| | Minimum | 69.92 | | |
| | Maximum | 79.04 | | |
| | Range | 9.12 | | |
| | Interquartile Range | 5.92 | | |
| | Skewness | .958 | .913 | |
| | Kurtosis | 1.103 | 2.000 | |
| | Positif | Mean | 73.2160 | 15.96834 |
| 95% Confidence Interval for Mean | | Lower Bound | 28.8808 | |
| | | Upper Bound | 117.5512 | |
| 5% Trimmed Mean | | 75.5378 | | |
| Median | | 90.8800 | | |
| Variance | | 1274.939 | | |
| Std. Deviation | | 35.70629 | | |
| Minimum | | 10.24 | | |
| Maximum | | 94.40 | | |
| Range | | 84.16 | | |
| Interquartile Range | | 48.48 | | |
| Skewness | | -2.089 | .913 | |
| Kurtosis | | 4.416 | 2.000 | |
| Fraksi Etil Asetat | | Mean | 82.3040 | 3.73510 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 71.9337 | |
| | | Upper Bound | 92.6743 | |
| | 5% Trimmed Mean | 82.2756 | | |
| | Median | 83.6800 | | |
| | Variance | 69.755 | | |
| | Std. Deviation | 8.35194 | | |
| | Minimum | 72.48 | | |
| | Maximum | 92.64 | | |
| | Range | 20.16 | | |
| | Interquartile Range | 16.08 | | |
| | Skewness | -.034 | .913 | |
| | Kurtosis | -1.909 | 2.000 | |
| | Fraksi Air | Mean | 90.0800 | 1.75782 |
| 95% Confidence Interval for Mean | | Lower Bound | 85.1995 | |
| | | Upper Bound | 94.9605 | |
| 5% Trimmed Mean | | 90.1956 | | |
| Median | | 91.0400 | | |

Descriptives

| Kelompok | | Statistic | Std. Error |
|------------------|----------------------------------|------------------------|------------|
| | Variance | 15.450 | |
| | Std. Deviation | 3.93060 | |
| | Minimum | 83.68 | |
| | Maximum | 94.40 | |
| | Range | 10.72 | |
| | Interquartile Range | 5.92 | |
| | Skewness | -1.230 | .913 |
| | Kurtosis | 2.623 | 2.000 |
| Fraksi n-Heksana | Mean | 82.5600 | 2.91094 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound 74.4779 | |
| | | Upper Bound 90.6421 | |
| | 5% Trimmed Mean | 82.6222 | |
| | Median | 83.6800 | |
| | Variance | 42.368 | |
| | Std. Deviation | 6.50907 | |
| | Minimum | 72.96 | |
| | Maximum | 91.04 | |
| | Range | 18.08 | |
| | Interquartile Range | 10.48 | |
| | Skewness | -.413 | .913 |
| | Kurtosis | 1.523 | 2.000 |
| H11 | Negatif | Mean | 81.7600 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound 77.7892 | 1.43019 |
| | | Upper Bound 85.7308 | |
| | 5% Trimmed Mean | 81.8844 | |
| | Median | 82.0800 | |
| | Variance | 10.227 | |
| | Std. Deviation | 3.19800 | |
| | Minimum | 76.48 | |
| | Maximum | 84.80 | |
| | Range | 8.32 | |
| | Interquartile Range | 5.12 | |
| | Skewness | -1.427 | .913 |
| | Kurtosis | 2.471 | 2.000 |
| | Positif | Mean | 92.1600 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound 89.5057 | .95599 |
| | | Upper Bound 94.8143 | |
| | 5% Trimmed Mean | 92.0889 | |
| | Median | 91.6800 | |

Descriptives

| Kelompok | | Statistic | Std. Error |
|--------------------|----------------------------------|------------------------|------------|
| | Variance | 4.570 | |
| | Std. Deviation | 2.13766 | |
| | Minimum | 89.92 | |
| | Maximum | 95.68 | |
| | Range | 5.76 | |
| | Interquartile Range | 3.28 | |
| | Skewness | 1.354 | .913 |
| | Kurtosis | 2.725 | 2.000 |
| Fraksi Etil Asetat | Mean | 88.5120 | 1.86686 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound 83.3288 | |
| | | Upper Bound 93.6952 | |
| | 5% Trimmed Mean | 88.4711 | |
| | Median | 87.0400 | |
| | Variance | 17.426 | |
| | Std. Deviation | 4.17444 | |
| | Minimum | 84.48 | |
| | Maximum | 93.28 | |
| | Range | 8.80 | |
| | Interquartile Range | 8.16 | |
| | Skewness | .407 | .913 |
| | Kurtosis | -3.025 | 2.000 |
| Fraksi Air | Mean | 93.4000 | .98938 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound 90.6530 | |
| | | Upper Bound 96.1470 | |
| | 5% Trimmed Mean | 93.3511 | |
| | Median | 93.4000 | |
| | Variance | 4.894 | |
| | Std. Deviation | 2.21233 | |
| | Minimum | 90.88 | |
| | Maximum | 96.80 | |
| | Range | 5.92 | |
| | Interquartile Range | 3.76 | |
| | Skewness | .825 | .913 |
| | Kurtosis | 1.202 | 2.000 |
| Fraksi n-Heksana | Mean | 90.1440 | 2.33271 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound 83.6674 | |
| | | Upper Bound 96.6206 | |
| | 5% Trimmed Mean | 90.1511 | |
| | Median | 90.7200 | |

Descriptives

| Kelompok | Statistic | Std. Error |
|---------------------|-----------|------------|
| Variance | 27.208 | |
| Std. Deviation | 5.21610 | |
| Minimum | 84.64 | |
| Maximum | 95.52 | |
| Range | 10.88 | |
| Interquartile Range | 10.40 | |
| Skewness | -.130 | .913 |
| Kurtosis | -2.971 | 2.000 |

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | | |
|----------|---------------------------------|------|------|-------------------|------|------|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. | |
| H1 | Negatif | .308 | 5 | .136 [*] | .911 | 5 | .475 |
| | Positif | .206 | 5 | .200 [*] | .906 | 5 | .446 |
| | Fraksi Etil Asetat | .205 | 5 | .200 [*] | .917 | 5 | .509 |
| | Fraksi Air | .351 | 5 | .043 [*] | .852 | 5 | .200 |
| | Fraksi n-Heksana | .240 | 5 | .200 [*] | .862 | 5 | .236 |
| H3 | Negatif | .199 | 5 | .200 [*] | .954 | 5 | .767 |
| | Positif | .222 | 5 | .200 [*] | .924 | 5 | .554 |
| | Fraksi Etil Asetat | .221 | 5 | .200 [*] | .940 | 5 | .665 |
| | Fraksi Air | .164 | 5 | .200 [*] | .974 | 5 | .898 |
| | Fraksi n-Heksana | .236 | 5 | .200 [*] | .958 | 5 | .797 |
| H5 | Negatif | .196 | 5 | .200 [*] | .965 | 5 | .840 |
| | Positif | .205 | 5 | .200 [*] | .944 | 5 | .696 |
| | Fraksi Etil Asetat | .233 | 5 | .200 [*] | .885 | 5 | .333 |
| | Fraksi Air | .179 | 5 | .200 [*] | .966 | 5 | .846 |
| | Fraksi n-Heksana | .313 | 5 | .123 [*] | .819 | 5 | .115 |
| H7 | Negatif | .307 | 5 | .138 [*] | .739 | 5 | .023 |
| | Positif | .192 | 5 | .200 [*] | .914 | 5 | .489 |
| | Fraksi Etil Asetat | .224 | 5 | .200 [*] | .921 | 5 | .538 |
| | Fraksi Air | .174 | 5 | .200 [*] | .988 | 5 | .971 |
| | Fraksi n-Heksana | .170 | 5 | .200 [*] | .981 | 5 | .941 |
| H9 | Negatif | .203 | 5 | .200 [*] | .949 | 5 | .732 |
| | Positif | .363 | 5 | .030 [*] | .683 | 5 | .006 |
| | Fraksi Etil Asetat | .197 | 5 | .200 [*] | .952 | 5 | .749 |
| | Fraksi Air | .300 | 5 | .161 [*] | .885 | 5 | .332 |
| | Fraksi n-Heksana | .212 | 5 | .200 [*] | .953 | 5 | .762 |
| H11 | Negatif | .300 | 5 | .161 [*] | .878 | 5 | .300 |
| | Positif | .300 | 5 | .161 [*] | .885 | 5 | .331 |

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|--------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Fraksi Etil Asetat | .239 | 5 | .200* | .843 | 5 | .172 |
| Fraksi Air | .235 | 5 | .200* | .954 | 5 | .763 |
| Fraksi n-Heksana | .240 | 5 | .200* | .851 | 5 | .199 |

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

a. Lilliefors Significance Correction

```

ONEWAY H1 H3 H5 H7 H9 H11 BY Kelompok
/STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY
/MISSING ANALYSIS
/POSTHOC=TUKEY ALPHA(0.05).

```

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

| | Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|-----|------------------|-----|-----|------|
| H1 | .212 | 4 | 20 | .929 |
| H3 | 3.468 | 4 | 20 | .026 |
| H5 | 2.656 | 4 | 20 | .063 |
| H7 | 1.630 | 4 | 20 | .206 |
| H9 | 4.398 | 4 | 20 | .010 |
| H11 | 2.785 | 4 | 20 | .055 |

```
EXAMINE VARIABLES=H3TRANSFORM H7TRANSFORM H9TRANSFORM BY Kelompok
/PLOT BOXPLOT NPLOT
/COMPARE GROUPS
/STATISTICS DESCRIPTIVES
/CINTERVAL 95
/MISSING LISTWISE
/NOTOTAL.
```

Explore

Kelompok

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | | |
|-------------|---------------------------------|------|------|-------------------|------|------|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. | |
| H3TRANSFORM | Negatif | .210 | 5 | .200 [*] | .943 | 5 | .688 |
| | Positif | .211 | 5 | .200 [*] | .917 | 5 | .510 |
| | Fraksi Etil Asetat | .169 | 5 | .200 [*] | .989 | 5 | .978 |
| | Fraksi Air | .165 | 5 | .200 [*] | .966 | 5 | .850 |
| | Fraksi n-Heksana | .274 | 5 | .200 [*] | .917 | 5 | .513 |
| H7TRANSFORM | Negatif | .309 | 5 | .135 [*] | .749 | 5 | .029 |
| | Positif | .211 | 5 | .200 [*] | .889 | 5 | .351 |
| | Fraksi Etil Asetat | .217 | 5 | .200 [*] | .920 | 5 | .529 |
| | Fraksi Air | .181 | 5 | .200 [*] | .987 | 5 | .967 |
| | Fraksi n-Heksana | .192 | 5 | .200 [*] | .972 | 5 | .890 |
| H9TRANSFORM | Negatif | .197 | 5 | .200 [*] | .957 | 5 | .787 |
| | Positif | .427 | 5 | .003 [*] | .610 | 5 | .001 |
| | Fraksi Etil Asetat | .195 | 5 | .200 [*] | .948 | 5 | .725 |
| | Fraksi Air | .307 | 5 | .139 [*] | .875 | 5 | .289 |
| | Fraksi n-Heksana | .225 | 5 | .200 [*] | .945 | 5 | .704 |

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

a. Lilliefors Significance Correction

```
ONEWAY H3TRANSFORM H7TRANSFORM H9TRANSFORM BY Kelompok
/STATISTICS HOMOGENEITY
/MISSING ANALYSIS.
```

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

| | Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|-------------|------------------|-----|-----|------|
| H3TRANSFORM | 2.726 | 4 | 20 | .058 |
| H7TRANSFORM | 1.622 | 4 | 20 | .208 |
| H9TRANSFORM | 5.955 | 4 | 20 | .003 |

ANOVA

| | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| H1 | Between Groups | 439.982 | 4 | 109.995 | 1.310 | .300 |
| | Within Groups | 1679.651 | 20 | 83.983 | | |
| | Total | 2119.633 | 24 | | | |
| H3TRANSFORM | Between Groups | .011 | 4 | .003 | .221 | .924 |
| | Within Groups | .239 | 20 | .012 | | |
| | Total | .249 | 24 | | | |
| H5 | Between Groups | 821.412 | 4 | 205.353 | 1.309 | .301 |
| | Within Groups | 3137.242 | 20 | 156.862 | | |
| | Total | 3958.654 | 24 | | | |
| H11 | Between Groups | 415.598 | 4 | 103.899 | 8.076 | .000 |
| | Within Groups | 257.299 | 20 | 12.865 | | |
| | Total | 672.897 | 24 | | | |

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Tukey HSD

| Dependent Variable | (I) Kelompok | (J) Kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|--------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|------------|-------|-------------------------|-------------|
| | | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| H1 | Negatif | Positif | -2.82400 | 5.79595 | .988 | -20.1677 | 14.5197 |
| | | Fraksi Etil Asetat | 6.33600 | 5.79595 | .808 | -11.0077 | 23.6797 |
| | | Fraksi Air | -2.94400 | 5.79595 | .986 | -20.2877 | 14.3997 |
| | | Fraksi n-Heksana | -6.11200 | 5.79595 | .827 | -23.4557 | 11.2317 |
| | Positif | Negatif | 2.82400 | 5.79595 | .988 | -14.5197 | 20.1677 |
| | | Fraksi Etil Asetat | 9.16000 | 5.79595 | .526 | -8.1837 | 26.5037 |
| | | Fraksi Air | -.12000 | 5.79595 | 1.000 | -17.4637 | 17.2237 |
| | | Fraksi n-Heksana | -3.28800 | 5.79595 | .978 | -20.6317 | 14.0557 |
| | Fraksi Etil Asetat | Negatif | -6.33600 | 5.79595 | .808 | -23.6797 | 11.0077 |
| | | Positif | -9.16000 | 5.79595 | .526 | -26.5037 | 8.1837 |
| | | Fraksi Air | -9.28000 | 5.79595 | .514 | -26.6237 | 8.0637 |
| | | Fraksi n-Heksana | -12.44800 | 5.79595 | .240 | -29.7917 | 4.8957 |
| | Fraksi Air | Negatif | 2.94400 | 5.79595 | .986 | -14.3997 | 20.2877 |
| | | Positif | .12000 | 5.79595 | 1.000 | -17.2237 | 17.4637 |
| | | Fraksi Etil Asetat | 9.28000 | 5.79595 | .514 | -8.0637 | 26.6237 |
| | | Fraksi n-Heksana | -3.16800 | 5.79595 | .981 | -20.5117 | 14.1757 |
| | Fraksi n-Heksana | Negatif | 6.11200 | 5.79595 | .827 | -11.2317 | 23.4557 |
| | | Positif | 3.28800 | 5.79595 | .978 | -14.0557 | 20.6317 |
| | | Fraksi Etil Asetat | 12.44800 | 5.79595 | .240 | -4.8957 | 29.7917 |
| | | Fraksi Air | 3.16800 | 5.79595 | .981 | -14.1757 | 20.5117 |
| H3TRANSFORM | Negatif | Positif | -.04162 | .06912 | .973 | -.2485 | .1652 |
| | | Fraksi Etil Asetat | -.00310 | .06912 | 1.000 | -.2099 | .2037 |
| | | Fraksi Air | .01033 | .06912 | 1.000 | -.1965 | .2172 |
| | | Fraksi n-Heksana | -.03498 | .06912 | .986 | -.2418 | .1718 |
| | Positif | Negatif | .04162 | .06912 | .973 | -.1652 | .2485 |
| | | Fraksi Etil Asetat | .03852 | .06912 | .980 | -.1683 | .2454 |
| | | Fraksi Air | .05195 | .06912 | .941 | -.1549 | .2588 |
| | | Fraksi n-Heksana | .00664 | .06912 | 1.000 | -.2002 | .2135 |
| | Fraksi Etil Asetat | Negatif | .00310 | .06912 | 1.000 | -.2037 | .2099 |
| | | Positif | -.03852 | .06912 | .980 | -.2454 | .1683 |
| | | Fraksi Air | .01343 | .06912 | 1.000 | -.1934 | .2203 |
| | | Fraksi n-Heksana | -.03188 | .06912 | .990 | -.2387 | .1750 |
| | Fraksi Air | Negatif | -.01033 | .06912 | 1.000 | -.2172 | .1965 |
| | | Positif | -.05195 | .06912 | .941 | -.2588 | .1549 |
| | | Fraksi Etil Asetat | -.01343 | .06912 | 1.000 | -.2203 | .1934 |
| | | Fraksi n-Heksana | -.04531 | .06912 | .964 | -.2521 | .1615 |
| | Fraksi n-Heksana | Negatif | .03498 | .06912 | .986 | -.1718 | .2418 |
| | | Positif | -.00664 | .06912 | 1.000 | -.2135 | .2002 |
| | | Fraksi Etil Asetat | .03188 | .06912 | .990 | -.1750 | .2387 |
| | | Fraksi Air | .04531 | .06912 | .964 | -.1615 | .2521 |
| H5 | Negatif | Positif | -.08000 | 7.92116 | 1.000 | -23.7831 | 23.6231 |
| | | Fraksi Etil Asetat | 13.60000 | 7.92116 | .447 | -10.1031 | 37.3031 |
| | | Fraksi Air | -2.09600 | 7.92116 | .999 | -25.7991 | 21.6071 |
| | | Fraksi n-Heksana | 5.92800 | 7.92116 | .942 | -17.7751 | 29.6311 |
| | Positif | Negatif | .08000 | 7.92116 | 1.000 | -23.6231 | 23.7831 |
| | | Fraksi Etil Asetat | 13.68000 | 7.92116 | .441 | -10.0231 | 37.3831 |
| | | Fraksi Air | -2.01600 | 7.92116 | .999 | -25.7191 | 21.6871 |
| | | Fraksi n-Heksana | 6.00800 | 7.92116 | .939 | -17.6951 | 29.7111 |

Multiple Comparisons

Tukey HSD

| Dependent Variable | (I) Kelompok | (J) Kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|--------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| | Fraksi Etil Asetat | Negatif | -13.60000 | 7.92116 | .447 | -37.3031 | 10.1031 |
| | | Positif | -13.68000 | 7.92116 | .441 | -37.3831 | 10.0231 |
| | | Fraksi Air | -15.69600 | 7.92116 | .310 | -39.3991 | 8.0071 |
| | | Fraksi n-Heksana | -7.67200 | 7.92116 | .866 | -31.3751 | 16.0311 |
| | Fraksi Air | Negatif | 2.09600 | 7.92116 | .999 | -21.6071 | 25.7991 |
| | | Positif | 2.01600 | 7.92116 | .999 | -21.6871 | 25.7191 |
| | | Fraksi Etil Asetat | 15.69600 | 7.92116 | .310 | -8.0071 | 39.3991 |
| | | Fraksi n-Heksana | 8.02400 | 7.92116 | .846 | -15.6791 | 31.7271 |
| | Fraksi n-Heksana | Negatif | -5.92800 | 7.92116 | .942 | -29.6311 | 17.7751 |
| | | Positif | -6.00800 | 7.92116 | .939 | -29.7111 | 17.6951 |
| | | Fraksi Etil Asetat | 7.67200 | 7.92116 | .866 | -16.0311 | 31.3751 |
| | | Fraksi Air | -8.02400 | 7.92116 | .846 | -31.7271 | 15.6791 |
| H11 | Negatif | Positif | -10.40000* | 2.26848 | .002 | -17.1881 | -3.6119 |
| | | Fraksi Etil Asetat | -6.75200* | 2.26848 | .052 | -13.5401 | .0361 |
| | | Fraksi Air | -11.64000* | 2.26848 | .000 | -18.4281 | -4.8519 |
| | | Fraksi n-Heksana | -8.38400* | 2.26848 | .011 | -15.1721 | -1.5959 |
| | Positif | Negatif | 10.40000* | 2.26848 | .002 | 3.6119 | 17.1881 |
| | | Fraksi Etil Asetat | 3.64800 | 2.26848 | .509 | -3.1401 | 10.4361 |
| | | Fraksi Air | -1.24000 | 2.26848 | .981 | -8.0281 | 5.5481 |
| | | Fraksi n-Heksana | 2.01600 | 2.26848 | .898 | -4.7721 | 8.8041 |
| | Fraksi Etil Asetat | Negatif | 6.75200 | 2.26848 | .052 | -.0361 | 13.5401 |
| | | Positif | -3.64800 | 2.26848 | .509 | -10.4361 | 3.1401 |
| | | Fraksi Air | -4.88800 | 2.26848 | .237 | -11.6761 | 1.9001 |
| | | Fraksi n-Heksana | -1.63200 | 2.26848 | .950 | -8.4201 | 5.1561 |
| | Fraksi Air | Negatif | 11.64000* | 2.26848 | .000 | 4.8519 | 18.4281 |
| | | Positif | 1.24000 | 2.26848 | .981 | -5.5481 | 8.0281 |
| | | Fraksi Etil Asetat | 4.88800 | 2.26848 | .237 | -1.9001 | 11.6761 |
| | | Fraksi n-Heksana | 3.25600* | 2.26848 | .613 | -3.5321 | 10.0441 |
| | Fraksi n-Heksana | Negatif | 8.38400* | 2.26848 | .011 | 1.5959 | 15.1721 |
| | | Positif | -2.01600 | 2.26848 | .898 | -8.8041 | 4.7721 |
| | | Fraksi Etil Asetat | 1.63200 | 2.26848 | .950 | -5.1561 | 8.4201 |
| | | Fraksi Air | -3.25600 | 2.26848 | .613 | -10.0441 | 3.5321 |

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

NPAR TESTS

/K-W=H7 H9 BY Kelompok(1 5)
/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

Ranks

| | Kelompok | N | Mean Rank |
|----|--------------------|---|-----------|
| H7 | Negatif | 5 | 6.90 |
| | Positif | 5 | 16.70 |
| | Fraksi Etil Asetat | 5 | 11.20 |

| | | | |
|----|--------------------|----|-------|
| | Fraksi Air | 5 | 16.20 |
| | Fraksi n-Heksana | 5 | 14.00 |
| | Total | 25 | |
| H9 | Negatif | 5 | 5.40 |
| | Positif | 5 | 14.90 |
| | Fraksi Etil Asetat | 5 | 12.80 |
| | Fraksi Air | 5 | 19.00 |
| | Fraksi n-Heksana | 5 | 12.90 |
| | Total | 25 | |

Test Statistics^{a,b}

| | H7 | H9 |
|-------------|-------|-------|
| Chi-Square | 6.037 | 9.013 |
| df | 4 | 4 |
| Asymp. Sig. | .196 | .061 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

NPAR TESTS

/M-W= H7 H9 BY Kelompok(1 2)

/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

| | Kelompok | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|----|----------|----|-----------|--------------|
| H7 | Negatif | 5 | 3.70 | 18.50 |
| | Positif | 5 | 7.30 | 36.50 |
| | Total | 10 | | |
| H9 | Negatif | 5 | 4.20 | 21.00 |
| | Positif | 5 | 6.80 | 34.00 |
| | Total | 10 | | |

Test Statistics^a

| | H7 | H9 |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 3.500 | 6.000 |
| Wilcoxon W | 18.500 | 21.000 |
| Z | -1.886 | -1.358 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .059 | .175 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .056 ^b | .222 ^b |

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

NPAR TESTS

/M-W= H7 H9 BY Kelompok(1 3)

/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

| Kelompok | | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|----------|--------------------|----|-----------|--------------|
| H7 | Negatif | 5 | 4.60 | 23.00 |
| | Fraksi Etil Asetat | 5 | 6.40 | 32.00 |
| | Total | 10 | | |
| H9 | Negatif | 5 | 3.80 | 19.00 |
| | Fraksi Etil Asetat | 5 | 7.20 | 36.00 |
| | Total | 10 | | |

Test Statistics^a

| | H7 | H9 |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 8.000 | 4.000 |
| Wilcoxon W | 23.000 | 19.000 |
| Z | -.940 | -1.776 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .347 | .076 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .421 ^b | .095 ^b |

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

NPAR TESTS

/M-W= H7 H9 BY Kelompok(1 4)

/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

| | Kelompok | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|----|------------|----|-----------|--------------|
| H7 | Negatif | 5 | 3.20 | 16.00 |
| | Fraksi Air | 5 | 7.80 | 39.00 |
| | Total | 10 | | |
| H9 | Negatif | 5 | 3.00 | 15.00 |
| | Fraksi Air | 5 | 8.00 | 40.00 |
| | Total | 10 | | |

Test Statistics^a

| | H7 | H9 |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 1.000 | .000 |
| Wilcoxon W | 16.000 | 15.000 |
| Z | -2.402 | -2.611 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .016 | .009 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .016 ^b | .008 ^b |

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

NPAR TESTS

/M-W= H7 H9 BY Kelompok(1 5)

/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

| | Kelompok | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|----|------------------|----|-----------|--------------|
| H7 | Negatif | 5 | 4.40 | 22.00 |
| | Fraksi n-Heksana | 5 | 6.60 | 33.00 |
| | Total | 10 | | |
| H9 | Negatif | 5 | 3.40 | 17.00 |
| | Fraksi n-Heksana | 5 | 7.60 | 38.00 |

| | | | |
|-------|----|--|--|
| Total | 10 | | |
|-------|----|--|--|

Test Statistics^a

| | H7 | H9 |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 7.000 | 2.000 |
| Wilcoxon W | 22.000 | 17.000 |
| Z | -1.149 | -2.193 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .251 | .028 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .310 ^b | .032 ^b |

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

NPAR TESTS

/M-W= H7 H9 BY Kelompok (2 3)

/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

| | Kelompok | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|----|--------------------|----|-----------|--------------|
| H7 | Positif | 5 | 6.40 | 32.00 |
| | Fraksi Etil Asetat | 5 | 4.60 | 23.00 |
| | Total | 10 | | |
| H9 | Positif | 5 | 6.00 | 30.00 |
| | Fraksi Etil Asetat | 5 | 5.00 | 25.00 |
| | Total | 10 | | |

Test Statistics^a

| | H7 | H9 |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 8.000 | 10.000 |
| Wilcoxon W | 23.000 | 25.000 |
| Z | -.940 | -.522 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .347 | .602 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .421 ^b | .690 ^b |

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

NPAR TESTS

/M-W= H7 H9 BY Kelompok(2 4)

/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

| | Kelompok | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|----|------------|----|-----------|--------------|
| H7 | Positif | 5 | 6.00 | 30.00 |
| | Fraksi Air | 5 | 5.00 | 25.00 |
| | Total | 10 | | |
| H9 | Positif | 5 | 5.10 | 25.50 |
| | Fraksi Air | 5 | 5.90 | 29.50 |
| | Total | 10 | | |

Test Statistics^a

| | H7 | H9 |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 10.000 | 10.500 |
| Wilcoxon W | 25.000 | 25.500 |
| Z | -.522 | -.419 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .602 | .675 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .690 ^b | .690 ^b |

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

NPAR TESTS

/M-W= H7 H9 BY Kelompok (2 5)

/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

| Kelompok | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|------------------|----|-----------|--------------|
| H7 Positif | 5 | 6.00 | 30.00 |
| Fraksi n-Heksana | 5 | 5.00 | 25.00 |
| Total | 10 | | |
| H9 Positif | 5 | 6.00 | 30.00 |
| Fraksi n-Heksana | 5 | 5.00 | 25.00 |
| Total | 10 | | |

Test Statistics^a

| | H7 | H9 |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 10.000 | 10.000 |
| Wilcoxon W | 25.000 | 25.000 |
| Z | -.522 | -.522 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .602 | .602 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .690 ^b | .690 ^b |

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

NPAR TESTS

/M-W= H7 H9 BY Kelompok (3 4)

/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

| Kelompok | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-----------------------|----|-----------|--------------|
| H7 Fraksi Etil Asetat | 5 | 4.60 | 23.00 |
| Fraksi Air | 5 | 6.40 | 32.00 |
| Total | 10 | | |
| H9 Fraksi Etil Asetat | 5 | 4.10 | 20.50 |

| | | | |
|------------|----|------|-------|
| Fraksi Air | 5 | 6.90 | 34.50 |
| Total | 10 | | |

Test Statistics^a

| | H7 | H9 |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 8.000 | 5.500 |
| Wilcoxon W | 23.000 | 20.500 |
| Z | -.940 | -1.467 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .347 | .142 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .421 ^b | .151 ^b |

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

NPAR TESTS

/M-W= H7 H9 BY Kelompok(3 5)

/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

| | Kelompok | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|----|--------------------|----|-----------|--------------|
| H7 | Fraksi Etil Asetat | 5 | 4.60 | 23.00 |
| | Fraksi n-Heksana | 5 | 6.40 | 32.00 |
| | Total | 10 | | |
| H9 | Fraksi Etil Asetat | 5 | 5.50 | 27.50 |
| | Fraksi n-Heksana | 5 | 5.50 | 27.50 |
| | Total | 10 | | |

Test Statistics^a

| | H7 | H9 |
|--------------------------------|-------------------|--------------------|
| Mann-Whitney U | 8.000 | 12.500 |
| Wilcoxon W | 23.000 | 27.500 |
| Z | -.940 | .000 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .347 | 1.000 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .421 ^b | 1.000 ^b |

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

NPAR TESTS

/M-W= H7 H9 BY Kelompok (4 5)

/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

| Kelompok | | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|----------|------------------|----|-----------|--------------|
| H7 | Fraksi Air | 5 | 6.00 | 30.00 |
| | Fraksi n-Heksana | 5 | 5.00 | 25.00 |
| | Total | 10 | | |
| H9 | Fraksi Air | 5 | 7.20 | 36.00 |
| | Fraksi n-Heksana | 5 | 3.80 | 19.00 |
| | Total | 10 | | |

Test Statistics^a

| | H7 | H9 |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 10.000 | 4.000 |
| Wilcoxon W | 25.000 | 19.000 |
| Z | -.522 | -1.786 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .602 | .074 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .690 ^b | .095 ^b |

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Lampiran 4.2 Hasil dan Uji Statistika Kepadatan Kolagen

| | kelompok | kepadatankolagen |
|----|----------|------------------|
| 1 | 1 | 37.92 |
| 2 | 1 | 37.13 |
| 3 | 1 | 42.49 |
| 4 | 1 | 49.25 |
| 5 | 1 | 36.15 |
| 6 | 2 | 57.85 |
| 7 | 2 | 52.42 |
| 8 | 2 | 61.52 |
| 9 | 2 | 55.68 |
| 10 | 2 | 52.22 |
| 11 | 3 | 54.22 |
| 12 | 3 | 45.08 |
| 13 | 3 | 49.30 |
| 14 | 3 | 51.60 |
| 15 | 3 | 40.84 |
| 16 | 4 | 67.31 |
| 17 | 4 | 73.43 |
| 18 | 4 | 71.85 |
| 19 | 4 | 71.69 |
| 20 | 4 | 70.80 |
| 21 | 5 | 57.71 |
| 22 | 5 | 61.73 |
| 23 | 5 | 61.89 |
| 24 | 5 | 70.75 |
| 25 | 5 | 62.96 |

```

EXAMINE VARIABLES=kepadatankolagen BY kelompok
/PLOT NONE
/STATISTICS DESCRIPTIVES
/CINTERVAL 95
/MISSING LISTWISE
/NOTOTAL.

```

Explore

kelompok

Case Processing Summary

| kelompok | Cases | | | | | |
|--------------------------|-------|---------|---------|---------|-------|---------|
| | Valid | | Missing | | Total | |
| | N | Percent | N | Percent | N | Percent |
| kepadatankolagen negatif | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| positif | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| fraksi etil | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| fraksi air | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |
| fraksi n-heksana | 5 | 100.0% | 0 | 0.0% | 5 | 100.0% |

Descriptives

| kelompok | | Statistic | Std. Error | | |
|----------------------------------|-------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| kepadatankolagen | negatif | Mean | 40.5880 | 2.42301 | |
| | | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 33.8606 | |
| | | | Upper Bound | 47.3154 | |
| | | 5% Trimmed Mean | 40.3533 | | |
| | | Median | 37.9200 | | |
| | | Variance | 29.355 | | |
| | | Std. Deviation | 5.41802 | | |
| | | Minimum | 36.15 | | |
| | | Maximum | 49.25 | | |
| | | Range | 13.10 | | |
| | | Interquartile Range | 9.23 | | |
| | | Skewness | 1.334 | .913 | |
| | | Kurtosis | 1.029 | 2.000 | |
| | | | positif | Mean | 55.9380 |
| 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | | | 51.0859 | |
| | Upper Bound | | | 60.7901 | |
| 5% Trimmed Mean | 55.8344 | | | | |
| Median | 55.6800 | | | | |
| Variance | 15.270 | | | | |
| Std. Deviation | 3.90771 | | | | |
| Minimum | 52.22 | | | | |
| Maximum | 61.52 | | | | |
| Range | 9.30 | | | | |
| Interquartile Range | 7.37 | | | | |
| Skewness | .600 | | | .913 | |
| Kurtosis | -.878 | | | 2.000 | |
| | fraksi etil | | | Mean | 48.2080 |
| | | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 41.6110 | |
| | | | Upper Bound | 54.8050 | |
| | | 5% Trimmed Mean | 48.2833 | | |
| | | Median | 49.3000 | | |
| | | Variance | 28.229 | | |
| | | Std. Deviation | 5.31305 | | |
| | | Minimum | 40.84 | | |
| | | Maximum | 54.22 | | |
| | | Range | 13.38 | | |
| | | Interquartile Range | 9.95 | | |
| | | Skewness | -.481 | .913 | |
| | | Kurtosis | -.968 | 2.000 | |
| | | | fraksi air | Mean | 71.0160 |

Descriptives

| kelompok | | Statistic | Std. Error | |
|---------------------|----------------------------------|----------------------------------|------------------------|---------|
| kelompok | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound 68.1874 | | |
| | | Upper Bound 73.8446 | | |
| | 5% Trimmed Mean | 71.0878 | | |
| | Median | 71.6900 | | |
| | Variance | 5.190 | | |
| | Std. Deviation | 2.27806 | | |
| | Minimum | 67.31 | | |
| | Maximum | 73.43 | | |
| | Range | 6.12 | | |
| | Interquartile Range | 3.58 | | |
| | Skewness | -1.267 | .913 | |
| | Kurtosis | 2.363 | 2.000 | |
| | fraksi n-heksana | Mean | 63.0072 | 2.13182 |
| | | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound 57.0883 | |
| | | Upper Bound 68.9261 | | |
| 5% Trimmed Mean | | 62.8713 | | |
| Median | | 61.8900 | | |
| Variance | | 22.723 | | |
| Std. Deviation | | 4.76690 | | |
| Minimum | | 57.71 | | |
| Maximum | | 70.75 | | |
| Range | | 13.04 | | |
| Interquartile Range | | 7.13 | | |
| Skewness | | 1.200 | .913 | |
| Kurtosis | | 2.617 | 2.000 | |

ONEWAY kepadatankolagen BY kelompok

```

/STATISTICS HOMOGENEITY
/MISSING ANALYSIS
/POSTHOC=TUKEY ALPHA(0.05) .
    
```

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

kepadatankolagen

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| .988 | 4 | 20 | .437 |

ANOVA

kepadatankolagen

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 2862.605 | 4 | 715.651 | 35.510 | .000 |
| Within Groups | 403.066 | 20 | 20.153 | | |
| Total | 3265.671 | 24 | | | |

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: kepadatankolagen

Tukey HSD

| (I) kelompok | (J) kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|------------------|------------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| negatif | positif | -15.35000 * | 2.83925 | .000 | -23.8461 | -6.8539 |
| | fraksi etil | -7.62000 * | 2.83925 | .092 | -16.1161 | .8761 |
| | fraksi air | -30.42800 * | 2.83925 | .000 | -38.9241 | -21.9319 |
| | fraksi n-heksana | -22.41920 * | 2.83925 | .000 | -30.9153 | -13.9231 |
| positif | negatif | 15.35000 * | 2.83925 | .000 | 6.8539 | 23.8461 |
| | fraksi etil | 7.73000 * | 2.83925 | .086 | -.7661 | 16.2261 |
| | fraksi air | -15.07800 * | 2.83925 | .000 | -23.5741 | -6.5819 |
| | fraksi n-heksana | -7.06920 * | 2.83925 | .133 | -15.5653 | 1.4269 |
| fraksi etil | negatif | 7.62000 * | 2.83925 | .092 | -.8761 | 16.1161 |
| | positif | -7.73000 * | 2.83925 | .086 | -16.2261 | .7661 |
| | fraksi air | -22.80800 * | 2.83925 | .000 | -31.3041 | -14.3119 |
| | fraksi n-heksana | -14.79920 * | 2.83925 | .000 | -23.2953 | -6.3031 |
| fraksi air | negatif | 30.42800 * | 2.83925 | .000 | 21.9319 | 38.9241 |
| | positif | 15.07800 * | 2.83925 | .000 | 6.5819 | 23.5741 |
| | fraksi etil | 22.80800 * | 2.83925 | .000 | 14.3119 | 31.3041 |
| | fraksi n-heksana | 8.00880 * | 2.83925 | .071 | -.4873 | 16.5049 |
| fraksi n-heksana | negatif | 22.41920 * | 2.83925 | .000 | 13.9231 | 30.9153 |
| | positif | 7.06920 * | 2.83925 | .133 | -1.4269 | 15.5653 |
| | fraksi etil | 14.79920 * | 2.83925 | .000 | 6.3031 | 23.2953 |
| | fraksi air | -8.00880 * | 2.83925 | .071 | -16.5049 | .4873 |

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

Homogeneous Subsets

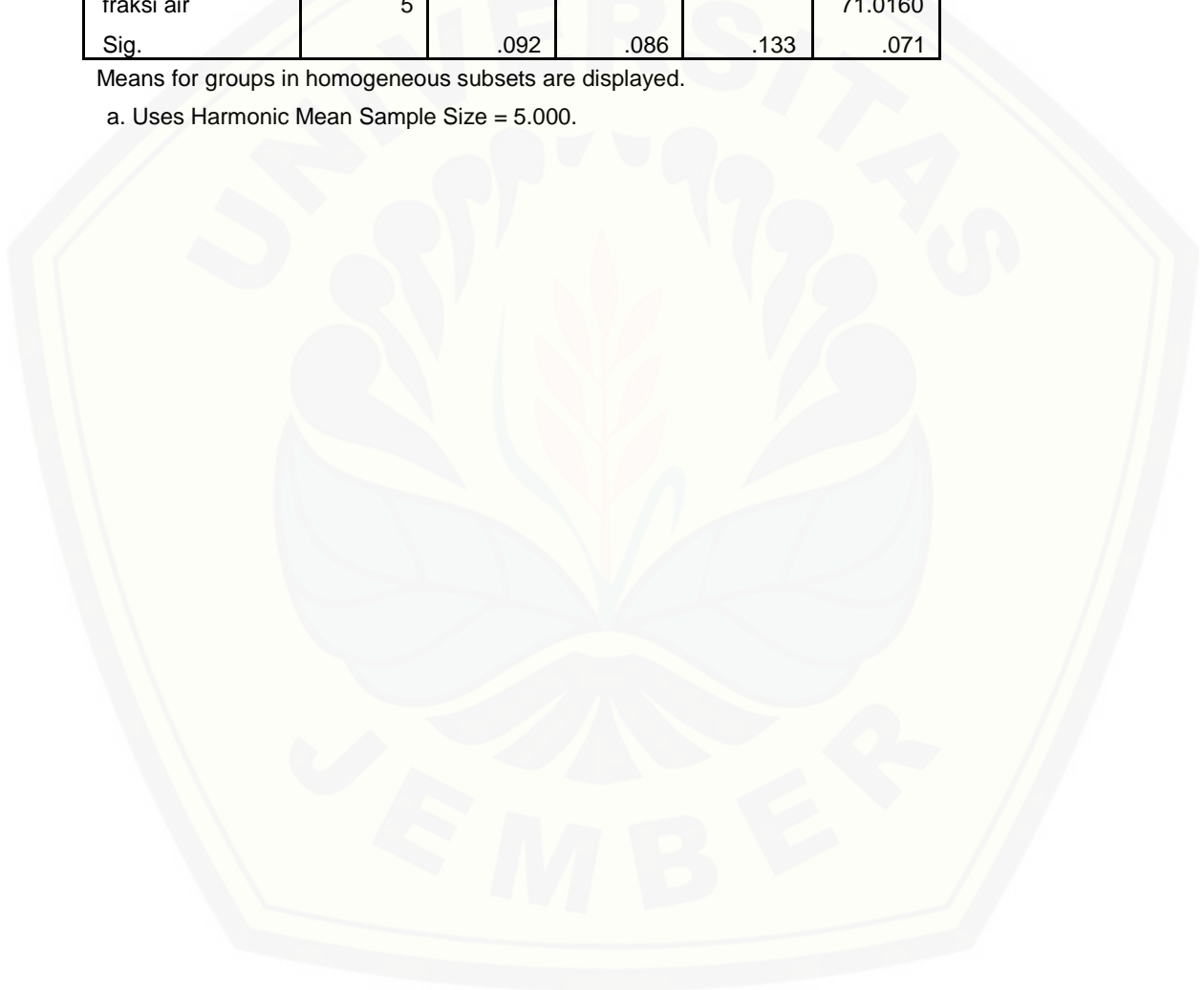
kepadatankolagen

Tukey HSD^a

| kelompok | N | Subset for alpha = 0.05 | | | |
|------------------|---|-------------------------|---------|---------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| negatif | 5 | 40.5880 | | | |
| fraksi etil | 5 | 48.2080 | 48.2080 | | |
| positif | 5 | | 55.9380 | 55.9380 | |
| fraksi n-heksana | 5 | | | 63.0072 | 63.0072 |
| fraksi air | 5 | | | | 71.0160 |
| Sig. | | .092 | .086 | .133 | .071 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.



Lampiran 4.3 Hasil dan Uji Deskriptif Pemeriksaan Glukosa Darah

| Kelompok | Data Glukosa Darah Perminggu | | | |
|--------------------|------------------------------|--------|---------|---------|
| | -1 | 0 | 1 | 2 |
| K- 1 | 84 | 372 | 268 | 348 |
| K- 2 | 94 | 580 | 394 | 538 |
| K- 3 | 97 | 471 | 600 | 384 |
| K- 4 | 97 | 430 | 291 | 419 |
| K- 5 | 40 | 561 | 379 | 259 |
| Mean | 82.4 | 482.8 | 386.4 | 389.6 |
| Standart deviation | 24.296 | 87.702 | 131.203 | 102.109 |
| Standart Error | 10.866 | 39.222 | 58.6759 | 45.6646 |



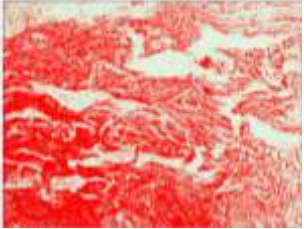





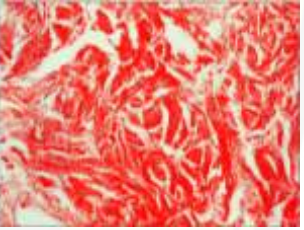


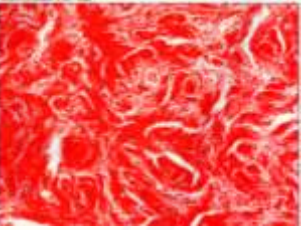

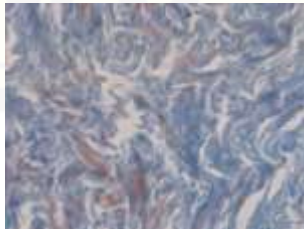
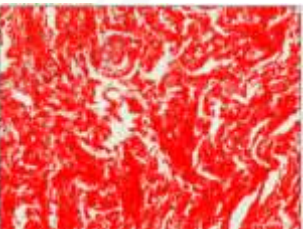
| Kelompok | Data Glukosa Darah Perminggu | | | |
|--------------------|------------------------------|--------|---------|---------|
| | -1 | 0 | 1 | 2 |
| K+ 1 | 82 | 387 | 132 | 207 |
| K+ 2 | 132 | 463 | 508 | 211 |
| K+ 3 | 194 | 580 | 456 | 299 |
| K+ 4 | 102 | 367 | 543 | 408 |
| K+ 5 | 86 | 565 | 560 | 600 |
| Mean | 119.2 | 472.4 | 439.8 | 345 |
| Standart deviation | 46.208 | 98.289 | 176.602 | 164.4 |
| Standart Error | 20.665 | 43.956 | 78.9787 | 73.5221 |

| Kelompok | Data Glukosa Darah Perminggu | | | |
|--------------------|------------------------------|--------|---------|---------|
| | -1 | 0 | 1 | 2 |
| P1 1 | 115 | 407 | 452 | 523 |
| P1 2 | 91 | 508 | 482 | 154 |
| P1 3 | 73 | 529 | 339 | 208 |
| P1 4 | 102 | 309 | 339 | 556 |
| P1 5 | 81 | 600 | 542 | 330 |
| Mean | 92.4 | 470.6 | 430.8 | 354.2 |
| Standart deviation | 16.667 | 113.7 | 89.8482 | 181.147 |
| Standart Error | 7.4539 | 50.849 | 40.1813 | 81.0114 |

| Kelompok | Data Glukosa Darah Perminggu | | | |
|--------------------|------------------------------|--------|---------|---------|
| | -1 | 0 | 1 | 2 |
| P2 1 | 107 | 407 | 463 | 348 |
| P2 2 | 80 | 486 | 600 | 348 |
| P2 3 | 94 | 553 | 477 | 134 |
| P2 4 | 73 | 257 | 508 | 106 |
| P2 5 | 58 | 520 | 449 | 473 |
| Mean | 82.4 | 444.6 | 499.4 | 281.8 |
| Standart deviation | 18.902 | 118.06 | 60.3349 | 156.583 |
| Standart Error | 8.4534 | 52.8 | 26.9826 | 70.026 |

| Kelompok | Data Glukosa Darah Perminggu | | | |
|--------------------|------------------------------|--------|---------|---------|
| | -1 | 0 | 1 | 2 |
| P3 1 | 58 | 600 | 506 | 201 |
| P3 2 | 89 | 436 | 459 | 439 |
| P3 3 | 64 | 405 | 353 | 353 |
| P3 4 | 82 | 573 | 413 | 88 |
| P3 5 | 94 | 237 | 430 | 344 |
| Mean | 77.4 | 450.2 | 432.2 | 285 |
| Standart deviation | 15.71 | 145.96 | 56.5924 | 139.361 |
| Standart Error | 7.0257 | 65.276 | 25.3089 | 62.3242 |

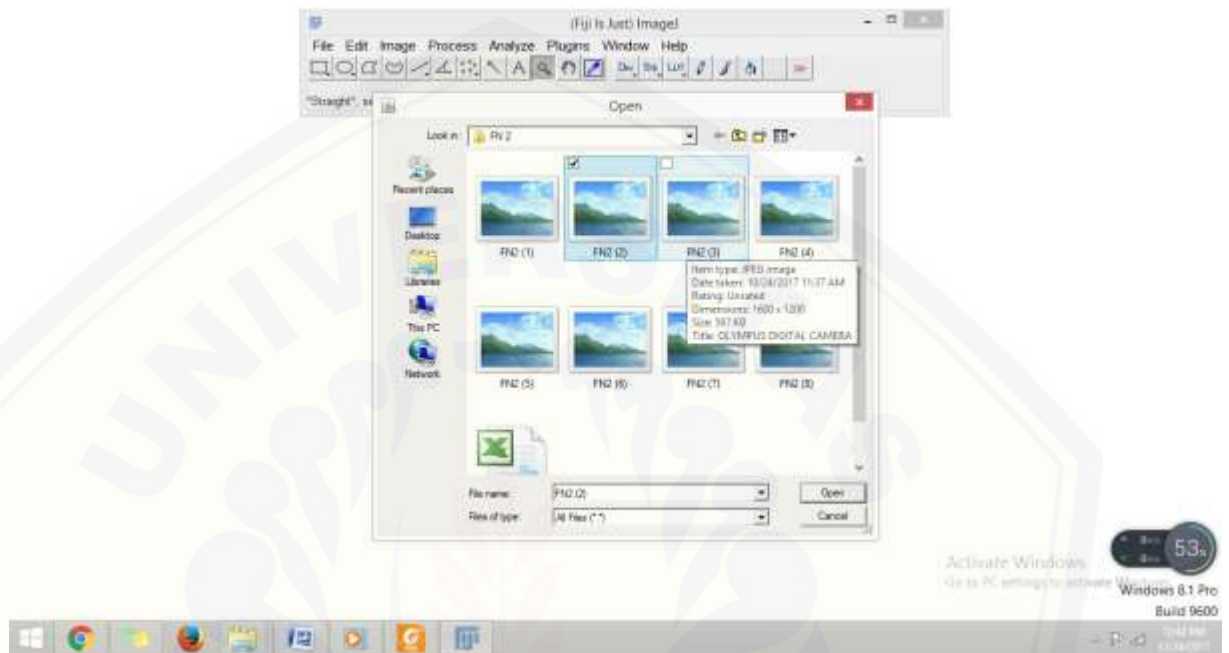
Lampiran 4.4 Hasil Luas Luka, Histopatologi, dan Analisis Kepadatan Kolagen

| Kelompok | Luas Luka ^a | Preparat Histopatologi ^b | Kepadatan Kolagen ^c |
|--------------------|---|--|---|
| Kontrol Negatif |  |  |  |
| Kontrol Positif |  |  |  |
| Fraksi Etil Asetat |  |  |  |
| Fraksi Air |  |  |  |
| Fraksi n-Heksana |  |  |  |

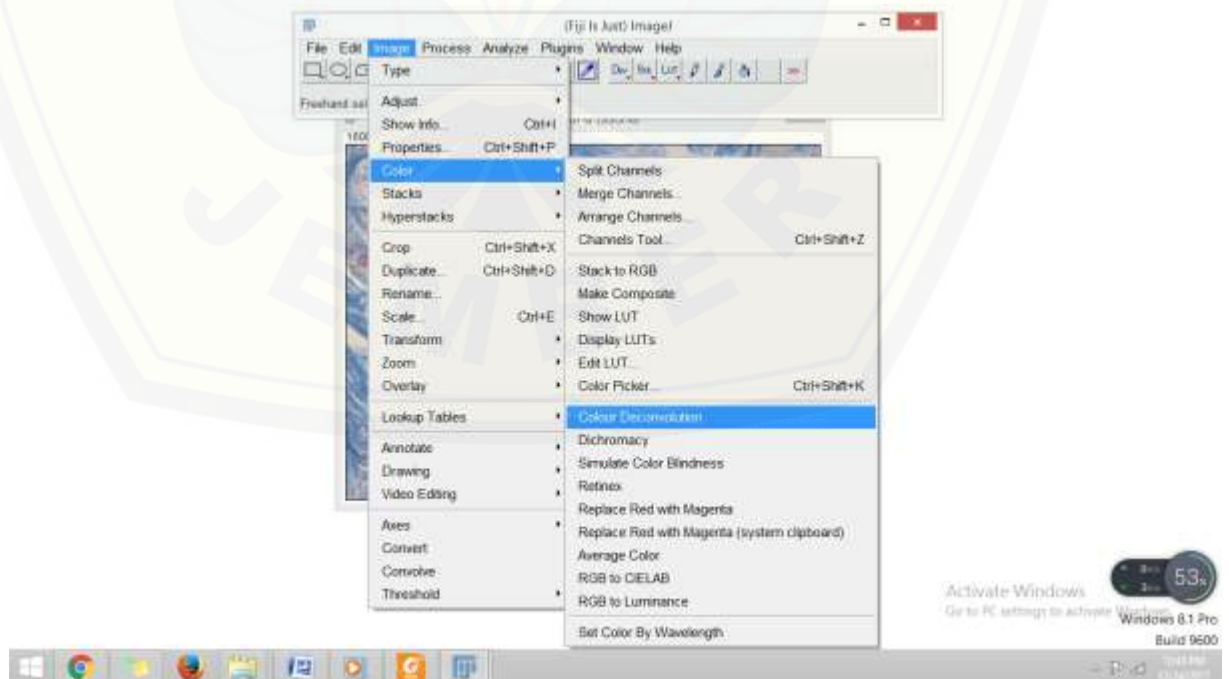
a. Luas luka hari ke 11 sebelum pengambilan jaringan
b. Prepara Histopatologi pewarnaan Masson's Thricome
c. Hasil analisis kepadatan kolagen dengan *software imageJ*

Lampiran 4.5 Cara Analisis Kepadatan Kolagen Menggunakan *Software ImageJ*

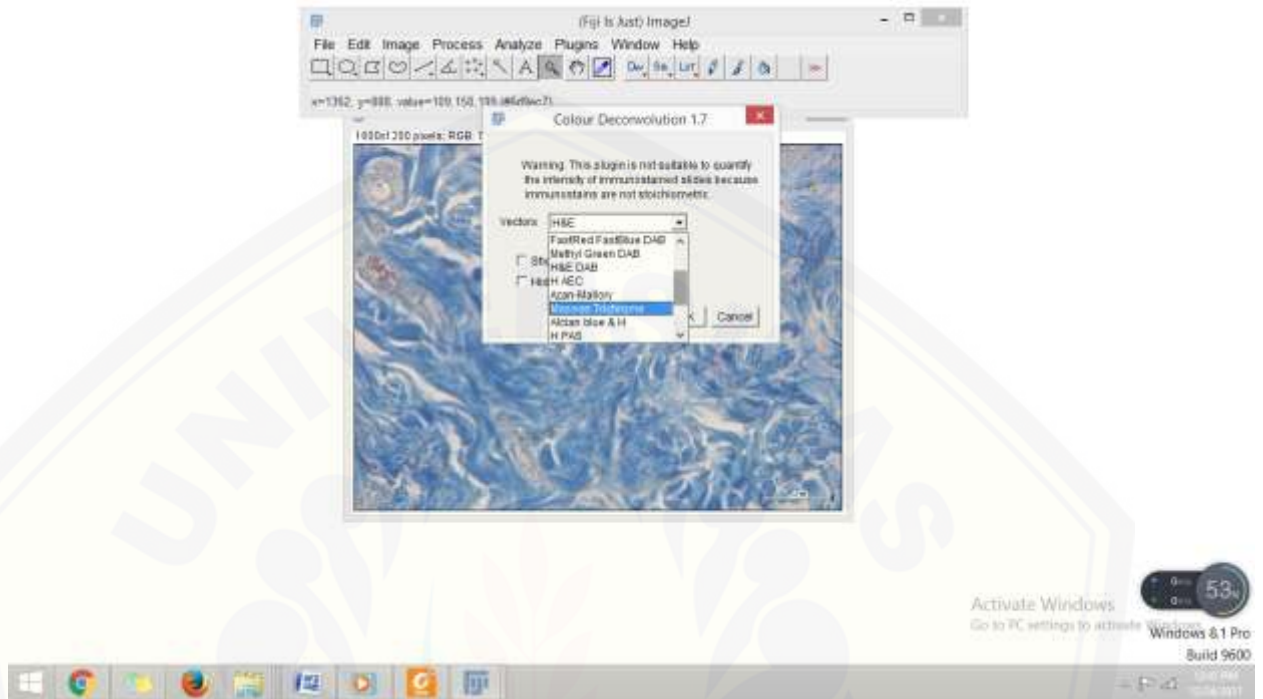
1. Buka aplikasi *imageJ*
2. Pilih menu *File > Open >* pilih file gambar



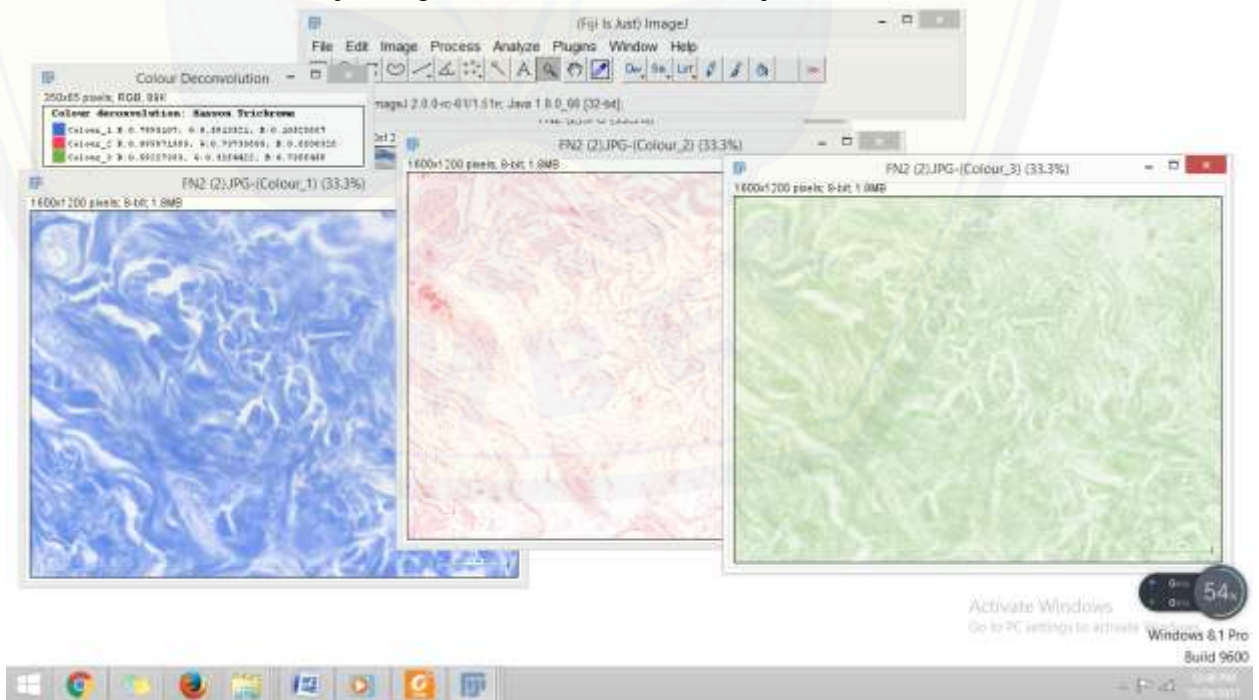
3. Pilih menu *Image > Color > Colour Deconvolution*



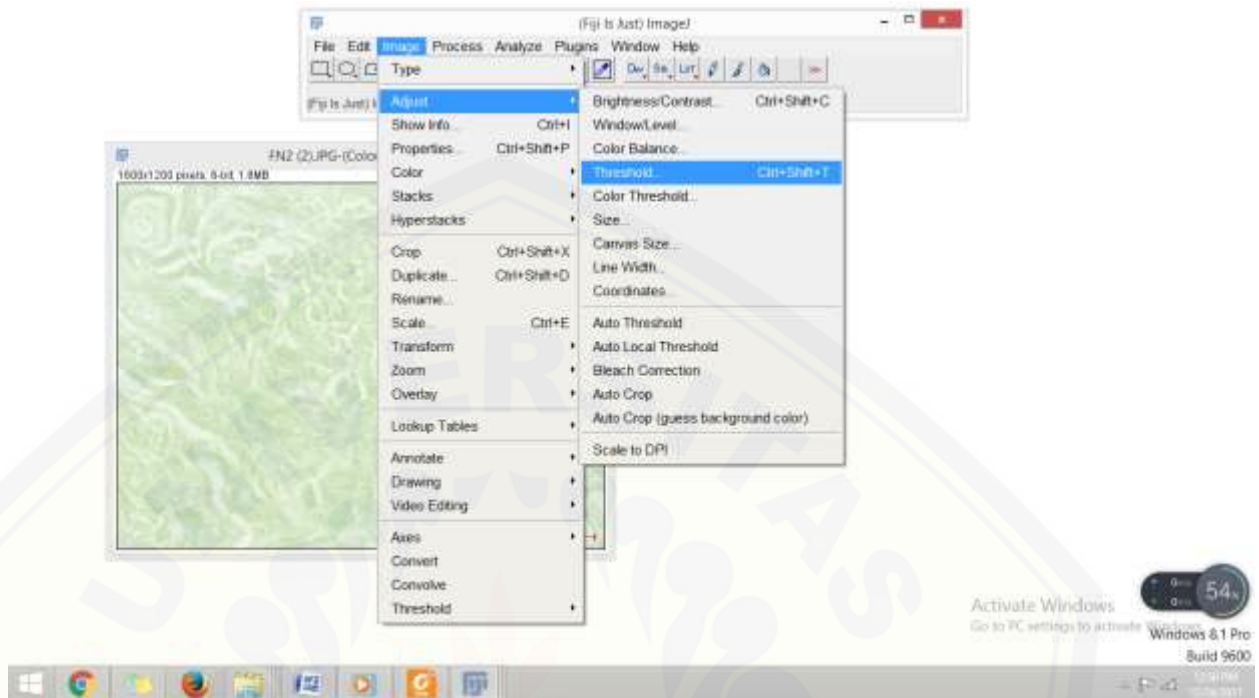
4. Pilih *Massons Trichome*



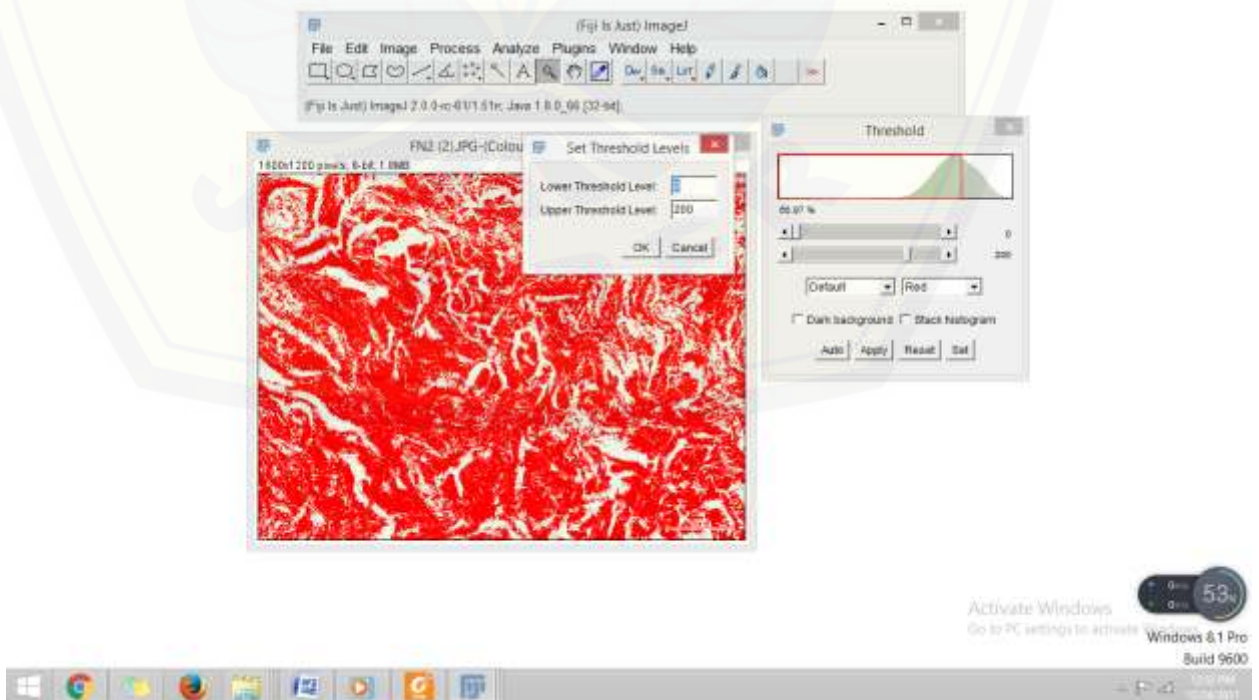
5. Gambar akan menjadi 3 gambar merah, biru, dan hijau



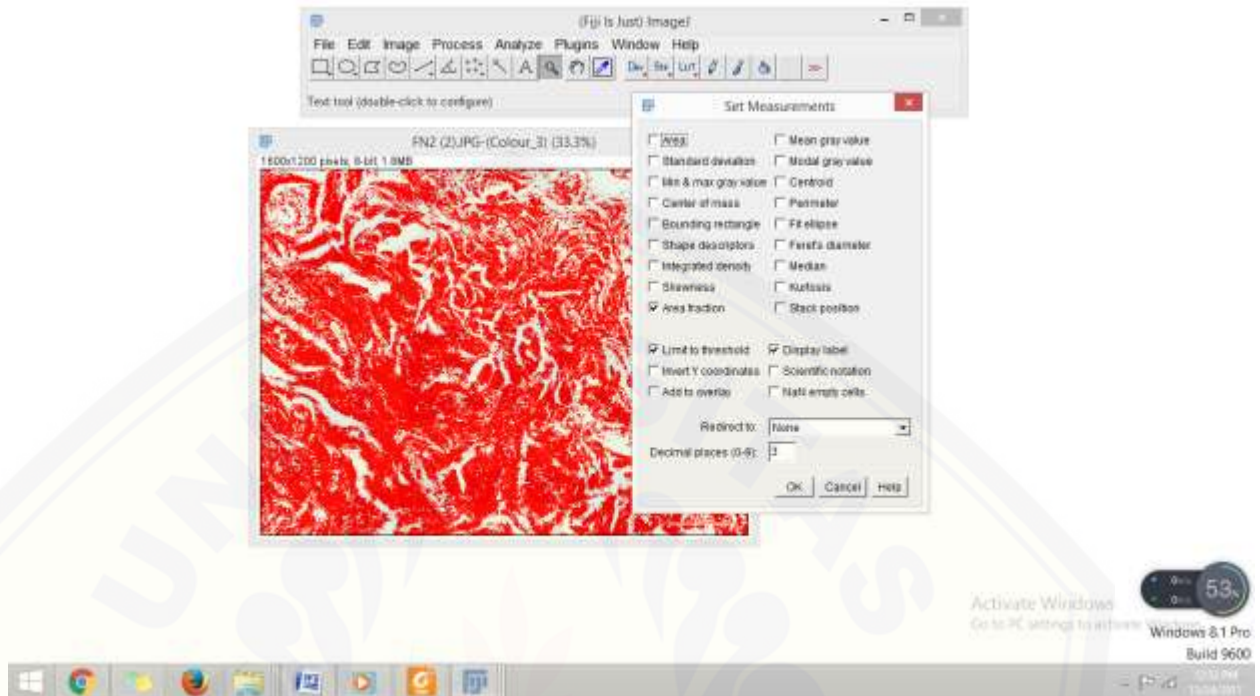
6. Klik gambar warna hijau. Pilih Menu *Image>Adjust>Threshold*



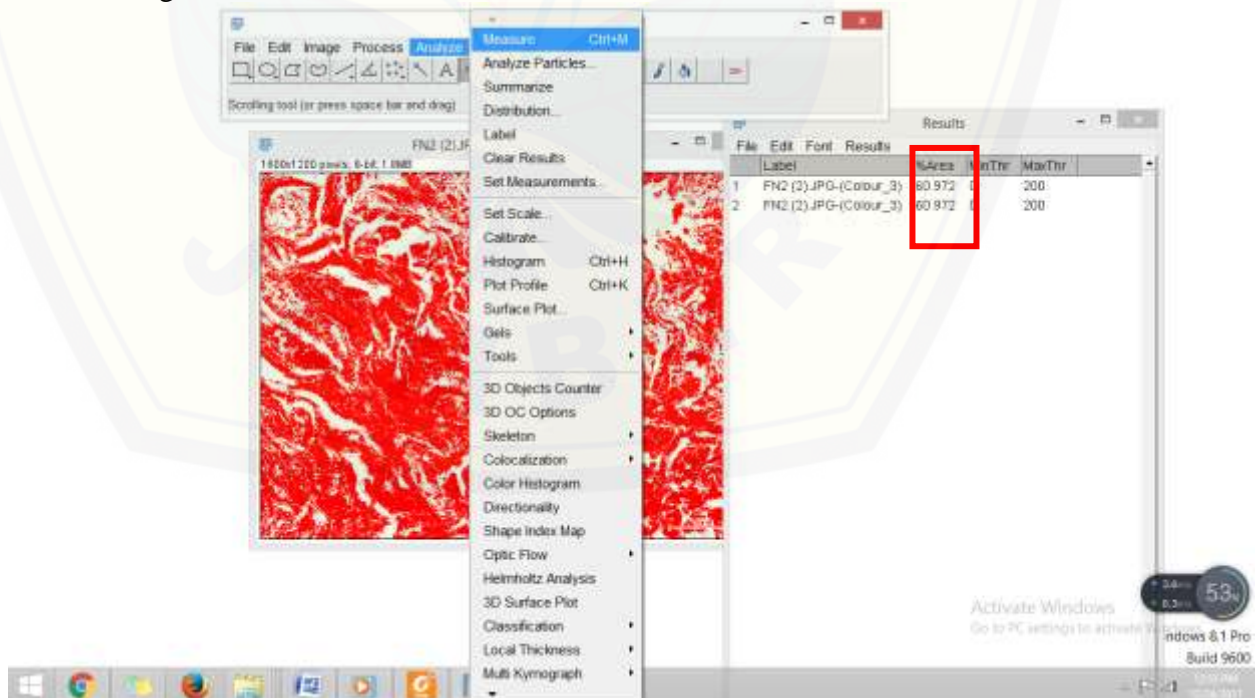
7. Atur *Threshold*. *Lower Threshold level* = 0 dan *Upper Threshold level* = 200



- Pilih menu *Analyze*> *Set Measurement*. Tandai *Area Fraction* dan *limit Threshold*



- Pilih menu *Analyze*> *Measure*. Maka akan muncul hasil kepadatan kolagen



Lampiran 4.6 Penggunaan Larutan dan Hasil Proses Ekstraksi dan Fraksinasi

Proses Ekstraksi dan Fraksinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember

A. Proses Ekstraksi

a. Tahap ekstraksi yang digunakan adalah sebagai berikut:

1. Sebanyak 10 Kg dipotong-potong kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan.
2. Setelah kering diblender untuk mendapatkan 1 Kg serbuk simplisia.
3. Sebanyak 1 Kg serbuk simplisia diekstraksi dengan ultrasonid menggunakan pelarut etanol 70% 5 L selama 1 jam
4. Kemudian disaring dengan corong Buchner sehingga diperoleh filtrat.
5. Residu dimaserasi ulang satu kali.
6. Filtrat yang dihasilkan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak etanol kental.

b. Jumlah pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi

1. Etanol 70% yang dibutuhkan = 10 L
2. Cara pembuatan Etanol 70% 10 L = 7,292 L Etanol 96% + 2,708 L Aquades

c. Hasil Ekstraksi

Hasil ekstrak etanol kental yang didapatkan 148 gram

B. Proses Fraksinasi

a. Tahap fraksinasi yang digunakan adalah sebagai berikut:

1. Ekstrak etanol kental sebanyak 120 gram ditambahkan dengan 240 mL aquades kemudian diaduk hingga homogen
2. Ditambahkan 360 mL n-heksana dalam corong pisah lalu dikocok 2-5 menit dan didiamkan sampai lapisan n-heksana dan air terpisah, kemudian seluruh lapisan n-heksana diambil. Tahap ini diulang dua kali
3. Lapisan n-heksana yang didapatkan dipekatkan dengan *rotary evaporator* untuk mendapatkan fraksi n-heksana
4. Sedangkan lapisan air ditambahkan 360 mL etil asetat dalam corong pisah, kemudian dikocok 2-5 menit dan didiamkan sampai lapisan etil asetat dan air terpisah. Seluruh lapisan etil asetat diambil. Tahap ini diulang dua kali
5. Lapisan etil asetat yang didapatkan dipekatkan dengan *rotary evaporator* untuk mendapatkan fraksi etil asetat

6. Sedangkan lapisan air kemudian dipekatkan dengan *freeze drying* untuk mendapatkan fraksi air.
7. Ekstrak yang tidak dapat larut dalam air, n-heksana, dan etil asetat dianggap sebagai lapisan etanol yang tidak digunakan dalam penelitian

b. Bahan ekstrak yang digunakan

Ekstrak etanol kental yang digunakan 120 gram

c. Pelarut yang digunakan

1. Aquades = 240 mL
2. n-Heksana = 1080 mL
3. Etil asetat = 1080 mL

a. Hasil Fraksinasi

Hasil fraksinasi didapatkan :

1. Fraksi air = 74 gram
2. Fraksi n-heksana = 2 gram
3. Fraksi etil asetat = 26 gram
4. Ekstrak yang tidak dapat larut dalam air, n-heksana, dan etil asetat = 6 gram
5. Total penyusutan atau pengurangan berat adalah 12 gram yang terjadi akibat proses fraksinasi

Mengetahui,

Analisis Laboratorium Biologi
Fakultas Farmasi
Universitas Jember

Dosen Pembimbing Tugas Akhir



(Parka Agnita)



(dr. Ancah Caesarina N. M., Ph.D)