

**EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN BAKUNG (*Crinum asiaticum*) L. PADA
FOAM DRESSING SEBAGAI PERAWATAN ULKUS DIABETES PADA
MODEL TIKUS (STRAIN WISTAR) DIABETES DILIHAT DARI LUAS
PENUTUPAN AREA LUKA DAN JUMLAH FIBROBLAS**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi**



Oleh :

Anisa Hanifatin Rahayu

155070501111018

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2019

DAFTAR ISI

Cover.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR.....	Error! Bookmark not defined.
ABSTRAK.....	Error! Bookmark not defined.
ABSTRACT.....	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR ISI.....	ii
DAFTAR TABEL.....	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR GAMBAR.....	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR SINGKATAN.....	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR LAMPIRAN.....	Error! Bookmark not defined.
BAB Error! Bookmark not defined. PENDAHULUAN.....	Error! Bookmark not defined.
1.1 Latar Belakang.....	Error! Bookmark not defined.
1.2 Rumusan Masalah.....	Error! Bookmark not defined.
1.3 Tujuan Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
1.4 Manfaat Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
1.4.1 Manfaat Akademik.....	Error! Bookmark not defined.
1.4.2 Manfaat Praktis.....	Error! Bookmark not defined.
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	Error! Bookmark not defined.
2.1 Kulit.....	Error! Bookmark not defined.
2.1.1 Lapisan Kulit.....	Error! Bookmark not defined.
2.1.1.1 Epidermis.....	Error! Bookmark not defined.
2.1.1.2 Dermis.....	Error! Bookmark not defined.
2.1.1.3 Hipodermis.....	Error! Bookmark not defined.
2.2 Proses Penyembuhan Luka.....	Error! Bookmark not defined.
2.3 Infeksi pada Ulkus Diabetes.....	Error! Bookmark not defined.
2.4 Luas Area Luka.....	Error! Bookmark not defined.
2.5 Histopatologi Jaringan Kulit.....	Error! Bookmark not defined.
2.5.1 Fibroblas.....	Error! Bookmark not defined.
2.6 Daun Bunga Bakung.....	Error! Bookmark not defined.
2.7 Sediaan <i>Foam</i>	Error! Bookmark not defined.
2.8 Tikus Wistar.....	Error! Bookmark not defined.

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	Error! Bookmark not defined.
3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
3.2 Hipotesis Penelitian	Error! Bookmark not defined.
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	Error! Bookmark not defined.
4.1 Rancangan Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
4.2 Sampel Penelitian	Error! Bookmark not defined.
4.2.1 Kriteria Sampel Penelitian	Error! Bookmark not defined.
4.2.1.1 Kriteria Inklusi	Error! Bookmark not defined.
4.2.1.2 Kriteria Dropout	Error! Bookmark not defined.
4.2.2 Besar Sampel	Error! Bookmark not defined.
4.3 Variabel Penelitian	Error! Bookmark not defined.
4.3.1 Variabel Bebas (Variabel Independent).....	Error! Bookmark not defined.
4.3.2 Variabel Tergantung (Variabel Dependent)	Error! Bookmark not defined.
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
4.5 Alat dan Bahan Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
4.5.1 Pembuatan Ekstrak dan <i>Foam dressing</i>	Error! Bookmark not defined.
4.5.2 Pembuatan Tikus Model Diabetes Melitus	Error! Bookmark not defined.
4.5.3 Pembuatan Luka Diabetes.....	Error! Bookmark not defined.
4.5.4 Perawatan Luka	Error! Bookmark not defined.
4.5.5 Pemeliharaan Tikus	Error! Bookmark not defined.
4.5.6 Teknik Pencegahan Infeksi	Error! Bookmark not defined.
4.6 Definisi Operasional.....	Error! Bookmark not defined.
4.7 Prosedur Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
4.7.1 Persiapan Hewan Coba.....	Error! Bookmark not defined.
4.7.2 Pembuatan Makanan Hewan Coba.....	Error! Bookmark not defined.
4.7.3 Pembuatan Ekstrak Daun Bakung	Error! Bookmark not defined.
4.7.3.1 Tahap Pengeringan	Error! Bookmark not defined.
4.7.3.2 Tahap Maserasi.....	Error! Bookmark not defined.
4.7.3.3 Tahap Evaporasi	Error! Bookmark not defined.
4.7.3.4 Uji Kandungan.....	Error! Bookmark not defined.
4.7.4 Pembuatan Foam Mengandung Ekstrak Daun Bakung Putih.....	Error! Bookmark not defined.
defined.	
4.7.5 Uji Kontaminan Sediaan	Error! Bookmark not defined.
4.7.6 Pembuatan Tikus Model Diabetes.....	Error! Bookmark not defined.
4.7.7 Pembuatan Ulkus pada Tikus Model Diabetes	Error! Bookmark not defined.
4.7.8 Perawatan Ulkus Diabetes	Error! Bookmark not defined.
4.7.9 Prosedur Pemeriksaan	Error! Bookmark not defined.

4.7.9.1	Eksisi Pengambilan Jaringan.....	Error! Bookmark not defined.
4.7.9.2	Pembuatan Preparat dan Pemeriksaan Histopatologi Kulit....	Error! Bookmark not defined.
4.7.9.3	Pengukuran Luas Penutupan Area Luka.....	Error! Bookmark not defined.
4.7.10	Cara Pengumpulan Data	Error! Bookmark not defined.
4.8	Analisis Data.....	Error! Bookmark not defined.
4.8.1	Alur Penelitian	Error! Bookmark not defined.
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA.....		Error! Bookmark not defined.
5.1	Hasil Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
5.1.7	Analisa Data Kontraksi Luka	Error! Bookmark not defined.
BAB 6 PEMBAHASAN.....		Error! Bookmark not defined.
6.1	Kondisi Diabetes pada Sampel Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
6.2	Pengaruh Pemberian <i>Foam Dressing</i> tanpa Ekstrak terhadap Peningkatan Prosentase Penutupan Luka Diabetes	Error! Bookmark not defined.
6.3	Pengaruh Pemberian <i>Foam Dressing</i> yang mengandung Ekstrak Daun Bakung Putih terhadap Peningkatan Prosentase Penutupan Luka Diabetes	Error! Bookmark not defined.
6.4	Perbedaan Pengaruh Pemberian <i>Foam Dressing</i> Tanpa Ekstrak dan <i>Foam Dressing</i> yang Mengandung Ekstrak Daun Bakung Putih Terhadap Penutupan Luka Diabetes pada Tikus	Error! Bookmark not defined.
6.5	Perhitungan Jumlah Fibroblas.....	Error! Bookmark not defined.
6.6	Keterbatasan Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
BAB 7 PENUTUP		Error! Bookmark not defined.
7.1	Kesimpulan	Error! Bookmark not defined.
7.2	Saran	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR PUSTAKA		Error! Bookmark not defined.
LAMPIRAN		Error! Bookmark not defined.

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN BAKUNG (*Crinum asiaticum*) L. PADA
FOAM DRESSING SEBAGAI PERAWATAN ULKUS DIABETES PADA
MODEL TIKUS (STRAIN WISTAR) DIABETES DILIHAT DARI LUAS
PENUTUPAN AREA LUKA DAN JUMLAH FIBROBLAS

Oleh:

Anisa Hanifatin Rahayu

155070501111018

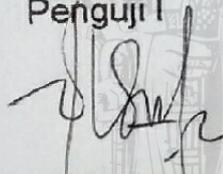
Telah diuji pada

Hari : Rabu

Tanggal : 4 Juli 2019

Dan dinyatakan lulus oleh

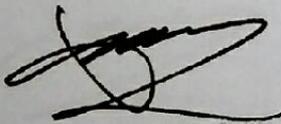
Penguji I



Uswatun Khasanah, S.Farm., M.Farm., Apt

NIP. 2011068512222001

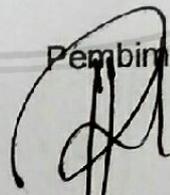
Pembimbing-I



Dra. Diana Lyrawati, Apt., M.Kes., PhD.

NIP.196811011993032004

Pembimbing-II

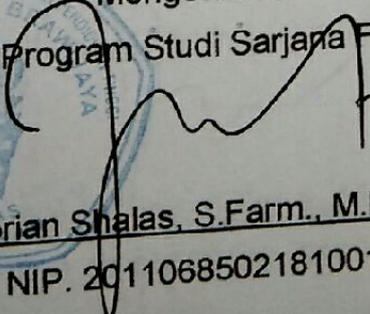


Rudy Salam, S.Farm., M.Biomed., Apt.

NIP.2009128506121001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Sarjana Farmasi



Alvan Febrian Shalas, S.Farm., M.Farm., Apt.

NIP. 2011068502181001

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus merupakan salah satu penyakit metabolisme yang ditandai dengan nilai GDP (Gula Darah Puasa) lebih dari 200 mg/dl dan gejala berupa rasa haus, lapar, dan intensitas buang air kecil yang meningkat. Berdasarkan Pusat Data dan Informasi Kementerian Indonesia, penderita diabetes melitus di Indonesia pada tahun 2013 sebanyak 12,2 juta jiwa (Kemenkes, 2014). Diperkirakan sebanyak 15% penderita diabetes melitus mengalami komplikasi ulkus diabetes terutama pada kaki. Ulkus kaki diabetes menempati urutan pertama (85%) dari seluruh amputasi pada ekstremitas bawah (Syaifuddin, 2016). Amputasi dapat dicegah dengan adanya perawatan luka yang baik.

Ulkus diabetes merupakan luka terbuka atau luka yang sering terdapat pada penderita diabetes hingga menembus kulit bagian dermis. Resiko terjadinya ulkus pada penderita diabetes 29 kali lebih besar. Pada penderita diabetes melitus yang terkena neuropati akan mengalami berkurangnya sensasi biasanya pada daerah kaki sehingga apabila terjadi luka, pasien tidak dapat merasakan nyeri. Sensasi nyeri yang hilang beresiko tinggi untuk terjadinya ulkus. Apabila perawatan ulkus diabetes menyebabkan infeksi dan berakibat kronik maka harus diamputasi agar mengurangi komplikasi yang lebih besar (Azifitria dkk, 2010).

Perawatan ulkus diabetes ada 2 jenis yaitu secara konvensional dan moderen. Prinsip dari perawatan luka diabetes secara konvensional adalah untuk melindungi luka dari infeksi. Pada perawatan ulkus diabetes konvensional

menggunakan balutan kasa steril NaCl. Perawatan ulkus diabetes secara konvensional memiliki kekurangan yaitu balutan kasa harus diganti setiap hari sehingga dapat meningkatkan resiko terjadinya infeksi. Kemudian cairan NaCl yang kurang dapat menjaga kelembapan dapat menyebabkan luka kering sehingga ketika dilakukan pergantian kasa mengakibatkan serat-serat kasa akan menempel pada luka sehingga mudah bertambahnya luka baru. Sedangkan perawatan ulkus diabetes secara moderen menggunakan balutan sintetik seperti balutan *foam*, balutan *alginate*, balutan *hidropolimer*, balutan *hidrofiber*, balutan *hydrocolloid*, balutan *hidrogel*, balutan transparan *film*, dan balutan *absorben*. Prinsip perawatan luka diabetes melitus moderen yaitu mempertahankan dan menjaga lingkungan luka tetap lembap untuk memfasilitasi penyembuhan luka, mempertahankan kehilangan cairan pada jaringan dan mencegah kematian sel (Nontji, 2015).

Penggunaan *hydrocolloid* sebagai *dressing* primer bertujuan untuk mempertahankan luka dalam keadaan lembab. Namun *hydrocolloid* hanya untuk menangani luka eksudat (cairan) minimal. Sedangkan untuk balutan luka yang lebih efektif dalam menyerap cairan luka yang berjumlah sedang sampai banyak yang sekaligus sebagai *dressing* primer atau sekunder adalah *foam* (Sibbald, 2006 dalam Kartika *et al.*, 2015)

Foam dressing adalah balutan yang efektif digunakan untuk pengobatan ulkus diabetes di Indonesia karena mudah menyerap kelebihan cairan, mencegah luka dari maserasi kulit, dan memicu autolitik *debridement* (Sulastrri, 2014). *Foam dressing* digunakan sebagian besar pada luka penderita DM di Indonesia yang melakukan pemeriksaan ulkus diabetes sudah dalam tingkat kronik dengan salah satu ciri terdapat eksudat (cairan) berlebih yang

menandakan terdapatnya infeksi (Handayani, 2016). Namun *foam* yang tidak terdapat kandungan antiinflamasi dan antioksidan ini hanya digunakan untuk menyerap eksudat yang dibutuhkan untuk penyembuhan luka (ulkus) diabetes yang lebih optimal.

Salah satu tanaman obat herbal yang banyak dijumpai di Indonesia yang berpotensi sebagai antioksidan, antibakteri dan antiinflamasi pada luka adalah bakung putih (*Crinum asiaticum L.*) (Uddin *et al.*, 2012). Tanaman ini memiliki senyawa metabolit sekunder yaitu pada daun yang terdapat kandungan flavonoid, saponin, dan tanin (Patel, 2017). Penelitian Kumar (2011) membuktikan bahwa kandungan flavonoid dan tanin pada daun bakung putih berpotensi mempercepat penyembuhan luka. Berdasarkan penelitian Azifitria dkk.(2010), ekstrak etanol daun bakung putih (*Crinum asiaticum L.*) mempunyai aktivitas antibakteri dengan merusak dinding sel dan mempengaruhi permeabilitas membrane sel bakteri yang ditandai dengan keluarnya protein, asam nukleat dari sel dan mengubah dinding sel bakteri.

Kumar (2011) melakukan penelitian aktifitas ekstrak daun bakung putih (*Crinum asiaticum L.*) pada pengobatan luka. Ekstrak daun bakung putih dibuat sediaan salep dengan konsentrasi 0,2% , 2%, dan 4%. Hasil dari penelitian tersebut, salep yang mengandung ekstrak daun bakung putih konsentrasi 4% efektif untuk pengobatan luka insisi, eksisi, dan luka bakar.

Sel utama yang berperan dalam penyembuhan luka adalah fibroblas. Jika jaringan mengalami inflamasi, maka fibroblas akan segera bermigrasi ke area luka, berproliferasi dan memproduksi matriks kolagen untuk memperbaiki jaringan yang rusak (Khairunnisa dkk., 2018). Fibroblas berperan penting pada fase proliferasi. Makrofag akan menginduksi fibroblas berproliferasi sehingga

membentuk matriks ekstraseluler. Fibroblas akan mencerna matriks fibrin kemudian menggantinya dengan glycosaminoglycan (GAG) kemudian digantikan dengan kolagen tipe III yang tersusun atas glisin, hidrosiprolin, air, glukosa, dan galaktosa. Kemudian kolagen III digantikan dengan kolagen I fase maturasi (Hariani, 2017).

Berdasarkan uraian tersebut, perlu dikembangkan obat herbal untuk ulkus diabetes yang berasal dari tanaman bakung putih (*Crinum asiaticum L.*) dengan rute pemberian transdermal. Tersedianya *foam* dengan ekstrak daun bakung putih (*Crinum asiaticum L.*) diharapkan dapat menjadi bahan pengobatan ulkus diabetes yang dapat mengurangi resiko infeksi pada fase inflamasi, mempercepat granulasi, serta penggunaan *foam* yang rekat dapat diganti 1 kali dalam 3 hari yang bisa mengurangi penggunaan kasa.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh efektivitas ekstrak daun bakung *Crinum asiaticum L.* pada *foam dressing* terhadap luas penutupan area ulkus diabetes pada model tikus (Strain Wistar) diabetes?
2. Bagaimana pengaruh efektivitas ekstrak daun bakung *Crinum asiaticum L.* pada *foam dressing* terhadap jumlah fibroblas ulkus diabetes pada model tikus (Strain Wistar) diabetes?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh efektivitas ekstrak daun bakung *Crinum asiaticum L.* pada *foam dressing* terhadap luas penutupan area luka ulkus diabetes pada model tikus (Strain Wistar) diabetes.

2. Mengetahui pengaruh efektivitas ekstrak daun bakung *Crinum asiaticum L.* pada *foam dressing* terhadap jumlah fibroblas ulkus diabetes pada model tikus (Strain Wistar) diabetes.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

1. Dapat membantu mengembangkan informasi dibidang kesehatan khususnya dalam perawatan ulkus diabetes.
2. Bagi peneliti dapat menambah wawasan dan mengaplikasikan ilmu yang telah diperoleh.
3. Bagi peneliti lain dapat dijadikan sebagai acuan pengembangan penelitian dalam bidang yang sama.

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini bermanfaat sebagai informasi dan metode pengoptimalan pemanfaatan daun bakung pada masyarakat sebagai pengobatan untuk penyembuhan dan mengurangi resiko infeksi pada ulkus diabetes di Indonesia.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit

Kulit adalah organ terluar yang berfungsi sebagai perlindungan dari luar. Kulit memiliki berbagai manfaat, salah satunya yaitu sebagai pertahanan tubuh dari mikroorganisme. Kulit bersifat kompleks, elastik, dan sensitif berdasarkan keadaan iklim, umur, ras, jenis kelamin, dan lokasi tubuh (Perdanakusuma, 2007).

2.1.1 Lapisan Kulit

2.1.1.1 Epidermis

Epidermis merupakan lapisan teratas atau terluar pada kulit yang tersusun atas jaringan epitel, mengandung sel melanosit, langerhans, dan merkel. Jaringan epitel tidak memiliki pembuluh darah dan sifatnya sangat rapat (Sloane, 2003).

Epidermis terdiri atas 5 lapisan (**Gambar 2.1**) :

1. Stratum Basal (lapis benih)

Stratum basal merupakan satu lapis sel yang tersusun berderet-deret di atas membran basal dan bagian bawah melekat pada dermis terletak paling dalam. Sel-selnya berbentuk silindris atau kuboid, intinya besar, dan sitoplasmanya basofilik. Pada lapis sel tersebut, merupakan tempat proliferasi yang berfungsi untuk regenerasi epitel. Sel-sel pada lapisan ini bermigrasi ke arah permukaan untuk memasok sel-sel pada lapisan yang lebih superfisial. Migrasi tersebut dipercepat oleh adanya luka dan regenerasi normal.

2. Stratum Spinosum (lapis taju)

Stratum spinosum terdiri atas beberapa lapis sel yang besar-besar berbentuk poligonal dengan inti lonjong yang mempunyai sitoplasma berwarna kebiruan. Apabila dilakukan pengamatan dengan perbesaran obyektif 40x, maka terlihat taju-taju yang seperti menghubungkan sel yang satu dengan yang lainnya. Desmosom melekatkan sel-sel satu sama lain pada lapisan ini, sehingga semakin ke atas bentuk sel terlihat semakin gepeng.

3. Stratum Granulosum (lapis berbutir)

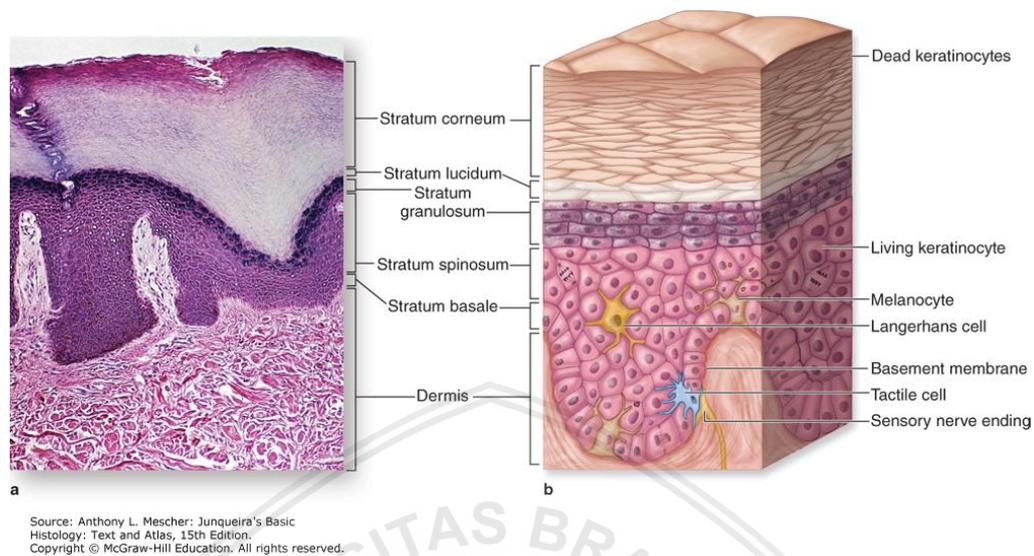
Lapisan ini memiliki karakteristik terdiri 2-4 lapis sel gepeng yang mengandung granula keratohialin, apabila diamati pada mikroskop elektron terlihat partikel amorf tanpa membrane yang dikelilingi ribosom dan mikrofilamen pada permukaan granula.

4. Stratum Lusidum (lapis bening)

Stratum lusidum memiliki karakteristik terdiri atas 2-3 lapis sel gepeng tembus cahaya, dan agak eosinofilik, tidak memiliki inti, memiliki sedikit desmosom, serta tampak garis celah memisahkan stratum korneum dari lapisan lain bawahnya.

5. Stratum Korneum (lapis tanduk)

Stratum korneum memiliki karakteristik terdiri atas banyak lapisan sel-sel mati, tidak berinti, dan pipih serta bagian sitoplasmanya digantikan oleh keratin. Pada bagian permukaan terlihat sisik zat tanduk yang selalu terkelupas.



Gambar 2.1 Lapisan kulit (Mescher, 2010)

2.1.1.2 Dermis

Dermis merupakan lapisan yang memiliki tebal ± 2 mm dan terdiri dari sel-sel yang membentuk jaringan kolagen dan serabut elastin. Sel-sel utama pada dermis yaitu fibroblas berbentuk bintang yang mensintesis kolagen, serabut elastin, dan proteoglikan (laminin, fibronektin). Dalam dermis juga terdapat makrofag, pembuluh darah, reseptor saraf, keringat, dan kelenjar minyak. (Shimizu, 2005).

2.1.1.3 Hipodermis

Hipodermis atau jaringan subkutan adalah lapisan lemak seluler yang membentuk transisi dengan jaringan di bawahnya. Lemak subkutan cenderung terkumpul pada bagian tertentu. Bagian abdomen dapat mempunyai ketebalan 3 cm atau lebih. Lapisan lemak ini disebut pannikulus adiposus (Shimizu, 2005).

2.1.2 Fungsi Kulit

Kulit adalah organ tubuh yang paling luar dan terbesar, meliputi luas permukaan 1,6 m² dan 15% dari berat badan orang dewasa. Dalam kontak langsung dengan lingkungan luar, kulit mempunyai 4 fungsi yaitu perlindungan tubuh dari mikroba dan pengaruh eksternal yang berbahaya, regulasi suhu tubuh, sebagai indra peraba, serta sintesis dan penyimpanan vitamin D (Shimizu, 2005).

Kulit berfungsi melindungi tubuh dari mikroba dan pengaruh eksternal yang berbahaya. Kulit dapat mempertahankan tubuh dari patogen/ mikroba. Apabila kulit mengalami kerusakan, maka pada kulit akan terjadi proses imunologik terhadap agen patogen kemudian mengeluarkan mikroorganisme dari epidermis dan dermis (Garna, 2001).

Kulit berfungsi sebagai regulasi suhu tubuh dengan menggunakan kelenjar keringat. Kelenjar keringat pada kulit ada 2 jenis. Kelenjar mikrokrin bergetah encer (banyak mengandung air), tersebar diseluruh permukaan tubuh kecuali kuku berfungsi untuk mengatur suhu tubuh. Sedangkan kelenjar apokrin berfungsi setelah pubertas menghasilkan cairan kental yang dikeluarkan dari beberapa daerah kulit seperti ketiak, sekitar dubur, kepek mata, dan areola mamma (Kalangi, 2013).

Kulit berfungsi sebagai indra peraba dan perasa. Pada Kulit bagian lapisan dermis terdapat beberapa reseptor yang fungsinya berbeda, yaitu korpuskula pacini berfungsi untuk perasa tekanan kuat, ujung saraf sekeliling rambut berfungsi sebagai saraf peraba, korpuskula ruffini berfungsi sebagai perasa panas, ujung saraf krause berfungsi sebagai perasa dingin, korpuskula meissner berfungsi sebagai peraba, ujung saraf tanpa selaput berfungsi sebagai

perasa nyeri, dan lempeng merkel berfungsi sebagai perasa sentuhan dan tekanan ringan (Pratiwi, 2007).

Kulit berfungsi sebagai sintesis dan penyimpanan vitamin D. Kulit mengandung zat yang disebut ergosterol yang berfungsi untuk sintesis vitamin D. Mekanisme paparan sinar matahari, ergosterol diubah menjadi vitamin D₂ yang merupakan salah satu bentuk dari lima jenis vitamin D. Vitamin D merupakan salah satu vitamin steroid dan meningkatkan penyerapan kalsium dan fosfor (Kalangi, 2013).

2.2 Proses Penyembuhan Luka

Luka merupakan salah satu bentuk kerusakan jaringan kulit yang disebabkan oleh kontak fisik, hasil dari tindakan medis, maupun kondisi fisiologis tubuh. Ketika tubuh mengalami luka, secara otomatis akan melalui beberapa tahap proses penyembuhan luka.

1. Hemostasis

Tahap hemostasis dimulai saat terjadi luka. Hemostasis adalah suatu interaksi kompleks antara trombosit, pembuluh darah dan protein koagulasi yang bertujuan untuk menghentikan perdarahan dengan tetap menjaga aliran darah pada pembuluh darah. Pada fase ini, keping darah melepaskan faktor pembekuan darah yang akan membentuk benang-benang fibrin. Setelah terjadi proses pembekuan darah, komponen hemostasis melepaskan sinyal kimiawi yang dikenal sitokin atau faktor pertumbuhan yang menginisiasi terjadinya penyembuhan luka. Sinyal kimiawi tersebut adalah *Transforming Growth Factor β* (TGF- β) dan *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF). Faktor pertumbuhan atau PDGF akan menginduksi neutrofil, sel otot polos, makrofag, dan fibroblas menuju

area luka. Fibroblas akan berperan membentuk jaringan parut pada proses penyembuhan luka. Neutrofil pada area luka menunjukkan fase penyembuhan luka selanjutnya yaitu inflamasi (Diegelmann dan Evans, 2004).

2. Inflamasi

Pada fase inflamasi, neutrofil memasuki area luka. Proses inflamasi dapat terjadi setelah luka hingga hari ke 5. Neutrofil mulai muncul 24 jam setelah terjadi kerusakan jaringan. Neutrofil berfungsi untuk mengeleminasi benda asing, bakteri, sel dan matriks yang rusak melalui proses yang disebut fagositosis. Kemudian sel *mast* melepaskan granul yang berisi berbagai macam enzim, histamin, dan amina aktif lainnya sebagai tanda terjadi inflamasi. Tanda-tanda inflamasi mulai muncul yaitu *rubor* (kemerahan), kalor (panas), tumor (pembengkakan), dan dolor (nyeri) (Diegelmann dan Evans, 2004).

3. Proliferasi

Proliferasi adalah tahap dimana TGF- β yang dilepaskan oleh makrofag, platelet, dan limfosit T akan mengatur fungsi fibroblas dan penumpukan matriks ekstraseluler. TGF- β berfungsi untuk meningkatkan produksi kolagen, fibronektin, dan proteoglikan serta mengurangi protease dan meningkatkan inhibitor protease. Setelah jaringan terbentuk dengan sempurna, maka muncul enzim yang berfungsi untuk mengeliminasi keropeng yang telah terbentuk (Diegelmann dan Evans, 2004).

4. Remodelling

Pada tahap remodeling diperankan oleh fibroblas yang berfungsi sebagai penghasil matriks baru yang menggantikan matriks lama yang telah rusak sehingga struktur dan fungsi jaringan kembali normal. Proses ini diawali dengan terbentuknya kolagen setelah fibroblas berikatan dengan benang fibrin. Daya

elastisitas serat kolagen baru diperkirakan hanya mencapai 80% dari daya elastisitas jaringan normal. Proses akhir dari tahap remodeling adalah degradasi kolagen. Makrofag, netrofil, dan fibroblas akan mengeluarkan enzim kolagenase untuk mendegradasi kolagen. Fragmen-fragmen hasil dari degradasi kolagen akan mengalami denaturasi dan penghancuran oleh enzim protease lainnya (Diegelmann dan Evans, 2004).

Faktor penghambat penyembuhan luka ada 2 jenis, yaitu lokal dan sistemik. Faktor lokal merupakan gangguan pada proses penyembuhan luka, meliputi oksigenase dan infeksi. Faktor sistemik adalah gangguan yang disebabkan oleh penyakit sehingga mempengaruhi proses penyembuhan luka (Guo dan DiPietro, 2010).

Penghambatan penyembuhan luka dapat terjadi pada penderita diabetes melitus. Pada penderita kondisi diabetes, hipoksia menjadi lebih lama dari keadaan normal. Kondisi ini menyebabkan meningkatnya jumlah radikal oksigen yang dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan. Diabetes juga menyebabkan disfungsi sel fibroblas dan epidermal serta penurunan imunitas sel T, fagositosis, dan kemotaksis leukosit. Kondisi tersebut menyebabkan proses pembersihan luka dari bakteri tidak efektif sehingga rentan terjadi infeksi yang dapat menghambat proses penyembuhan luka (Guo dan DiPietro, 2010).

2.3 Infeksi pada Ulkus Diabetes

Ulkus diabetes adalah luka pada penderita diabetes hingga menembus lapisan dermis kulit. Sistem klasifikasi luka diabetes berdasarkan Universitas Texas (UT) yaitu adanya infeksi dan tanda-tanda iskemia pada kaki. Sistem ini menggunakan matriks tingkat luka sebagai sumbu x dan tahapan luka sebagai sumbu y. Tingkat luka pada penderita diabetes melitus dibagi menjadi empat,

yaitu tingkat 0 (adanya ulkus yang sudah atau belum sembuh), tingkat 1 (luka superfisial yang tidak mencapai tendon atau tulang) merupakan tingkat luka pada penelitian yang digunakan, tingkat 2 (kedalaman luka mencapai tendon), dan tingkat 3 (kedalaman luka mencapai tulang dan sendi. Sedangkan pada tahapan luka dibagi menjadi empat, yaitu tahap A (luka bersih), tahap B (luka dengan infeksi tanpa iskemia), tahap C (luka dengan iskemik tanpa infeksi), dan tahap D (luka dengan iskemia dan infeksi) (Oyibo *et al*, 2001).

Berikut merupakan patofisiologi dari ulkus diabetik (Jeffcoate dan Hading, 2003):

1. Neuropati

Neuropati merupakan kematian sel-sel saraf. Neuropati ditandai dengan hilangnya rasa sakit. Akibatnya pasien tidak menyadari jika telah terjadi luka. Mekanisme neuropati saat terjadi luka adalah pembentukan kalus (penebalan kulit) terutama pada daerah-daerah yang mendapat tekanan lebih besar. Setelah terbentuk kalus, terjadi iskemia yang menyebabkan kematian jaringan sehingga memicu keretakan kalus yang menyebabkan terbentuknya luka hingga mencapai jaringan subkutan.

2. Iskemia

Iskemia pada jaringan ditandai dengan tebal, kering, dan merah. Iskemia dapat menyebabkan kematian jaringan dan memperpanjang waktu penyembuhan luka.

3. Infeksi

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

4. Trauma

Pada pasien diabetes yang mempunyai ulkus atau luka, kemungkinan akan mengalami kembali ulkus diabetes.

5. Tekanan

Pada beberapa bagian tubuh ada daerah yang mengalami tekanan lebih besar, misal pada daerah metatarsa; kaki sehingga memicu terjadinya ulkus.

6. Perawatan luka yang buruk

2.4 Luas Area Luka

Salah satu parameter untuk penelitian penyembuhan luka yaitu luas penutupan area luka. Sebelum sampel diproses menjadi preparat histologi, terlebih dahulu dilakukan pengamatan makroskopis yaitu kerapatan kulit/ kontraksi (pengukuran panjang dan lebar luka). Kerapatan kulit / kontraksi dapat diukur dengan penyempitan ukuran luka menggunakan aplikasi *software AutoCAD*. Kontraksi luka dihitung sebagai persentase dari pengurangan area yang terluka (Peşin Süntar *et al.*, 2011)

2.5 Histopatologi Jaringan Kulit

2.5.1 Fibroblas

Fibroblas merupakan sel yang paling berlimpah di jaringan ikat yang berfungsi pada sekresi bahan profilaksis-matriks ekstrarenal untuk menjaga integritas struktural jaringan ikat. Fibroblas mensintesis kolagen, elastin, glikosaminoglikan, proteoglikan, dan glikoprotein multiadesif (Nilforushzadeh, 2017).

Fibroblas merupakan tipe sel stroma dominan yang terlihat pada jaringan lunak. Fibroblas muncul sebagai sel-sel berbentuk gelondong atau berbentuk

seperti bintang (fibroblas aktif) dengan inti berbentuk bulat atau oval yang berada di pusat (**Gambar 2.2**) . Sel-sel fibroblas dan produk matriks ekstraselulernya (serat dan bahan dasar amorf) memainkan peran penting dalam menjaga integritas struktural jaringan ikat, proses penyembuhan, dan perubahan patologis.



Gambar 2.2 Bentuk Fibroblas (Shimizu, 2005)

2.6 Daun Bunga Bakung

Klasifikasi daun bakung menurut Uddin, *et al.* (2012)

- Divisi : Spermatophyla
- Sub : Angiospernae
- Kelas : Monocotyledonae
- Bangsa : Liliaceae
- Suku : Amaryllidaceae
- Marga : Crinum
- Jenis : *Crinum asiaticum L.*

Tanaman daun bakung putih dikenal sebagai tanaman hiasan. Berbagai studi membuktikan bahwa daun *Crinum asiaticum* dapat menghambat terhadap beberapa strain mikroba patogen. Di negara-negara Asia Tenggara, *Crinum asiaticum* cukup dikenal sebagai obat dalam terapi cedera dan sendi meradang (Rahman dkk, 2013).

Ciri-ciri tanaman bakung putih (**Gambar 2.3**) yaitu mempunyai tinggi 60-180 cm yang memiliki tangkai yang kuat dan kokoh. Daun berbentuk sejajar, panjang, berwarna hijau. Warna bunga putih, memiliki tiga kelopak, berbentuk corong dengan biji besar bundar gepeng dan berlendir, serta mahkota bunga lancip. Tanaman bunga bakung memiliki umbi yang besar tumbuh di tanah berdiameter 5-10 cm (Patel, 2017).

Tanaman bakung putih (*Crinum asiaticum L.*) memiliki senyawa metabolit sekunder yaitu pada daun terdapat kandungan flavonoid, saponin, dan tanin sedangkan pada umbi, akar, serta biji mengandung alkaloid likorin, krinin, dan asetilkorin (Patel, 2017). Menurut penelitian Kumar (2011) dan Uddin, *et. al* (2012), kandungan metabolit sekunder pada daun bakung putih berpotensi sebagai antioksidan, antibakteri dan antiinflamasi yang ampuh mempercepat penyembuhan luka.



Gambar 2.3 *Crinum asiaticum L.*

2.7 Sediaan Foam

Foam untuk ulkus diabetes sebagian besar adalah lembaran poliuretan yang lembut dan mengandung ujung hidrofilik dan hidrofobik. Ujung hidrofilik menyerap eksudat dengan aksi kapiler dan dilakukan di dalam struktur sehingga menghilangkan eksudat dan cairan edema dan meningkatkan epitelisasi. Menurut penelitian Kumar (2016) *foam* efektif dalam merawat ulkus

diabetes sekunder (ukuran ulkus minimal 5 cm) karena dapat mengurangi area permukaan luka dan granulasi, serta bisa mengurangi penggunaan kasa karena *foam* dapat digunakan hingga 3 hari.

2.8 Tikus Wistar

Klasifikasi tikus Wistar adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Kelas : Mammalia
Ordo : Rodentia
Subordo : Odontoceti
Familia : Muridae
Genus : *Rattus*
Spesies : *Rattus norvegicus*

Tikus galur Wistar putih memiliki sifat-sifat menguntungkan sebagai hewan uji penelitian, antara lain perkembangbiakan cepat, mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak, mempunyai ukuran yang lebih besar dari mencit, dan metabolisme hampir mirip dengan manusia. Tikus putih galur Wistar memiliki ciri-ciri morfologi (**Gambar 2.4**) yaitu albino, kepala kecil, pertumbuhan yang cepat, ekor lebih panjang dari badannya, dan tahan terhadap arsenik tiroksid.

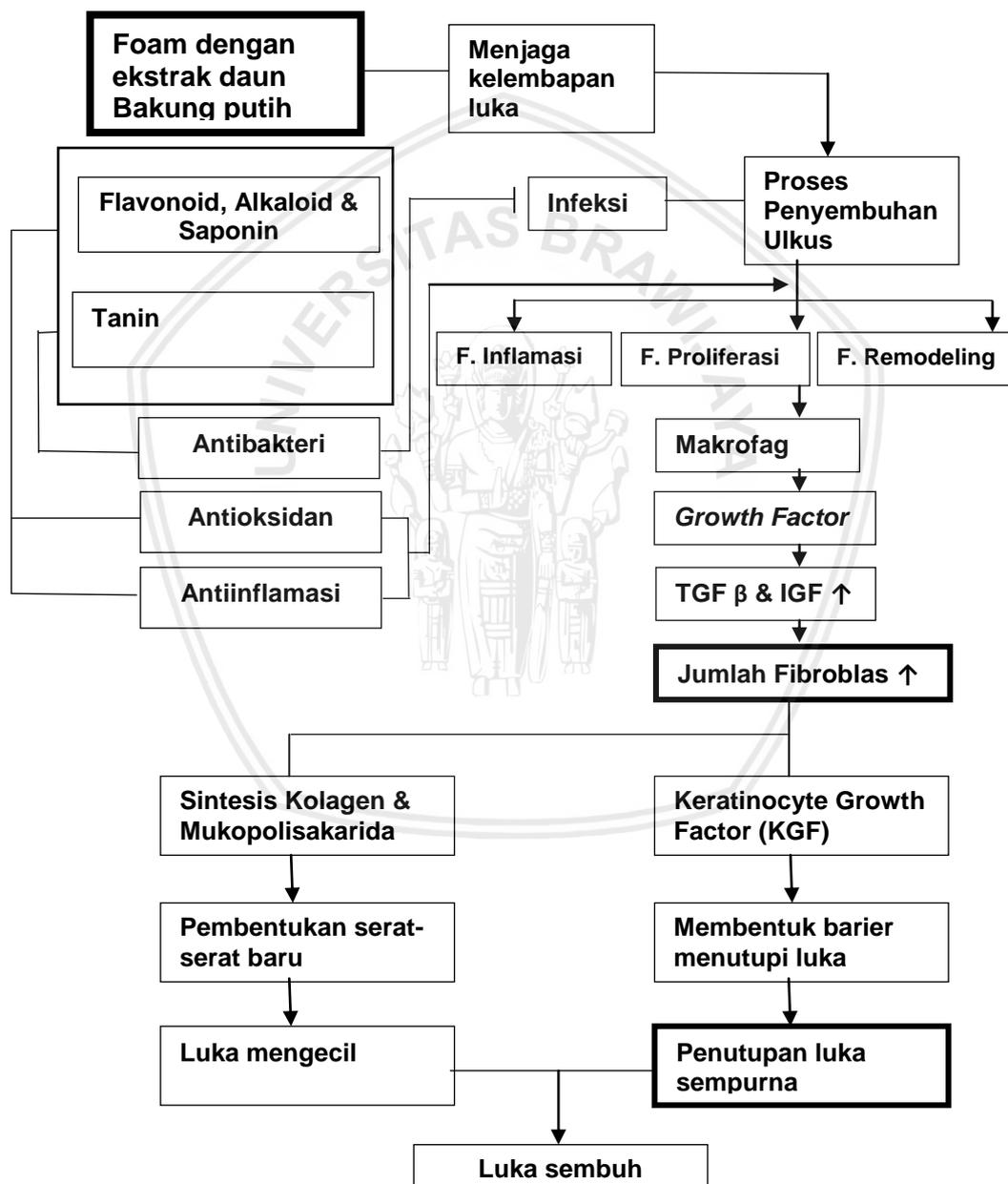


Gambar 2.4 Tikus Galur Wistar (Smith JB dan Mangkoewidjojo S. , 1988)

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

1.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

: Diteliti
 : Tidakditeliti
 : Menghambat
 → : meningkatkan



Ekstrak daun bakung putih mengandung Alkaloid, flavonoid sebagai antioksidan, saponin sebagai antiinflamasi, dan tanin sebagai antibakteri. Sedangkan sediaan *foam dressing* bertujuan untuk menjaga kelembapan luka.

Daun bakung putih (*Crinum asiaticum L.*) mengandung flavonoid dan saponin yang berperan langsung pada proses ROS. Flavonoid memiliki daya antioksidan kuat dengan daya penangkap radikal bebas yang luas dan dapat menghambat formasi radikal bebas hidroksil dengan meregenerasi OH menjadi H₂O. Sedangkan saponin mempunyai kemampuan sebagai pembersih atau antiseptik. Saponin dapat memicu *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan meningkatkan jumlah makrofag bermigrasi ke area luka sehingga meningkatkan produksi sitokin yang akan mengaktifkan fibroblas di jaringan luka. Flavonoid dan saponin juga memiliki fungsi sebagai antiinflamasi.

Kandungan tanin berperan sebagai antibakteri. Mekanismenya adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut.

Sebagai antibakteri, flavonoid akan menghambat terjadinya infeksi. Flavonoid dan saponin yang berfungsi sebagai antioksidan dan antiinflamasi dapat merangsang makrofag untuk meningkatkan sitokin khususnya TGF- β dan FGF yang menyebabkan induksi proliferasi serta terbentuknya fibroblas yang berperan dalam proses epitelisasi dan percepatan penyembuhan luka.

1.2 Hipotesis Penelitian

Pemberian ekstrak etanol daun bakung putih (*Crinum asiaticum L.*) dengan rute transdermal menggunakan *foam dressing* mempengaruhi prosentase luas penutupan area luka dan peningkatan fibroblas pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar kondisi diabetes melitus.

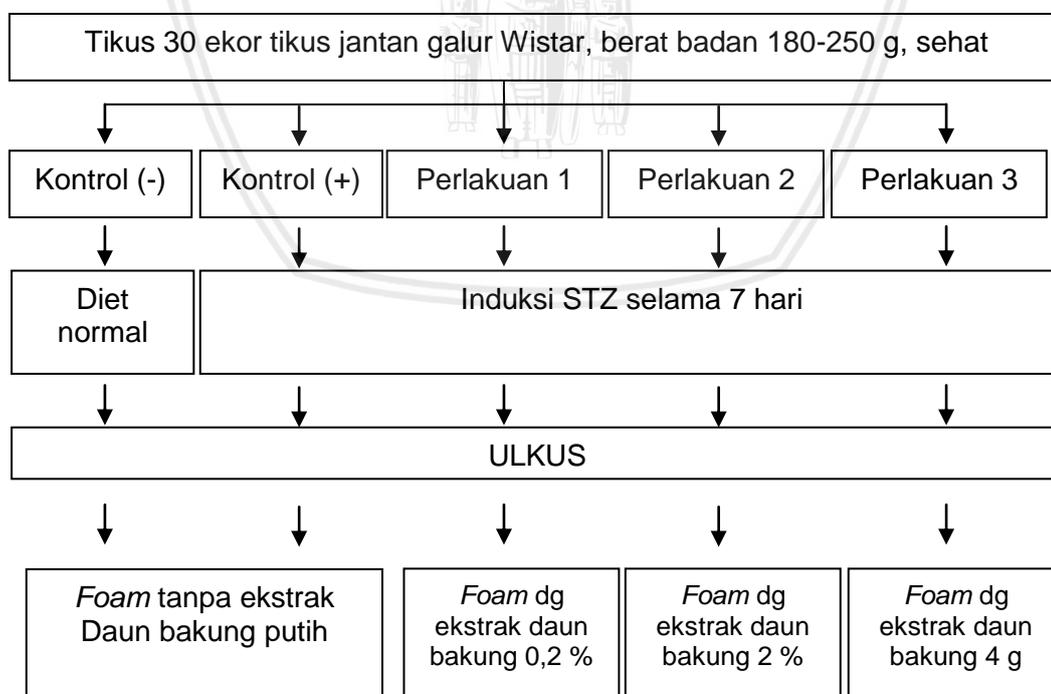


BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental murni (*true experimental laboratory*) metode yang digunakan yaitu *randomized posttest only controlled group design* untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun bakung putih terhadap luas penutupan area luka dan peningkatan jumlah fibroblas pada perawatan luka diabetes melitus tikus Wistar. Pada penelitian ini (**Gambar 4.1**) digunakan hewan coba tikus galur Wistar yang dibagi secara acak menjadi 5 kelompok.



Gambar 4.1 Rancangan Penelitian

Keterangan: kontrol negatif (diet normal + *foam* tanpa ekstrak daun bakung), kontrol positif (STZ 45 mg/kg BB + *foam* tanpa ekstrak daun bakung), P1: (STZ + *foam* dengan ekstrak daun bakung 0,2 %), P2: (STZ + *foam* dengan ekstrak daun bakung 2 %), (STZ + *foam* dengan ekstrak daun bakung 4 %).

4.2 Sampel Penelitian

4.2.1 Kriteria Sampel Penelitian

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus (*Rattus novergicus*) jantan galur Wistar karena memiliki persamaan respon biologis mendekati manusia. Untuk menghindari faktor perancu penelitian maka ditentukan kriteria inklusi sampel.

4.2.1.1 Kriteria Inklusi

Berikut merupakan kriteria inklusi hewan coba :

1. Jenis tikus adalah *Rattus novergicus* berwarna putih berjenis kelamin jantan.
2. Berat badan antara 180-250 g karena dapat menurunkan angka kematian akibat STZ.
3. Umur 2,5-3 bulan (usia pertumbuhan).
4. Kondisi sehat dengan pergerakan aktif, bulu mengkilat, tebal, bersih, dan tidak rontok, badannya tegap tidak krepeng, tidak keluar lendir, nanah, atau darah dari mata atau telinga, tidak mencret dan pernafasan tenang, dibuktikan dengan surat sehat sampel.
5. Aklimatisasi 12 hari.
6. Tidak menggunakan pengobatan sebelum penelitian.

4.2.1.2 Kriteria Dropout

1. Tikus mati

4.2.2 Besar Sampel

Untuk menghitung jumlah tikus yang diperlukan sebagai hewan coba, dapat digunakan rumus sebagai berikut (Supranto,2000):

$(t-1)(n-1) \geq 15$, dengan t = banyaknya kelompok perlakuan,

n = jumlah sampel tiap perlakuan

Jika di dalam penelitian ini diketahui perlakuan (t) = 5, yaitu, 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan sehingga didapat nilai n sebagai berikut:

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

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

$$n \geq 19/4;$$

$$n \geq 4,75.$$

Jadi jumlah sampel untuk tiap kelompok perlakuan minimal 5 ekor tikus, sehingga jumlah total tikus yang dibutuhkan adalah 25 ekor tikus. Namun untuk mencegah hilangnya sampel di tengah penelitian karena tikus mati, maka jumlah sampel ditambah 1 ekor untuk setiap kelompok perlakuan, sehingga total dibutuhkan 30 ekor tikus.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas (Variabel Independent)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah *foam* yang mengandung ekstrak etanol daun bakung putih (*Crinum asiaticum*) dengan konsentrasi 0,2 % ; 2 %; 4 %.

4.3.2 Variabel Tergantung (Variabel Dependent)

Variabel tergantung dari penelitian ini adalah luas penutupan area luka dan peningkatan jumlah fibroblas dalam proses penyembuhan luka diabetes melitus pada tikus galur Wistar.

Variabel bebas penelitian ini adalah pemberian *foam* yang mengandung ekstrak daun bakung putih (*Crinum asiaticum L.*) dengan dosis 0,2 % , 2 %, dan 4 %.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya selama 2 bulan pada bulan Juli-Agustus 2018. Pengecekan histopatologi kulit dan pembacaan preparat dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Pembuatan Ekstrak dan *Foam dressing*

1. Penggiling/blender
2. Oven
3. Timbangan/ neraca analitik
4. Labu evaporator
5. Corong gelas
6. Erlenmeyer
7. Labu penampung etanol

8. Evaporator
9. *Rotary evaporator*
10. Selang *water pump*
11. *vacum pump*
12. *Water bath*
13. lemari pendingin
14. Kertas saring
15. Botol hasil ekstrak
16. Kertas saring
17. Daun bakung putih
18. *Aquades*
19. Etanol 70%
20. *Foam dressing*

4.5.2 Pembuatan Tikus Model Diabetes Melitus

1. Sarung tangan lateks
2. Masker
3. Spuit 1 cc
4. *Streptozotocin* (45 mg/kg BB dengan pelarut *Buffer sitrat* 0,1 M pH 4,5)
5. Alkohol 70%
6. Larutan glukosa 5%
7. *Glucostick*
8. Glukometer

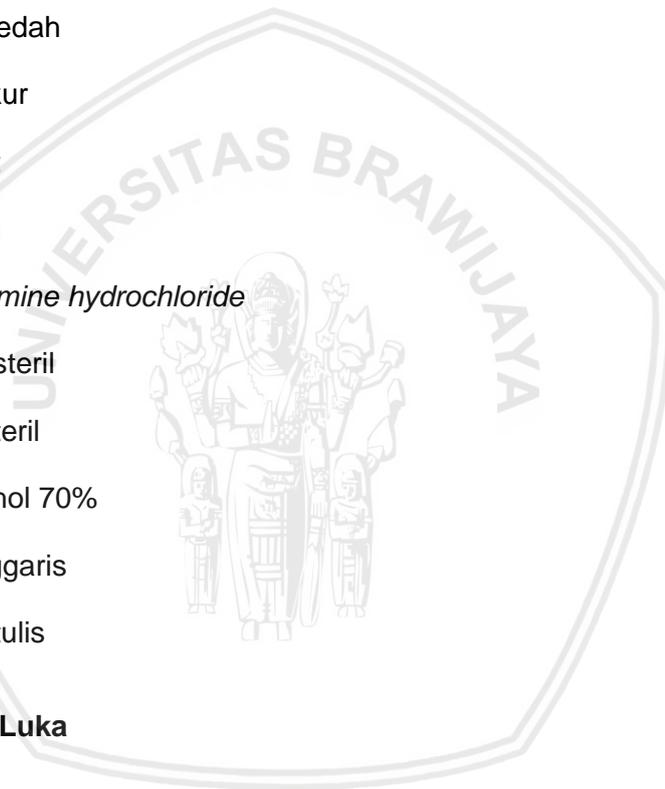
4.5.3 Pembuatan Luka Diabetes

1. Gunting

2. Masker
3. Sarung tangan lateks
4. Spidol
5. Pinset anatomis 2 buah
6. *Mezt*
7. *Underpad*
8. Pisau bedah
9. Alat cukur
10. Sput
11. Kasa
12. *Ketamine hydrochloride*
13. Bak steril
14. Air steril
15. Alkohol 70%
16. Penggaris
17. Alat tulis

4.5.4 Perawatan Luka

1. Perlak
2. Perekat ©*Hipafix*
3. Plester
4. Pinset
5. Gunting
6. Bak instrumen
7. Sarung tangan steril
8. Masker



9. Kasa steril
10. Kasa bersih
11. *Foam dressing* yang mengandung ekstrak daun bakung putih
12. *Foam dressing*
13. Normal salin
14. *Spuut* 1 cc
15. Plastik pembuangan sampah

4.5.5 Pemeliharaan Tikus

1. Kandang
2. Makanan tikus (katul)
3. Sekam
4. Botol air
5. Penutup kandang dari kawat.

4.5.6 Teknik Pencegahan Infeksi

1. *Hand sanitizer*
2. Tempat cuci tangan/ *wastafel*
3. Sabun cuci tangan
4. Sarung tangan bersih/ steril
5. Kain handuk kecil

4.6 Definisi Operasional

1. Daun bakung putih yang digunakan yaitu jenis *Crinum asiaticum L.* yang diperoleh dari UPT Materia Medika Batu, Jawa Timur.
2. Ekstrak daun bakung putih diperoleh dari ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70%.

3. Ulkus diabetes adalah luka pada penderita diabetes hingga menembus lapisan dermis kulit biasanya disertai dengan infeksi.
4. Fibroblas merupakan sel yang paling berlimpah di jaringan ikat yang berfungsi pada sekresi bahan profilaksis-matriks ekstrarenal untuk menjaga integritas struktural jaringan ikat, berbentuk gelondong atau berbentuk seperti bintang (fibroblas aktif) dengan inti berbentuk bulat atau oval yang berada di pusat.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Persiapan Hewan Coba

1. Persiapan pemeliharaan hewan coba mulai dari kandang pemeliharaan hewan coba, anyaman kawat, sekam, botol minum, tempat makan, pakan *comfeed*, *normal saline*.
2. Persiapan pemeliharaan hewan coba mulai dari kandang pemeliharaan hewan coba, anyaman kawat, sekam, botol minum, tempat makan, pakan *comfeed*, *normal saline*.
3. Tikus Wistar disiapkan 25 ekor tikus yang dilakukan aklimatisasi (adaptasi) dalam laboratorium Parasitologi FK UB selama 12 hari.
4. Tikus Wistar dimasukkan ke dalam kandang (1 kandang 1 ekor tikus).
5. Pembersihan kandang, pemberian makan dan minum dilakukan dalam satu kali sehari.

4.7.2 Pembuatan Makanan Hewan Coba

1. Disiapkan makanan ayam jenis BR1 dicampur tepung secukupnya.
2. Ditimbang sampai 30 g.

3. Makanan dibuat bulat-bulat, diletakkan di dalam kandang.
4. Diberikan sehari sekali.
5. Sebelum makanan diganti, maka ditimbang sisa makanan hari sebelumnya.

4.7.3 Pembuatan Ekstrak Daun Bakung

4.7.3.1 Tahap Pengeringan

1. Daun bakung dicuci bersih, kemudian dipotong kecil-kecil.
2. Dikeringkan secara langsung dibawah sinar matahari selama 7 hari dan dihaluskan menggunakan blender. Serbuk yang didapatkan yaitu 900 gram

4.7.3.2 Tahap Maserasi

1. Serbuk daun bakung 900 gram dimasukkan ke dalam *beaker glass* dan ditambah dengan pelarut etanol 70% sampai volume 1000 ml,
2. Serbuk daun bakung putih dalam pelarut etanol 70% dikocok dan direndam (maserasi) selama 3 hari.

4.7.3.3 Tahap Evaporasi

Tahap Evaporasi (Kumesan, 2011) sebagai berikut.

1. Lapisan atas hasil maserasi diambil.
2. Cairan dimasukkan ke labu evaporasi 1 liter.
3. Labu evaporasi dipasang pada evaporator.
4. *Waterbath* diisi dengan air sampai penuh
5. Rangkaian alat dipasang, termasuk pemanas *waterbath* (suhu 70°C – 80 °C), selanjutnya disambungkan pada aliran listrik.

6. Larutan etanol dibiarkan memisah dengan zat aktif ke dalam labu penampung.
7. Tunggu sampai larutan etanol berhenti menetes pada labu penampung \pm 2 jam
8. Hasil ekstraksi dimasukkan ke dalam botol hasil ekstraksi.
9. Disimpan ke dalam kulkas dengan suhu 10°C.

4.7.3.4 Uji Kandungan

1. Uji Kandungan Alkaloid
 - 1) Larutan ekstrak etanol daun bakung putih diambil sebanyak 2 ml, kemudian diuapkan di cawan porselin .
 - 2) Residu yang dihasilkan kemudian dilarutkan 5 mL HCl 2 N.
 - 3) Setelah menjadi dingin, larutan tersebut disaring.
 - 4) Larutan dibagi kedalam 3 tabung reaksi. Tabung pertama sebagai kontrol. Tabung ke 2 ditambahkan 3 tetes pereaksi *dragendroff* dan tabung ke 3 ditambahkan 3 tetes pereaksi *mayer* (melalui dinding tabung).
 - 5) Jika pada tabung 2 terbentuk endapan jingga dan pada tabung ke 3 terbentuk endapan kuning dapat menunjukkan adanya alkaloid (Farnsworth, 1966 dalam Putri dkk. 2015).
2. Uji Tanin
 - 1) Larutan daun bakung putih sebanyak 2 ml dimasukkan kedalam 3 tabung reaksi (tabung ke 1 kontrol, tabung ke 2 perlakuan dengan pereaksi FeCl₃, dan tabung ke 3 perlakuan dengan pereaksi gelatin)

- 2) Tabung ke 2 ditambah beberapa tetes larutan FeCl_3 5% akan terbentuk warna hijau gelap.
- 3) Tabung ke 3 ditambah dengan larutan gelatin beberapa tetes, sehingga terbentuk endapan putih (Robinson, 1911 dalam Putri dkk, 2015).

3. Uji Saponin

- 1) Larutan ekstrak etanol daun bakung putih diambil 4 ml.
- 2) Ditambahkan 5 ml air, kemudian dikocok.
- 3) Terbentuk busa stabil (busa setinggi 1 cm dan stabil selama 30 menit).
- 4) Dimasukkan larutan ekstrak 4 ml ke dalam tabung reaksi sebagai kontrol (Depkes RI, 1995 dalam Putri dkk, 2015).

4. Uji Flavonoid

- 1) Larutan ekstrak daun bakung putih 1 mL dimasukkan ke tabung reaksi.
- 2) Ditambahkan 10 tetes asam klorida pekat.
- 3) Terbentuk warna hitam kemerahan positif flavonoid.

4.7.4 Pembuatan *Foam* Mengandung Ekstrak Daun Bakung Putih

Foam dressing yang digunakan yaitu *Cutimed* ukuran 10 cm x 10 cm dipotong menjadi 3 cm x 3 cm. Kemudian disiapkan ekstrak daun bakung sesuai dengan konsentrasi yang sudah ditetapkan. Ekstrak daun bakung diteteskan dalam *foam* sesuai dengan konsentrasi yang ditetapkan. Kemudian dikeringkan dalam suhu 45°C menggunakan oven selama 1x 24 jam.

4.7.5 Uji Kontaminan Sediaan

Foam dressing yang akan diuji sterilitasnya disiapkan. Kemudian jarum ose dipanaskan hingga memijar di atas Bunsen. Kemudian ambil 1 ose digoreskan secara zig-zag pada permukaan media agar MHA (*Mueller Hinton Agar*). Tiap petri kemudian diberi label dan diinkubasi terbalik dalam inkubator selama 24 jam.

4.7.6 Pembuatan Tikus Model Diabetes

Tikus Wistar diinduksi diabetes melitus dengan cara dipuasakan selama 12 jam, kemudian injeksi *Streptozotocin* (STZ) rute *intraperitoneal single dose* 45mg/kg BB dalam pelarut *buffer* sitrat 0,1 M pH 4,5. Setelah itu, untuk menghindari kematian akibat hipoglikemia maka diberikan larutan glukosa 5% selama 24 jam. Setelah 7 hari injeksi STZ, kadar gula darah diukur melalui vena ekor menggunakan gukotest. Jika kadar gula darah puasa lebih dari 200 mg/dL maka tikus mengalami diabetes (Saputra dkk, 2018). Setelah tikus dipastikan diabetes, tikus dianestesi menggunakan *ketamine intraperitoneal* 25 mg/kg BB. Bulu tikus pada daerah punggung dicukur. Desinfeksi dengan alkohol 70%. Kulit punggung tikus dibuat luka eksisi 1,5 x 1,5 cm menggunakan pisau bedah (Murthy *et al*, 2013).

4.7.7 Pembuatan Ulkus pada Tikus Model Diabetes

Pembuatan ulkus pada tikus Wistar (Murthy *et al*, 2013) :

1. Hewan coba dianestesi dengan *Ketamine hydrochloride* 25 mg/kg BB rute *intraperitoneal*.
2. Hewan coba ditunggu selama 5 menit hingga hilang kesadaran.
3. Bulu hewan coba dicukur pada bagian punggung dengan menggunakan *mesh* ukuran 5 x 3 cm.

4. Pada bagian punggung kulit, ditandai 1,5 x 1,5 cm.
5. Bagian yang dicukur didesinfeksi menggunakan alkohol 70%.
6. Bagian kulit dicubit, kemudian dilakukan eksisi ke dalam hingga *hypodermis*.
7. Kemudian dilakukan perawatan ulkus.

4.7.8 Perawatan Ulkus Diabetes

Perawatan ulkus diabetes dilakukan 1 kali dalam 3 hari selama 14 hari. Teknik perawatan secara topikal menggunakan teknik steril dengan perawatan luka tertutup menggunakan *foam* yang ditempelkan diganti 1 kali dalam 3 hari selama 14 hari untuk mencegah terjadinya infeksi.

Ulkus pada semua kelompok dibersihkan dengan menggunakan normal saline, kemudian dilakukan perawatan sebagai berikut.

1. Kelompok kontrol positif dan kontrol negatif diberi perlakuan *foam dressing*.
2. Kelompok P1 diberi perlakuan *foam dressing* yang mengandung 0,2 % ekstrak daun bakung putih.
3. Kelompok P2 diberi perlakuan *foam dressing* yang mengandung 2 % ekstrak daun bakung putih.
4. Kelompok P3 diberi perlakuan *foam dressing* yang mengandung 4 % ekstrak daun bakung putih.

Prosedur perawatan ulkus :

1. Tangan dicuci hingga bersih, kemudian menggunakan masker dan sarung tangan.
2. Disiapkan perlak yang ditempatkan untuk mengalasi hewan coba.
3. Posisikan tikus sehingga mudah dilakukan tindakan.

4. Ulkus dibersihkan dengan cara mengirigasi menggunakan *normal saline*, kemudian dikeringkan menggunakan kasa steril.
5. Kemudian dilakukan perawatan sesuai masing-masing kelompok.
6. Perekat ©*Hipafix* ditempelkan dan dibalut dengan kasa gulung untuk mempertahankan balutan primer.

4.7.9 Prosedur Pemeriksaan

4.7.9.1 Eksisi Pengambilan Jaringan

1. Hewan coba diinjeksi menggunakan *ketamine* 25/kg/ BB kemudian dilakukan dislokasi leher.
2. Setelah hewan coba dipastikan mati, dicukur bulu hewan coba pada daerah punggung dan didesinfeksi dengan alkohol 70%.
3. Tiap jaringan yang dieksisi menggunakan pisau bedah mencapai batas lapisan otot.
4. Tiap jaringan yang dieksisi disimpan dalam botol yang berisi formalin untuk pengawetan.
5. Sampel dibawa ke laboratorium patologi anatomi untuk dilakukan pewarnaan.

4.7.9.2 Pembuatan Preparat dan Pemeriksaan Histopatologi Kulit

Prosedur pembuatan preparat histopatologi (Hestianah dkk, 2012) :

1. Fiksasi

Jaringan luka yang dieksisi kemudian dimasukkan ke dalam wadah yang berisi larutan formalin *buffer* (larutan formalin 10% dalam *Phosphat Buffer Saline* pH 7,0) selama 18-24 jam. Kemudian jaringan dimasukkan ke wadah yang berisi larutan *aquadest* selama 1 jam untuk menghilangkan larutan saat fiksasi.

2. Dehidrasi

Potongan jaringan eksisi hewan coba dimasukkan dalam alkohol dengan konsentrasi bertingkat (etanol 70%, etanol 80%, etanol 90%,) masing-masing selama 2 jam agar jaringan menjadi jernih dan transparan, kemudian dimasukkan dalam larutan *alcohol-xylool* selama 1 jam dan larutan *xylool* murni selama 2 x 2 jam.

3. Impregnasi

Jaringan dimasukkan ke parafin cair (2 jam).

4. *Embedding*

Jaringan setelah diimpregnasi kemudian ditanam dalam parafin padat yang mempunyai titik lebur 56-58 °C hingga ditunggu memadat. Kemudian jaringan yang berada di dalam parafin dipotong secara vertikal 4 mikron menggunakan mikrotom. Potongan tersebut kemudian ditempelkan pada kaca obyek yang telah diolesi dengan pollisin sebagai perekat. Jaringan pada kaca obyek dipanaskan dalam inkubator suhu 56-58°C sampai parafin mencair.

5. Pewarnaan dengan *Hematoxylin Eosin (HE)*

Pada tahap *staining*, *object glass* dimasukkan pada *xylool* selama 15 menit x 3, alkohol 96% selama 15 menit x 3, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 15 menit, setelah itu dimasukkan ke pewarna *Hematoxlyn* selama 15 menit dan dicuci dengan air mengalir selama 15 menit. *Object glass* dimasukkan pada *Lithium carbonat* selama 20 detik dan dicuci dengan air mengalir selama 15 menit. Selanjutnya *object glass* dimasukkan pada pewarnaan *Eosin* selama 15 menit, alkohol 96% selama 15 menit x 3 dan *xylool* selama 15 menit x 3 dan *xylool* selama 15 menit x 3. Kemudian preparat ditutup dengan menggunakan *deck glass* + *Entellan*.

Pembuatan preparat histopatologi kulit ini dilakukan dengan metode parafin. Fiksasi dilakukan dengan merendam jaringan kulit tikus dalam formalin 10% selama sehari semalam (24 jam). Jaringan dimasukkan dalam alkohol 70% selama 1 jam, alkohol 80% selama 1 jam, dan alkohol 99%. Selanjutnya 3-5 mm irisan jaringan ditanam dalam parafin, dan diwarnai dengan *hematoxylin-eosin*. Preparat jaringan kulit diamati dengan mikroskop cahaya secara *blind* untuk mengetahui jumlah fibroblas. Perhitungan fibroblas dengan *ScanDot* dan dianalisa dengan menggunakan software *OlyVIA*.

Fibroblas pada lapisan dermis diamati menggunakan fotomikroskop *OLYMPUS* seri *XC10* yang dilengkapi dengan software *OlyVia* (*Viewer for Imaging Application*) perbesaran 400x. Setiap satu slide preparat diambil 5 lapang pandang kemudian dirata-rata.

4.7.9.3 Pengukuran Luas Penutupan Area Luka

Ulkus diabetes didokumentasikan dengan *digital camera* 16 Mp. Luas luka yang tidak sembuh setelah perawatan luka selama 14 hari diukur menggunakan program *AutoCAD 2010*. Luas penutupan area luka dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{persentase luas area luka} = \left[\frac{(\text{luas luka awal} - \text{luas luka yang tidak sembuh})}{\text{Luas luka awal}} \right] \times 100\%$$

(Lee *et al.*, 2004).

4.7.10 Cara Pengumpulan Data

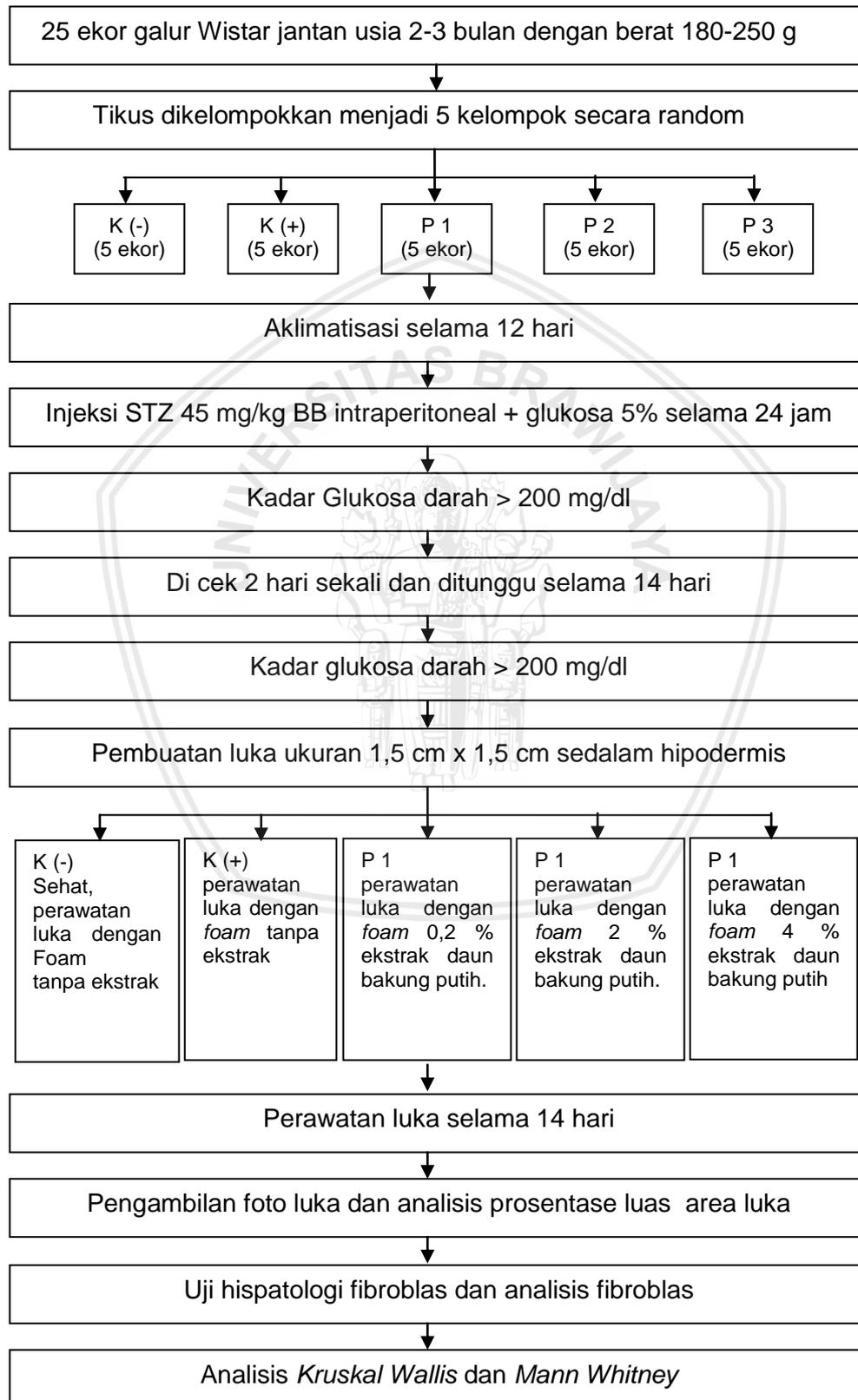
Setelah diamati, jaringan dibandingkan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

4.8 Analisis Data

Uji dilakukan secara statistik terhadap hasil perhitungan histopatologi kulit, diameter luka, morfologi kulit kelompok kontrol dan perlakuan. Langkah-langkah uji hipotesis komparatif dan korelatif sebagai berikut: uji *Kruskal Wallis* dan uji *Mann Whitney* dengan tingkat signifikansi 0,05 ($p < 0,05$) dan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

Analisa *Kruskal Wallis* menggunakan program *SPSS 21 for windows*. Uji *Kruskal Wallis* dengan tingkat signifikansi $p < 0,05$ dengan prosentase kepercayaan 95%. Kemudian dilakukan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui adanya perbedaan signifikansi pada masing-masing kelompok. Uji *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney*, p (value) bermakna apabila $< 0,05$ dan tidak bermakna jika p (nilai) $> 0,05$. Kemudian dilakukan uji korelasi *Pearson* untuk mengetahui hubungan antara ekstrak daun bakung putih dengan peningkatan jumlah fibroblas. Pada uji *Pearson*, jika 0 artinya tidak ada korelasi, jika 1 maka ada korelasi, p (value) bermakna apabila $< 0,05$ dan tidak bermakna apabila $p > 0,05$ (Dahlan, 2009).

4.8.1 Alur Penelitian



BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

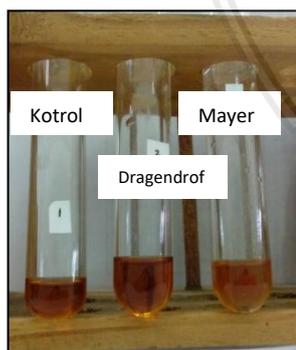
5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Hasil Ekstraksi Daun Bakung Putih (*Crinum asiaticum L.*)

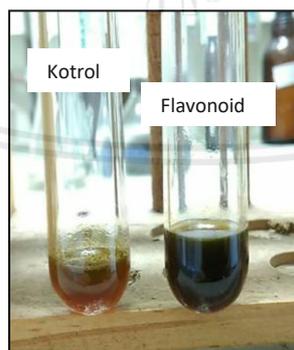
Tahap ekstraksi daun bakung putih dilakukan beberapa tahap. Pertama proses pengeringan yang dilakukan langsung di bawah sinar matahari selama 7 hari kemudian dibuat serbuk. Selanjutnya dilakukan maserasi dengan merendam 900 gram serbuk daun bakung putih pada etanol 70% volume 1000 ml selama 3 hari. Kemudian dilakukan tahap evaporasi sehingga dihasilkan 110 mL ekstrak cair daun bakung putih. Selanjutnya ekstrak ini disimpan pada kulkas suhu 10° C.

5.1.2 Uji Kandungan Ekstrak Daun Bakung Putih (*Crinum asiaticum L.*)

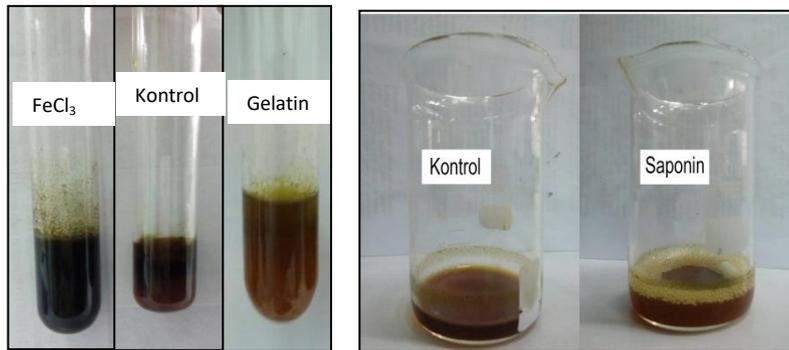
Skrining fitokimia (**Gambar 5.1**) pada penelitian ini dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan pereaksi fitokimia. Berikut adalah hasil dari skrining fitokimia ekstrak daun bakung putih (**Tabel 5.1**).



(a)



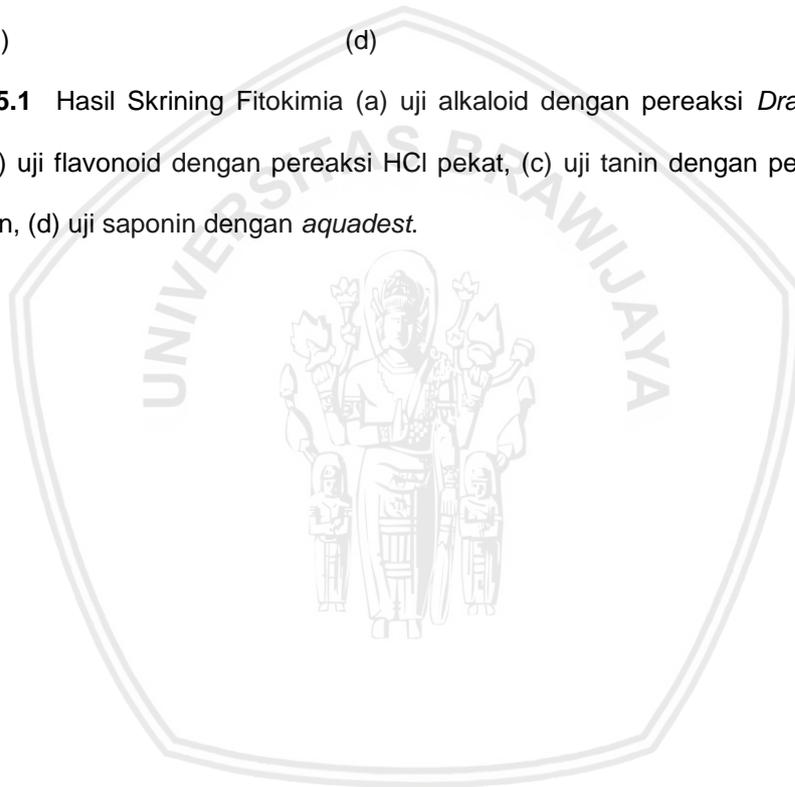
(b)



(c)

(d)

Gambar 5.1 Hasil Skrining Fitokimia (a) uji alkaloid dengan pereaksi *Dragendrof* dan *Mayer*, (b) uji flavonoid dengan pereaksi HCl pekat, (c) uji tanin dengan pereaksi FeCl₃ dan gelatin, (d) uji saponin dengan *aquadest*.

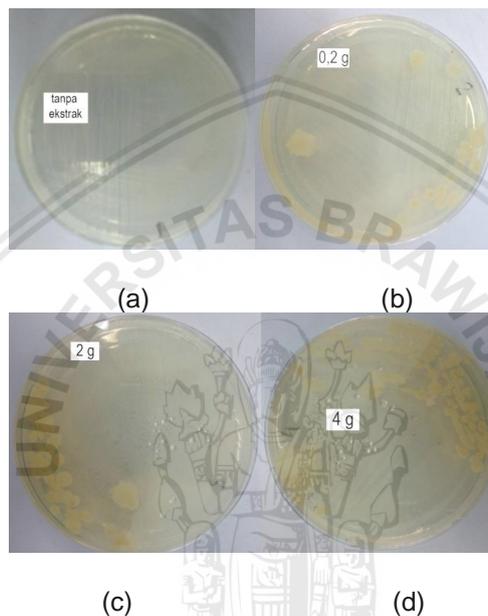


Tabel 5.1 Hasil Skrining Fitokimia

Senyawa	Pereaksi	Tanda Positif	Hasil Pengamatan	Kesimpulan
Alkaloid	<i>Dragendorf</i>	Ada endapan merah/ coklat	ada endapan merah	Positif
Flavonoid	<i>Mayer</i> HCl pekat	Ada endapan putih/kuning Berubah warna menjadi merah	Ada endapan putih Warna hitam kemerahan	Positif
Tanin	FeCl ₃ 5%	Terbentuk warna hijau gelap/biru	Terbentuk warna hijau gelap	Positif
Saponin	Gelatin Aquades	Tidak ada endapan Terbentuk busa stabil (busa setinggi 1 cm selama 10 menit).	Tidak ada endapan Terbentuk busa stabil	Negatif Positif

5.1.3 Uji Kontaminasi Sediaan

Uji kontaminasi pada sediaan *foam dressing* dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan media *MHA (Muller Hinton Agar)*. Berikut merupakan hasil dari uji kontaminasi sediaan *foam dressing*.



Gambar 5.2 Hasil Uji Kontaminasi (a) *Foam dressing* tanpa ekstrak, (b) *Foam dressing* dengan ekstrak 0,2 %, (c) *Foam dressing* dengan ekstrak 2 %, (d) *Foam dressing* dengan ekstrak 4 %.

Berdasarkan hasil uji kontaminasi (**Gambar 5.2**) yang dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, *foam dressing* tanpa ekstrak tidak ada kontaminasi bakteri, sedangkan *foam dressing* yang mengandung ekstrak 0,2 %, 2 %; dan 4 % ada kontaminasi bakteri.

5.1.4 Hasil Induksi dengan Injeksi Streptozotocin (STZ)

Sebelum diinjeksi STZ dipastikan berat badan tikus \pm 200 gram. Kemudian hewan coba dipuasakan selama 24 jam, 7 hari kemudian dilakukan pengukuran kadar glukosa darah. Injeksi STZ dosis tunggal 45 mg/kg BB

dilartukan dengan 0,1 M sitrat pH 4,5. Kemudian STZ diinjeksikan secara intraperitoneal. Setelah itu tikus diberikan minum larutan glukosa 5% selama 24 jam untuk mencegah terjadinya hipoglikemia. Setelah 7 hari injeksi, kadar gula darah dicek melalui vena dibagian ekor dengan menggunakan *glucotest*. Kadar gula darah lebih dari 200 mg/kg BB dapat diartikan bahwa hewan coba menderita diabetes. Hewan coba yang mengalami diabetes juga dapat terlihat dari tanda-tanda diabetes yang meliputi polifagia (banyak makan) yang dapat diamati dengan penimbangan sisa makanan, polidipsia (banyak minum).

Tabel 5.2 Rerata Berat Badan Tikus setelah aklimatisasi

Kelompok	Berat Badan Mean \pm SD (Gram)
Kontrol negative	197,4 \pm 10,164
Kontrol positif	210,8 \pm 4,087
Perlakuan 1	226,2 \pm 2,864
Perlakuan 2	216,2 \pm 22,084
Perlakuan 3	220,4 \pm 14,363

Keterangan: Data table tersebut merupakan hasil rata-rata berat badan subyek penelitian.

Tabel 5.3 Rerata Kadar Gula Darah Tikus

Kelompok	Kadar Gula Darah Mean \pm SD	
	(mg/dL)	
	Sebelum injeksi	Sesudah injeksi
Kontrol negative	69 \pm 7,54	79,2 \pm 4,55
Kontrol positif	73 \pm 8	466,6 \pm 67,084
Perlakuan 1	77 \pm 6,964	412,8 \pm 137,1
Perlakuan 2	66,4 \pm 13,631	423,8 \pm 50,42
Perlakuan 3	82,2 \pm 7,95	385,4 \pm 59,923

Keterangan: Data tabel tersebut merupakan hasil rerata cek kadar gula darah subyek penelitian sebelum dan sesudah injeksi STZ.

Tabel 5.4 Rerata Jumlah Sisa Makanan

Kelompok	Sisa makanan Mean \pm SD (gram)	
	Sebelum injeksi	Sesudah injeksi
Kontrol negative	16,8 \pm 5,215	18 \pm 4,472
Kontrol positif	19 \pm 5,477	10,6 \pm 9,99
Perlakuan 1	16,4 \pm 4,336	3,8 \pm 4,324
Perlakuan 2	20 \pm 5,339	6,8 \pm 9,23
Perlakuan 3	20,2 \pm 3,701	6,2 \pm 10,257

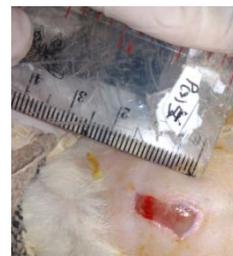
Keterangan: Data tabel tersebut merupakan hasil rerata jumlah sisa makanan subyek penelitian sebelum dan sesudah injeksi STZ.

5.1.5 Data Kualitatif

Tabel 5.5 Hasil perawatan luka

Kelompok	Deskripsi	Gambar
Kontrol negatif	Luka tidak tertutup, luka warna merah, tidak ada nanah, , tidak ada keropeng	
Kontrol positif	Luka tidak tertutup, luka warna merah, tidak ada nanah, ada sedikit keropeng	
Perlakuan 1	Luka tertutup, warna pucat , tidak ada nanah, tidak ada keropeng	
Perlakuan 2	Luka tidak tertutup, berwarna merah gelap, tidak ada nanah, ada keropeng	

Perlakuan 3 Luka tidak tertutup, berwarna merah pucat, tidak ada nanah, tidak ada keropeng



5.1.6 Prosentase Penutupan Luka

Pengamatan ukuran luka dilakukan pada hari ke 1 sampai ke 14. Pada hari ke 14 dilakukan perhitungan prosentase penutupan luka .

Tabel 5.6 Rerata Prosentase Penutupan Luka

Kelompok	N	Prosentase Penutupan Luka (%) (Mean \pm SD)
Kontrol negatif	5	88,8 \pm 6,53
Kontrol positif	5	86,4 \pm 10,55
Perlakuan 1	5	95,6 \pm 5,68
Perlakuan 2	5	88,6 \pm 8,08
Perlakuan 3	5	61,8 \pm 20,27

Keterangan: Data tabel tersebut merupakan hasil prosentase penutupan luka subyek penelitian pada hari ke 14.

5.1.7 Analisa Data Kontraksi Luka

Analisa yang dilakukan pertama pada penelitian ini yaitu uji normalitas untuk mengetahui data penelitian yang digunakan mempunyai persebaran yang normal. Uji normalitas yang digunakan yaitu uji *Shapiro-Wilk* terhadap prosentase penutupan luka yang didapatkan dari $p\text{-value} > \alpha$ (0,05) menunjukkan bahwa data berdistribusi normal. Analisa selanjutnya dilakukan uji homogenitas yang menggunakan uji *Levine* terhadap prosentase penutupan luka yang dapat diketahui dari nilai $p\text{-value} > \alpha$ (0,05) yang menunjukkan bahwa data penelitian

tidak memiliki keseragaman yang homogen. Kemudian dilakukan uji *Kruskal Wallis*

Tabel 5.7 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas

Variabel	Kelompok	Uji Normalitas	Uji Homogenitas
		Data	
	Kontrol negatif	0,910	
	Kontrol positif	0,398	
Kontraksi Luka	Perlakuan 1	0,110	0,047
	Perlakuan 2	0,279	
	Perlakuan 3	0,539	

Keterangan : Tabel tersebut menunjukkan bahwa persebaran data normal namun tidak homogen sehingga tidak memenuhi syarat dilakukan uji *Oneway ANOVA*.

5.1.8 Analisis Kruskal Wallis

Penelitian ini menggunakan analisis non parametrik *Kruskal Wallis* untuk mengetahui pengaruh yang signifikan pada kelompok kontrol negatif, positif, perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3 terhadap prosentase penutupan luka pada luka diabetes hewan coba.

Berdasarkan hasil uji statistika *Kruskal Wallis* didapatkan nilai $F_{6,009}$ Asymp.Sig. (0,011) < α (0,05) yang artinya ada perbedaan yang bermakna terhadap prosentase penutupan luka kelompok kontrol positif, negatif, perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3.

5.1.9 Analisa Mann Whitney

Uji statistika *Mann Whitney* dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan prosentase penutupan luka pada setiap kelompok. Berdasarkan hasil table 5.9 menunjukkan nilai probabilitas kelompok kontrol negatif, positif,

perlakuan 1, dan perlakuan 2 Sig $\alpha > 0,05$ yang berarti bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan terhadap pengaruh prosentase penutupan luka.

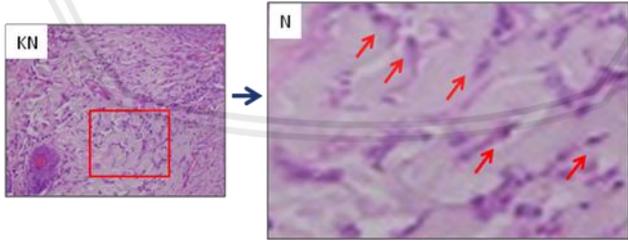
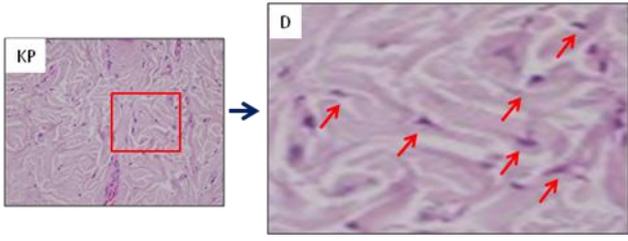
Tabel 5.8 Hasil Uji *Mann Whitney* pada Prosentase Penutupan Luka Asymp.Sig ($\alpha < 0,05$)

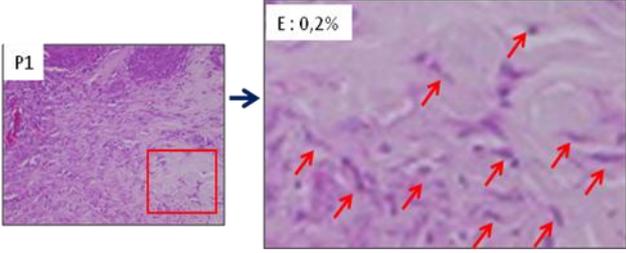
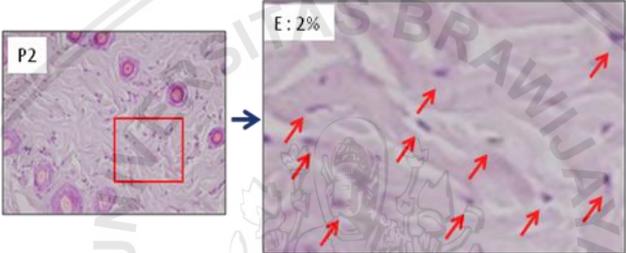
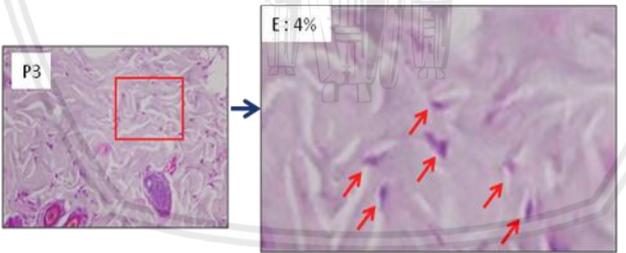
Kelompok	K+	K-	P1	P2	P3
Kontrol negative	0,834	-	-	-	-
Kontrol positif	-	-	-	-	-
Perlakuan 1	0,094	0,059	-	-	-
Perlakuan 2	0,753	0,834	0,093	-	-
Perlakuan 3	0,036*	0,016*	0,009*	0,016*	-

Keterangan : (*) tanda signifikansi

5.1.10 Jumlah Fibroblas

Tabel 5.9 Pengamatan Fibroblas Perbesaran 400 X

No	Hasil Pengamatan	Deskripsi
1.	Kontrol negatif perawatan luka menggunakan <i>foam</i> tanpa ekstrak. 	Fibroblas tersebar merata, tampak inti sel dan sitoplasma fibroblas.
2.	Kontrol positif perawatan luka menggunakan <i>foam</i> tanpa ekstrak. 	Fibroblas tersebar tidak merata, tampak inti sel fibroblas, tidak tampak sitoplasma fibroblas.

3.	Perlakuan 1 perawatan luka menggunakan <i>foam</i> dengan ekstrak 0,2%. 	Fibroblas tersebar merata, tampak inti sel dan sitoplasma fibroblas.
4.	Perlakuan 2 perawatan luka menggunakan <i>foam</i> dengan ekstrak 2%. 	Fibroblas tersebar tidak merata, tampak inti sel fibroblas, tidak tampak sitoplasma fibroblas.
5.	Perlakuan 3 perawatan luka menggunakan <i>foam</i> dengan ekstrak 4%. 	Fibroblas tersebar tidak merata, tampak inti sel fibroblas, tidak tampak sitoplasma fibroblas.

Keterangan : inti sel berwarna ungu gelap, sitoplasma sel berwarna ungu terang yang mengelilingi inti sel

Pengamatan fibroblas tersebut dilakukan setelah pembuatan preparat yang 2 minggu kemudian dilakukan pengamatan dari tiap kelompok. Diharapkan bahwa kelompok kontrol negatif memiliki penampakan yang mirip dengan kelompok perlakuan 1 perawatan luka menggunakan *foam* dengan ekstrak daun bakung 0,2%. Sedangkan kelompok positif, perlakuan 2 perawatan luka menggunakan *foam* dengan ekstrak daun bakung 2%, dan perlakuan 3

perawatan luka menggunakan *foam* dengan ekstrak daun bakung 4% memiliki penampakan yang sama.

Pengamatan fibroblas selanjutnya dilakukan setelah pembuatan preparat 9 bulan kemudian dilakukan pengamatan pada preparat kelompok kontrol negatif. Dihasilkan bahwa preparat tidak terbaca. **Gambar 5.4** menunjukkan bahwa preparat yang tidak terbaca sehingga tidak dapat dilakukan pengamatan fibroblas.



Gambar 5.3 Penampakan Fibroblas Tidak Terbaca

BAB 6

PEMBAHASAN

5.1 Kondisi Diabetes pada Sampel Penelitian

Sampel hewan coba yang sudah memenuhi syarat penelitian, dilakukan induksi *streptozotocin* (STZ) dosis 45 mg/kg BB secara *intraperitoneal*. Mekanisme kerja *streptozotocin* (STZ) yaitu sebagai respon dari STZ, Th-1 *cytokines* dan sel-sel imun lainnya menghasilkan ROS yang kemudian dapat mengaktifkan NF- κ B sehingga menyebabkan aktivasi sitokin-sitokin pro inflamasi. Hal tersebut menyebabkan respon inflamasi lokal diperkuat. Apabila aktivitas anti inflamasi berkurang maka terjadi kerusakan sel β pankreas. sel β pankreas merupakan sel yang memproduksi insulin. Apabila insulin berkurang maka gula darah meningkat (Schulze-Osthoff K *et al*, 1995; Lgssiar A *et al*, 2004).

Menurut Putra dkk (2018) tikus yang mengalami diabetes memiliki kadar gula darah > 200 mg/ dL. Hari ke 7 setelah dilakukan induksi STZ, dilakukan cek kadar gula darah. Rata-rata kadar gula darah hewan coba yang menderita diabetes dari yang tertinggi yaitu kelompok kontrol positif sebesar $466,6 \pm 67,084$ mg/ dL, kelompok perlakuan 2 sebesar $423,8 \pm 50,42$ mg/ dL, kelompok perlakuan 1 sebesar $412,8 \pm 137,1$ mg/ dL, dan kelompok perlakuan 3 sebesar $385,4 \pm 59,923$ mg/ dL. Berdasarkan penelitian Nugroho (2015), kelompok tikus wistar jantan yang telah diinduksi STZ, 3 hari kemudian diamati gula darah dengan hasil > 200 mg/dL disertai dengan peningkatan asupan makanan setelah diinduksi STZ. Selain itu, untuk memastikan hewan coba menderita diabetes, maka diamati tanda diabetes yang meliputi poliuria dan polifagia. Kemudian untuk tanda polifagia diketahui dari penimbangan sisa makan hewan coba sehari

yang dilakukan pengamatan setiap 3 hari sekali. Hewan coba dengan sisa makanan sedikit merupakan tanda-tanda polifagia. Kondisi polifagia yaitu keadaan yang meningkatkan asupan makanan pada keadaan diabetes. Hal tersebut dikarenakan kegagalan metabolisme glukosa, sehingga kadarnya tinggi didalam darah dan terhambat diolah menjadi energi. Berat makanan untuk hewan coba yaitu 30 gram. Rerata jumlah sisa makanan setelah injeksi STZ dari yang terendah yaitu kelompok perlakuan 1 sebesar $3,8 \pm 4,324$ gram, perlakuan 3 sebesar $6,2 \pm 10,257$ gram, perlakuan 2 sebesar $6,8 \pm 9,23$ gram, kontrol positif sebesar $10,6 \pm 9,99$ gram. Sedangkan rata-rata jumlah sisa makanan sebelum injeksi STZ dari yang terendah yaitu kelompok perlakuan 1 sebesar $16,4 \pm 4,336$ gram, kontrol positif sebesar $19 \pm 5,477$ gram, perlakuan 3 sebesar $20,2 \pm 3,701$ gram, dan perlakuan 2 sebesar $20 \pm 5,339$ gram. Menurut Soegondo dkk (2008) gejala-gejala diabetes mellitus meliputi frekuensi buang air kecil yang meningkat, rasa haus berlebihan, rasa lapar berlebihan, merasa lelah dan lemah hampir disepanjang waktu, menurunnya berat badan, luka yang sulit sembuh, rasa kesemutan pada kaki, penglihatan kabur, kulit yang kering atau gatal. Berdasarkan data tersebut dapat dipastikan hewan coba menderita diabetes melitus.

5.2 Pengaruh Pemberian *Foam Dressing* tanpa Ekstrak terhadap

Peningkatan Prosentase Penutupan Luka Diabetes

Berdasarkan hasil perhitungan prosentase penutupan luka, kelompok kontrol negatif sebesar $88,8 \pm 6,53$ %, sedangkan kelompok kontrol positif yaitu sebesar $86,4 \pm 10,55$ %. Hasil analisis uji statistik *Mann Whitney* menjelaskan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara kelompok kontrol positif dan negatif terhadap prosentase penutupan luka. Meskipun tidak signifikan, berdasarkan

hasil perhitungan prosentase, kelompok kontrol negatif memiliki prosentase penutupan luka yang lebih besar dari pada kelompok kontrol positif. Menurut Margolis *et al.* (1999), luka diabetes termasuk ke dalam kategori luka kronis yang memiliki waktu penyembuhan lama dikarenakan respon inflamasi yang memanjang. Menurut (Tellechea *et al.*, 2010) keadaan hiperglikemia pada diabetes melitus dapat menyebabkan fase inflamasi lambat. Hal tersebut dikarenakan terjadi peningkatan produksi glycan end-product (AGEs) yang menginduksi produksi molekul inflamasi yaitu TNF alfa dan IL-1. Molekul tersebut yang menyebabkan perpanjangan respon inflamasi sehingga terjadi kondisi inflamasi kronik. Luka kronik pada diabetes melitus mengalami penurunan ekspresi protein TGF- β 1 yang berfungsi sebagai regulasi keseimbangan proliferasi, diferensiasi dan menonaktifkan sel-sel progenitor endotelial dari sumsum tulang.

Hewan coba pada kelompok negatif tidak diinduksi STZ, sedangkan pada kelompok kontrol positif diinduksi STZ. Kedua kelompok tersebut dilakukan perawatan menggunakan *foam dressing* tanpa ekstrak daun bakung putih.

Foam dressing berbahan dasar busa *Polyurethane* (PU) umumnya disintesis oleh reaksi polioliol dengan isosianat. Manfaat penggunaan *foam dressing* yaitu selain sebagai bantalan pelindung luka juga dapat menyerap eksudat yang dihasilkan luka serta menjaga hidrasi sehingga dihasilkan kondisi kelembapan yang tepat sehingga meningkatkan epitelisasi dan penyembuhan luka (Namviriyachote *et al.*, 2019).

5.3 Pengaruh Pemberian *Foam Dressing* yang mengandung Ekstrak Daun Bakung Putih terhadap Peningkatan Prosentase Penutupan Luka Diabetes

Berdasarkan perhitungan prosentase penutupan luka diabetes, hasil perhitungan dari yang tertinggi yaitu perlakuan 1 sebesar $95,6 \pm 5,68$ %, perlakuan 2 sebesar $88,6 \pm 8,08$ %, dan perlakuan 3 sebesar $61,8 \pm 20,27$ %. Kelompok perlakuan 1 memiliki prosentasi tertinggi sedangkan prosentase penutupan luka terendah ada pada kelompok perlakuan 3. Hasil dari analisis statistika *Mann Whitney* menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif tidak memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok perlakuan 1, dan perlakuan 2 dengan nilai signifikansi sebesar ($p = 0,094$) perlakuan 1 dan ($p = 0,753$) perlakuan 2. Sedangkan kelompok perlakuan 3 memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kontrol positif yaitu dengan nilai signifikansi sebesar ($p = 0,036$) perlakuan 3. Kelompok kontrol negatif tidak memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok perlakuan 1 dan perlakuan 2 yaitu sebesar ($p = 0,059$) perlakuan 1 dan ($p = 0,834$) perlakuan 2. Sedangkan untuk perlakuan 3 memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif yaitu sebesar ($p = 0,016$).

Berdasarkan hasil uji kontaminan yang dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya semakin tinggi tingkat konsentrasi ekstrak daun bakung putih pada *foam dressing* menyebabkan kontaminasi bakteri yang semakin tinggi pula. Hasil uji kontaminan *foam dressing* yang mengandung 0,2 % ekstrak daun bakung putih yaitu tampak bercak putih yang menyebar pada $\frac{1}{4}$ sisi media MHA. Hasil uji kontaminan *foam dressing* yang mengandung 2 % ekstrak daun bakung putih tampak bercak putih

kekuning-kuningan yang menunjukkan bakteri menumpuk pada $\frac{1}{4}$ media MHA. Sedangkan hasil uji kontaminan *foam dressing* yang mengandung 4% ekstrak daun bakung putih tampak bercak kuning pada $\frac{1}{2}$ media MHA. Hal tersebut dapat diinterpretasikan bahwa perlakuan 1 ada sedikit bakteri, perlakuan 2 ada banyak bakteri, dan perlakuan 3 terdapat sangat banyak bakteri. Menurut Djaafar dan Rahayu (2007) kadar air dan kelembapan berpengaruh terhadap meningkatnya pertumbuhan bakteri. Pada *foam dressing* tersebut semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun bakung maka semakin besar jumlah kadar airnya. Dalam pembuatan sediaan *foam dressing* yang tidak steril juga memicu pertumbuhan bakteri dikarenakan *foam dressing* dioven pada oven yang terbuka. Menurut Prescott (2002) suhu 45 – 65 °C merupakan suhu optimal untuk pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan hasil uji skrining fitokimia yang telah dilakukan, daun bakung putih mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan *polyphenol*. Hasil skrining fitokimia alkaloid dengan pereaksi *mayer* dihasilkan ada endapan putih dan pereaksi *dragendorf* dihasilkan ada endapan merah. Pada skrining fitokimia tanin menggunakan FeCl_3 5% dihasilkan warna hijau gelap dan ketika ditambahkan gelatin tidak terbentuk endapan yang mengindikasikan adanya *polyphenol*. Pada skrining fitokimia saponin menggunakan pereaksi aquades dihasilkan sampel terbentuk busa stabil. Kemudian pada uji flavonoid menggunakan pereaksi HCl pekat dihasilkan bahwa larutan berwarna hitam kemerah-merahan. Dari uji tersebut, sampel ekstrak daun bakung putih mengandung senyawa alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid.

Alkaloid merupakan senyawa antiinflamasi. Menurut Rachmania dkk (2018) daun bakung putih mengandung senyawa alkaloid *lycobetain*, hippadin,

dan pratorimin. Mekanisme kerja *lycobetain* yaitu sebagai inhibitor COX2. Proses inflamasi meningkatkan mediator inflamasi yaitu prostaglandin hasil dari biosintesa asam arakhidonat. Meningkatnya prostaglandin dapat meningkatkan respon inflamasi. Respon inflamasi yang terkedali dapat meningkatkan kecepatan penyembuhan luka. Apabila respon inflamasi berlangsung lama maka dapat menyebabkan kerusakan jaringan yang semakin parah. Penghambatan jalur siklooksigenase bertujuan untuk mengurangi atau menghilangkan gejala inflamasi (Guyton, 1995).

Flavonoid merupakan antioksidan yang berfungsi melindungi tubuh melawan ROS dan meningkatkan fungsi dari antioksidan endogen dalam jaringan granulasi. Antioksidan yang ada di dalam tubuh salah satunya adalah asam askorbat yang diperlukan sebagai bahan sintesis kolagen. Mekanisme kerja dari flavonoid yaitu melindungi dari ROS dengan cara menghambat siklooksigenase dan lipooksigenase, sehingga kadar asam askorbat di dalam tubuh tetap dipertahankan untuk mensintesis kolagen (Nisa' dkk, 2013). Antioksidan pada flavonoid dapat menghambat reaksi oksidatif yang terlalu berlebihan akibat dari proses inflamasi.

Saponin merupakan senyawa yang dapat mensintesis fibronectin dan merubah ekspresi dari reseptor TGF β . Fibronectin akan membantu migrasi fibroblas pada jaringan luka. Setelah bermigrasi, fibroblas-fibroblas tersebut akan diinduksi oleh TGF β untuk berproliferasi menghasilkan kolagen sehingga kolagen matriks ekstraseluler menjadi lebih tebal dan luka cepat sembuh (Kanzaki *et al.*, 1998).

Tanin berfungsi sebagai antibakteri. Mekanisme kerja tanin yaitu senyawa tersebut akan mengganggu sintesa peptidoglikan pada bakteri yang

menyebabkan dinding sel yang terbentuk tidak sempurna sehingga mengakibatkan sel bakteri menjadi lisis dan mati (Mulyarto dan Safera, 2007). Pada uji tanin diperoleh hasil negatif. Tanin akan mengendapkan gelatin terbentuk endapan putih. Penambahan gelatin yang tidak menghasilkan endapan menunjukkan senyawa polifenol (Harbone, 1996). *Polyphenol* memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas.

5.4 Perbedaan Pengaruh Pemberian *Foam Dressing* Tanpa Ekstrak dan *Foam Dressing* yang Mengandung Ekstrak Daun Bakung Putih Terhadap Penutupan Luka Diabetes pada Tikus

Berdasarkan hasil perhitungan prosentase penutupan luka dari 5 kelompok yang telah dilakukan didapatkan hasil dari prosentase yang tertinggi yaitu perlakuan 1 sebesar $95,6 \pm 5,68$ %, perlakuan 2 sebesar $88,6 \pm 8,08$ %, kontrol negatif sebesar $88,8 \pm 6,53$ %, kontrol positif sebesar $86,4 \pm 10,55$ %, dan perlakuan 3 sebesar $61,8 \pm 20,27$ %. Berdasarkan hasil uji Kruskal Wallis didapatkan nilai Asymp.Sig ($p=0,011$) yang artinya ada perbedaan yang bermakna terhadap prosentase penutupan luka dari kelima kelompok tersebut.

Pengamatan secara makroskopis, pada hari ke 12 luka dari ke 5 kelompok tidak ada nanah. Kelompok kontrol negatif luka berwarna merah dan tidak ada keropeng. Luka kelompok kontrol positif yaitu tampak bahwa luka berwarna merah dan ada sedikit keropeng. Penampakan luka pada perlakuan 1 yaitu luka tertutup dan tidak ada keropeng. Perlakuan 2 diamati bahwa luka berwarna merah gelap dan ada sedikit keropeng. Pada perlakuan 3 luka masih tampak agak lebar berwarna merah pucat tetapi tidak ada keropeng. Akan tetapi pada pengamatan luka perawatan pertama ditemukan bahwa luka bernanah. Hal tersebut dikarenakan perawatan luka yang tidak steril saat pemasangan balutan.

Kemudian pada perawatan luka ke 2 juga masih ditemukan luka yang bernanah. Hal tersebut diduga karena beberapa balutan pada tikus lepas sehingga luka terkontaminasi oleh lingkungan luar. Penampakan luka yang paling baik ada pada perlakuan 1.

5.5 Perhitungan Jumlah Fibroblas

Fibroblas merupakan sel yang paling berlimpah di jaringan ikat yang berfungsi pada sekresi bahan profilaksis-matriks ekstrarenal untuk menjaga integritas struktural jaringan ikat. Fibroblas mensintesis kolagen, elastin, glikosaminoglikan, proteoglikan, dan glikoprotein multiadesif (Nilforushzadeh, 2017).

Prinsip metode pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) yaitu sifat asam pada inti sel mampu menarik sifat basa *hematoxylin*, sehingga inti sel akan berwarna biru/ ungu, sedangkan sifat basa pada sitoplasma dapat menarik sifat asam pada eosin sehingga sitoplasma berwarna merah. Tahap pewarnaan ini menghasilkan zat warna yang transparan sehingga dapat mengamati bentuk dari sel (NSH, 1973).

Hasil pewarnaan *Hematoxylin Eosin* setelah preparat dibuat 2 minggu kemudian tampak sel fibroblas secara jelas pada masing-masing kelompok. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa penampakan sel fibroblas kelompok kontrol negatif yang tidak diinduksi STZ tampak mirip dengan kelompok perlakuan 1 dengan perawatan luka menggunakan *foam dressing* yang mengandung ekstrak 0,2%. Sedangkan pengamatan setelah preparat dibuat, 9 bulan kemudian dilakukan pengamatan preparat dengan hasil bahwa preparat tidak dapat terbaca dikarenakan pewarnaan *Hematoxylin & Eosin* (HE) terlihat pudar sehingga fibroblast tidak dapat diamati. .

Menurut *Guidelines for Hematoxylin & Eosin staining* (NSH, 1973), pewarnaan hematoxylin yang buruk disebabkan oleh berkurangnya kemampuan hematoxylin karena masa kadaluwarsa pewarna hematoxylin dan akumulasi air serta pH *hematoxylin* yang tidak tepat juga dapat memperburuk hasil pewarnaan HE.

Jika jaringan mengalami inflamasi, maka fibroblas akan segera bermigrasi ke area luka, berproliferasi dan memproduksi matriks kolagen untuk memperbaiki jaringan yang rusak (Khairunnisa dkk., 2018). Fibroblas berperan penting pada fase proliferasi. Makrofag akan menginduksi fibroblas berproliferasi sehingga membentuk matriks ekstraseluler. Fibroblas akan mencerna matriks fibrin kemudian menggantinya dengan glycosaminoglycan (GAG) kemudian digantikan dengan kolagen tipe III yang tersusun atas glisin, hidroksiprolin, air, glukosa, dan galaktosa. Kemudian kolagen III digantikan dengan kolagen I fase maturasi (Hariani, 2017).

Proses fibrosis atau fibroplasia dan pembentukan jaringan parut merupakan proses perbaikan yang melibatkan jaringan ikat yang memiliki empat komponen, yaitu : (a) pembentukan pembuluh darah baru, (b) migrasi dan proliferasi fibroblas, (c) deposisi ECM (*extracellular matrix*), dan (d) maturasi dan organisasi jaringan fibrous (remodeling). Dari keseluruhan proses yang telah disebutkan di atas, fibroblas memiliki peran penting pada proses fibrosis yang melibatkan dua dari keempat komponen di atas yaitu migrasi dan proliferasi fibroblas serta deposisi ECM oleh fibroblast (Albert, 2002).

Pada proses inflamasi terjadi perubahan vaskuler yang mempengaruhi besar, jumlah, dan permeabilitas pembuluh darah dan perubahan seluler yang menyebabkan kemotaksis ke arah jejas setelah proses inflamasi berkurang,

dilanjutkan dengan proses fibrosis tahap awal yaitu migrasi dan proliferasi di daerah jejas. Migrasi dan proliferasi fibroblas terutama dipacu oleh *transforming growth factor- β* (TGF- β), yaitu faktor pertumbuhan yang dihasilkan oleh jaringan granulasi yang terbentuk selama proses inflamasi. Migrasi dan peningkatan proliferasi fibroblas di daerah jejas akan meningkatkan sintesis kolagen dan fibronectin, serta peningkatan deposisi matriks ekstraselular (Lib B *et. al.*, 2004).

Pada tahap selanjutnya terjadi penurunan proliferasi sel endotel dan sel fibroblas, namun fibroblas menjadi lebih progresif dalam mensintesis kolagen dan fibronectin sehingga meningkatkan jumlah matriks ekstraselular yang berkurang selama inflamasi. Selain TGF- β , beberapa faktor pertumbuhan lain yang ikut mengatur proliferasi fibroblas juga membantu menstimulasi sintesis matriks ekstraselular. Pembentukan serabut kolagen pada daerah jejas merupakan hal yang penting untuk meningkatkan kekuatan penyembuhan luka. Sintesis kolagen oleh fibroblas dimulai relatif awal pada proses penyembuhan (hari ke 3-5) dan berlanjut terus sampai beberapa minggu tergantung ukuran luka. Menurut Soder & Saleh (1999), sintesis kolagen oleh fibroblas mencapai puncaknya pada hari ke-5 sampai ke-7. Proses sintesis ini banyak bergantung pada vaskularisasi dan perfusi di daerah lunak, dan mencapai hasil optimal dalam lingkungan yang sedikit asam (Lib B *et. al.*, 2004).

Proses akhir dari penyembuhan luka adalah pembentukan jaringan parut, yaitu jaringan granulasi yang berbentuk spindel, kolagen, fragmen dari jaringan elastik dan berbagai komponen matriks ekstraselular. Saat jaringan mengalami perlukaan, maka fibroblas yang akan segera bermigrasi ke arah luka, berproliferasi dan memproduksi matriks kolagen dalam jumlah besar yang akan membantu mengisolasi dan memperbaiki jaringan yang rusak (Lib B *et. al.*, 2004).

5.6 Keterbatasan Penelitian

Berdasarkan hasil pelaksanaan penelitian, ada beberapa keterbatasan yang mempengaruhi hasil dari penelitian yaitu sebagai berikut.

- a. Daya imunitas hewan coba berbeda-beda sehingga dapat berpengaruh terhadap proses penyembuhan ulkus diabetes.
- b. Penyimpanan preparat sampel yang kurang baik berpengaruh terhadap pewarnaan *Hematoksilin* yang rusak sehingga jumlah fibroblas tidak bisa diamati





BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian mengenai pengaruh efektivitas ekstrak daun bakung *Crinum asiaticum L.* pada *foam dressing* terhadap luas penutupan area ulkus diabetes dan jumlah fibroblas pada model tikus (Strain Wistar) diabetes adalah sebagai berikut.

1. *Foam dressing* yang mengandung ekstrak daun bakung *Crinum asiaticum L.* konsentrasi 0,2 % lebih efektif untuk meningkatkan prosentase penutupan luka dari pada *foam dressing* yang mengandung ekstrak daun bakung *Crinum asiaticum L.* konsentrasi 2% dan 4%.
2. Pada penelitian ini tidak bisa diketahui jumlah fibroblas pada setiap perlakuan dikarenakan perwarnaan HE yang meliputi hemaktosin tidak tampak pada preparat ketika dilakukan pengujian.

7.2 Saran

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan dosis yang tepat.
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa aktif yang terkandung pada daun bakung putih (*Crinum asiaticum L.*) yang berpengaruh terhadap peningkatan prosentase penutupan ulkus diabetes.
3. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan bahan pengawet

pada sediaan *foam dressing* yang mengandung ekstrak daun bakung putih (*Crinum asiaticum L.*).

4. Diperlukan sterilisasi untuk sediaan wound dressing.



DAFTAR PUSTAKA

- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. & Walter, P. Cell junctions, cell adhesion, and the extracellular matrix. In *Molecular biology of the cell*, 2002. pp. 978– 986, 4th edn. New York: Garland Publishing.
- Azifitria, Aziz, S. dan Chairul. Antibacterial Activity of Ethanolic Extract of Leaves and Bulbs of *Crinum asiaticum* L. Against Acne-inducing Bacteria. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 2010, Vol. 21(4), hal. 236–241.
- Diegelman, R.F ., and Evans, M.C. . Wound Healing: An Overview Of Acute, Fibrotic And Delayed Healing. *Frontiers and Bioscience*. Vol. (4), hal. 283–289.
- Djaafar, T.F. dan S. Rahayu. Cemaran mikroba pada produk pertanian, penyakit yang ditimbulkan dan pencegahannya. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, 2007, 26(2): 67–75.
- Firdaus, Rambawan, Sri Anna M, dan Katrin R. Model Tikus Diabetes Yang Diinduksi Streptozotocin- Sukrosa untuk Pendekatan Penelitian Diabetes Melitus Gestational. *Jurnal MKMI*, 2016, Vol.12 (1), hal. 29–34.
- Garna, Harry. Patofisiologi Infeksi Bakteri pada Kulit, *Sari Pediatri*, 2001, Vol. 2(4), hal. 205–209.
- Guo S, DiPietro LA. Factors Affecting Wound Healing. *J Dent Res*. 2010; Vol 89(3):219-29.
- Guyton AC. 1995. *Human physiology and mechanisms of disease*, alih bahasa Andrianto P. EGC Jakarta: h. 53–4, 444.
- Handayani, Luh Titi, U. M. Studi Meta Analisis Perawatan Luka Kaki Diabetes Dengan Modern Dressing, *The Indonesian Journal of Health Science*,

2016, Vol. 6(2), hal. 149–159.

Harborne, J., 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Cetakan kedua. Penerjemah: Padmawinata, K. dan I. Soediro. Bandung: Penerbit ITB.

Hariani, L. 2017. Pola Proses Penyembuhan Luka sekitar melalui analisis ekspresi EGF, VEGF, TGF-beta, kolagen, MMP-1 dan pembuluh kapiler yang diinduksi adiposed derived mesenchymal stem cells pada luka primer. Surabaya: Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Universitas Airlangga.

Hestianah, E.P., Anwar, C., Kuncorojakti, S., Yustinasari, L.R. 2012. *Buku Ajar Histologi Veteriner*. Airlangga University Press (AUP). 63-63

Jeffcoate, W. J. & Harding, K. G.. Diabetic Foot Ulcer. *The Lancet*, 2003, Vol 361: 1545-1551

Kalangi, S. J. R. Histofisiologi Kulit, *Jurnal Biomedik*, 2013, Vol. 5(3), hal. 12–20. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2016.11.019.

Kanzaki, T., Monsaki N., Shina, R., Saito, Y. Role of Transsforming Growth Factor- β Pathway in the Mechanism of Wound Healing by Saponin from Ginseng Radix Rubra. *British Journal of Pharmacology* , 1998, 125 : 255-262

Kemenkes, RI. 2014. *Infodatin Diabetes*, Jakarta : Pusat data dan informasi Kemenkes RI. hal. 1-3.

Kumar, K. K. S. Evaluation of Wound Healing Activity of Leaves of *Crinum asiaticum*, *International Journal of Phytotherapy*, 2011, Vol. 1(1), hal. 16–20.

Lee, P., Chesnoy, S. dan Huang, L.. Electroporatic Delivery of TGF- b 1 Gene Works Synergistically with Electric Therapy to Enhance Diabetic Wound

Healing in db / db Mice, *Journal of Investigative Dermatology*. Elsevier Masson SAS, 2004, Vol. 123(4), hal. 791–798. doi: 10.1111/j.0022-202X.2004.23309.x.

Lgssiar A, Hassan M, Schott-Ohly P, Friesen N, Nicoletti F, Trepicchio WL, *et al.* 2004. Interleukin- 11 prevents diabetes induced with sterptozotocin in mice. *Exp Biol Med*; 229: 425-36.

Li B, Wang JH. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing: force generation and measurement. *J Tissue Viability*,. 2011;20(4):108–120. doi:10.1016/j.jtv.2009.11.004

Margolis DJ, Kantor J, Berlin JA: Healing of diabetic neuropathic foot ulcers receiving standart treatment: a meta analysis. *Diabetic Care*, 1999, Vol. 22: 692-695,

Mescher AL. 2010. *Junqueira's Basic Histology Text & Atlas*. New York: McGraw Hill Medical;

Mulyarto, A. R. dan Safera, W. Optimasi Waktu Ekstraksi Terhadap Kandungan Tanin pada Bubuk Ekstrak Daun Jambu Biji (Psidii Folium) Serta Biaya Produksinya. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 2007, 8(2), hal. 88–94.

Murthy, Gautam, Shalini Goel, Purohit, Sharma, *et al* . Evaluation of In Vivo Wound Healing Activity of Bacopa monniera on Different Wound Model in Rats. *Biomed Research International*, 2013, Vol. 2013: 9

Namviriyachote, N., Lipipun, V. Development of polyurethane foam dressing containing silver and asiaticoside for healing of dermal wound,” *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. Elsevier B.V., 2019, 14(1), hal. 63–77. doi: 10.1016/j.ajps.2018.09.001

Nilforoushzadeh, M. A. *et al.*. Dermal Fibroblast Cells : Biology and Function in

- Skin Regeneration, 2017, Vol. 4(2). doi: 10.5812/jssc.69080.Review.
- Nontji, Werna S. h. Teknik Perawatan Luka Modern dan Konvensional Terhadap Kadar Interleukin 1 dan Interleukin 6 Pada Pasien Diabetik," *Jurnal Ners*, 2015, Vol. 10 (April), hal. 6–11.
- Nisa', M.V., Meilawaty, Z., Astuti, P., 2013. Efek Pemberian Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta*) Terhadap Proses Penyembuhan Luka Gingiva Tikus (*Rattus norvegicus*). *Publikasi FKG Universitas Jember*.
- Nugroho, Fajar A., Riska Mayang S. G., Nurdiana. Kadar NF- κ B Pankreas Tikus Model Type 2 Diabetes Mellitus dengan Pemberian Tepung Susu Sapi, *Indonesia Journal of Human Nutrition*, 2015, Vol. 2, hal. 91-100.
- Oyibo SO, Jude EB, Tarawneh I, *et al.* The Effects of Ulcer Size, Patient's Age, Gender and Type and Duration of Diabetes on The Outcome of Diabetic Foot Ulcers. *Diabet Med*, 2001, Vol 18: 133–38.
- Patel, D. K. *Crinum asiaticum* Linn : A Medicinal Herb as Well as Ornamental Plant in Central India, *International Journal of Environmental Science & Natural Resource*, 2017, Vol. 6(1), hal. 1–7. doi: 10.19080/IJESNR.2017.06.555678.
- Perdanakusuma, David.S. 2007. *Anatomi Fisiologi Kulit dan Penyembuhan Luka*. Universitas Airlangga, Indonesia
- Peşin Süntar I, Koca U, Küpeli Akkol E, Yılmaz D, Alper M. Assessment of Wound Healing Activity of the Aqueous Extracts of *Colutea cilicica* Boiss. & Bal. Fruits and Leaves. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2011, Vol. 2011:758191.
- Pratiwi, D. A, dkk. 2007. *Biologi untuk SMA Kelas XI*, Erlangga, Jakarta
- Prescott, 2002. *Microbiology 1th edition*. Mc Graw-Hill Companies, Inc, California

- Schulze, Klaus, Patrick A. B. Redox Signalling by Transcription Factors NF-kB And AP-1 in Lymphocytes. *Biochemical Pharmacology Journal*, 1995, Vol. 50 (6), hal. 735-741
- Shimizu, Hiroshi. 2005. *Shimizu's Textbook Dermatology*. Hokkaido University Press, Japan
- Sloane, Ethel. 2003. *Anatomi dan Fisiologi untuk Pemula*. EGC, Jakarta
- Smith JB dan Mangkoewidjojo S. 1988. *Tikus Laboratorium (Rattus norvegicus). Dalam: Pemeliharaan, Pembiakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). hal 37-57.
- Soegondo, S& Sukardi K., 2008. *Hidup Secara Mandiri dengan Diabetes Melitus Kencing Manis sakit Gula*. Balai Penerbit FK UI, Jakarta.
- Syaifuddin, M. . Hubungan Panjang Puntung dan Indeks Massa Tubuh dengan Keseimbangan Berjalan pada Pasien Pasca Amputasi Anggota Gerak Bawah, *Politekkes Surakarta Kemenkes RI*, 2016, 12(2), hal. 13–16.
- Uddin, Z. *et al.* Anti-Inflammatory and Antioxidant Activity of Leaf extract of *Crinum asiaticum*, *Journal of Pharmacy Research*, 2012, Vol. 5(12), hal. 5553–5556.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Uji Statistika

1. Uji Normalitas

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil Kontrol positif	.164	5	.200*	.976	5	.910
Kontrol negatif	.232	5	.200*	.898	5	.398
Perlakuan 1	.264	5	.200*	.816	5	.110
Perlakuan 2	.251	5	.200*	.873	5	.279
Perlakuan 3	.239	5	.200*	.921	5	.539

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

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Hasil

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.928	4	20	.047

3. Uji Kruskal Wallis

Kruskal-Wallis Test

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank
Hasil Kontrol positif	5	12.90
Kontrol negatif	5	13.50
Perlakuan 1	5	20.50
Perlakuan 2	5	14.20
Perlakuan 3	5	3.90
Total	25	

Test Statistics^{a,b}

	Hasil
Chi-Square	13.028
df	4
Asymp. Sig.	.011

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

4. Mann Whitney

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil	Kontrol positif	5	5.30	26.50
	Kontrol negatif	5	5.70	28.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	Hasil
Mann-Whitney U	11.500
Wilcoxon W	26.500
Z	-.210
Asymp. Sig. (2-tailed)	.834
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.841 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil	Kontrol positif	5	3.90	19.50
	Perlakuan 1	5	7.10	35.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	Hasil
Mann-Whitney U	4.500
Wilcoxon W	19.500
Z	-1.676
Asymp. Sig. (2-tailed)	.094
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.095 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil	Kontrol positif	5	5.20	26.00
	Perlakuan 2	5	5.80	29.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Hasil
Mann-Whitney U	11.000
Wilcoxon W	26.000
Z	-.314
Asymp. Sig. (2-tailed)	.753
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.841 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil	Kontrol positif	5	7.50	37.50
	Perlakuan 3	5	3.50	17.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	Hasil
Mann-Whitney U	2.500
Wilcoxon W	17.500
Z	-2.095
Asymp. Sig. (2-tailed)	.036
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.032 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok



Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil	Kontrol negatif	5	3.70	18.50
	Perlakuan 1	5	7.30	36.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	Hasil
Mann-Whitney U	3.500
Wilcoxon W	18.500
Z	-1.886
Asymp. Sig. (2-tailed)	.059
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.056 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil	Kontrol negatif	5	5.30	26.50
	Perlakuan 2	5	5.70	28.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	Hasil
Mann-Whitney U	11.500
Wilcoxon W	26.500
Z	-.210
Asymp. Sig. (2-tailed)	.834
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.841 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil	Kontrol negatif	5	7.80	39.00
	Perlakuan 3	5	3.20	16.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Hasil
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-2.402
Asymp. Sig. (2-tailed)	.016
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil	Perlakuan 1	5	7.10	35.50
	Perlakuan 2	5	3.90	19.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	Hasil
Mann-Whitney U	4.500
Wilcoxon W	19.500
Z	-1.681
Asymp. Sig. (2-tailed)	.093
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.095 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil	Perlakuan 1	5	8.00	40.00
	Perlakuan 3	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Hasil
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil	Perlakuan 2	5	7.80	39.00
	Perlakuan 3	5	3.20	16.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Hasil
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-2.410
Asymp. Sig. (2-tailed)	.016
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Lampiran 2 . Perhitungan Luas dan Prosentase Penutupan Luka

Tabel L2.1 Perhitungan Luas Luka

PERHITUNGAN LUAS PENUTUPAN LUKA

H 1

	K+	K -	P1	P2	P3
1	176.72	138.15	171.14	183.51	162.82
2	167.74	259.32	153.22		215.5
3	231.14	132.6	211.6	158.69	202.51
4			246.31	263.6	166.24
5	235.13	176.17	125.37	268.03	166.11
6	121.82	278.67		265.37	
Rata2	186.51	196.98	181.53	227.84	182.64

H2

	K+	K -	P1	P2	P3
1	133.75	58.89	90.05	132.18	115.05
2	117.23	60.87	58.79		203.16
3	220.75	120.45	132.51	163.59	184.08
4			223.22	189.97	192.27
5	135.52	59.78	96.78	205.35	158
6	100.59	227.65		136.13	
Rata2	141.57	105.53	120.27	165.44	170.51

H3

	K+	K -	P1	P2	P3
1	117.46	38.2	45.67	73.07	187.16
2	58.48	73.37	31.33		223.22
3	84.53	54.67	58.89	50.21	83.63
4			152.89	54.87	94.4
5	93.172	80.4	34.99	75.28	96.99
6	57.47	85.03		77.47	
Rata2	82.222	66.334	64.754	64.458	137.08

H4

	K+	K -	P1	P2	P3
1	88.94	35.81	29.46	42.02	91.96
2	2.87	70.37	4.97		172.29
3	45.44	37.97	7.08	39.37	52.45
4			71.96	49.88	91.04
5	38.45	23.65	13.31	82.13	69.117
6	10.88	39.59		25.65	
Rata2	37.316	41.478	25.356	47.81	95.371

H 14

	K+	K -	P1	P2	P3
1	50.26	27.68	1.67	29.55	44
2	1.9	15.07	0.4		151.67
3	40.78	21.54	10.87	33.8	36.4
4			35.59	7.32	52.05
5	34.66	16.54	2.7	8.63	74.21
6	7.29	12.79		37.12	
Rata2	26.978	18.724	10.246	23.284	71.666

Tabel L2.2 Perhitungan Prosentase Penutupan Luka

PERHITUNGAN PROSENTASE PENUTUPAN LUKA

H2 KONTRAKSI LUKA

	K+	K-	P1	P2	P3
1	24%	57%	47%	28%	29%
2	30%	77%	62%		6%
3	4%	9%	37%	-3%	9%
4			9%	28%	-16%
5	42%	66%	23%	23%	5%
6	17%	18%		49%	
Rata2	24%	46%	34%	27%	7%

H3 KONTRAKSI LUKA

	K+	K-	P1	P2	P3
1	34%	72%	73%	60%	-15%
2	65%	72%	80%		-4%
3	63%	59%	72%	68%	59%
4			38%	79%	43%
5	60%	54%	72%	72%	42%
6	53%	69%		71%	
Rata2	56%	66%	64%	72%	25%

H4 KONTRAKSI LUKA

	K+	K-	P1	P2	P3
1	50%	74%	83%	77%	44%
2	98%	73%	97%		20%
3	80%	71%	97%	75%	74%
4			71%	81%	45%
5	84%	87%	89%	69%	58%
6	91%	86%		90%	
Rata2	80%	79%	86%	79%	48%

Lampiran 3. Tanda-tanda Diabetes

Tabel L3.1 Berat Badan Tikus

Berat Badan Tikus (gram)

Kelompok	Berat Badan
K - 1	213
K - 2	197
K - 3	200
K - 4	190
K - 5	187
Rata2	197.4
SD	10.16366076

Kelompok	Berat Badan
P 2 1	222
P 2 2	233
P 2 3	200
P 2 4	187
P 2 5	239
Rata2	216.2
SD	22.08393081

Kelompok	Berat Badan
K + 1	207
K + 2	206
K + 3	215
K + 4	214
K + 5	212
Rata2	210.8
SD	4.086563348

Kelompok	Berat Badan
P 3 1	236
P 3 2	198
P 3 3	218
P 3 4	229
P 3 5	221
Rata2	220.4
SD	14.36314729

Kelompok	Berat Badan
P 1 1	230
P 1 2	224
P 1 3	223
P 1 4	228
P 1 5	226
Rata2	226.2
SD	2.863564213

Tabel L3.2 Perhitungan Sisa Makan Tikus

JUMLAH SISA MAKAN SEBELUM INJEKSI

H 3

Kelompok	Sisa makan
K - 1	22
K - 2	14
K - 3	10
K - 4	16
K - 5	22
Rata2	16.8
SD	5.215361924

Kelompok	Sisa makan
K + 1	24
K + 2	18
K + 3	21
K + 4	10
K + 5	22
Rata2	19
SD	5.477225575

Kelompok	Sisa makan
P 1 1	16
P 1 2	23
P 1 3	15
P 1 4	11
P 1 5	17
Rata2	16.4
SD	4.335896678

Kelompok	Sisa makan
P 2 1	23
P 2 2	26
P 2 3	13
P 2 4	22
P 2 5	16
Rata2	20
SD	5.33853913

Kelompok	Sisa makan
P 3 1	23
P 3 2	18
P 3 3	24
P 3 4	21
P 3 5	15
Rata2	20.2
SD	3.7013511

JUMLAH SISA MAKAN SESUDAH INJEKSI

H 3

Kelompok	Sisa makan
K - 1	17
K - 2	25
K - 3	19
K - 4	16
K - 5	13
Rata2	18
SD	4.472135955

Kelompok	Sisa makan
K + 1	14
K + 2	18
K + 3	21
K + 4	0
K + 5	0
Rata2	10.6
SD	9.989994995

Kelompok	Sisa makan
P 1 1	4
P 1 2	11
P 1 3	1
P 1 4	3
P 1 5	0
Rata2	3.8
SD	4.324349662

Kelompok	Sisa makan
P 2 1	23
P 2 2	0
P 2 3	3
P 2 4	5
P 2 5	3
Rata2	6.8
SD	9.2303846

Kelompok	Sisa makan
P 3 1	0
P 3 2	6
P 3 3	24
P 3 4	0
P 3 5	1
Rata2	6.2
SD	10.256705



JUMLAH SISA MAKAN SESUDAH INJEKSI

H 6

Kelompok	Sisa makan
K - 1	18
K - 2	24
K - 3	14
K - 4	16
K - 5	9
Rata2	16.2
SD	5.495452666

Kelompok	Sisa makan
K + 1	25
K + 2	11
K + 3	17
K + 4	0
K + 5	0
Rata2	10.6
SD	10.87658034

Kelompok	Sisa makan
P 1 1	1
P 1 2	12
P 1 3	2
P 1 4	4
P 1 5	0
Rata2	3.8
SD	4.816637832

Kelompok	Sisa makan
P 2 1	22
P 2 2	0
P 2 3	3
P 2 4	5
P 2 5	7
Rata2	7.4
SD	8.5615419

Kelompok	Sisa makan
P 3 1	0
P 3 2	9
P 3 3	9
P 3 4	5
P 3 5	1
Rata2	4.8
SD	4.2661458



JUMLAH SISA MAKAN SESUDAH INJEKSI

H 9

Kelompok	Sisa makan
K - 1	28
K - 2	28
K - 3	23
K - 4	16
K - 5	9
Rata2	20.8
SD	8.228000972

Kelompok	Sisa makan
K + 1	25
K + 2	6
K + 3	16
K + 4	6
K + 5	1
Rata2	10.8
SD	9.628083922

Kelompok	Sisa makan
P 1 1	7
P 1 2	10
P 1 3	3
P 1 4	4
P 1 5	2
Rata2	5.2
SD	3.271085447

Kelompok	Sisa makan
P 2 1	7
P 2 2	5
P 2 3	4
P 2 4	16
P 2 5	14
Rata2	9.2
SD	5.4497706

Kelompok	Sisa makan
P 3 1	4
P 3 2	11
P 3 3	8
P 3 4	10
P 3 5	8
Rata2	8.2
SD	2.6832816

JUMLAH SISA MAKAN SESUDAH INJEKSI

H 12

Kelompok	Sisa makan
K - 1	21
K - 2	23
K - 3	22
K - 4	15
K - 5	7
Rata2	17.6
SD	6.693280212

Kelompok	Sisa makan
K + 1	0
K + 2	12
K + 3	15
K + 4	11
K + 5	7
Rata2	9
SD	5.787918451

Kelompok	Sisa makan
P 1 1	7
P 1 2	10
P 1 3	3
P 1 4	4
P 1 5	2
Rata2	5.2
SD	3.271085447

Kelompok	Sisa makan
P 2 1	17
P 2 2	11
P 2 3	15
P 2 4	16
P 2 5	11
Rata2	14
SD	2.8284271

Kelompok	Sisa makan
P 3 1	3
P 3 2	21
P 3 3	0
P 3 4	9
P 3 5	3
Rata2	7.2
SD	8.378544

Tabel L3.3 Jumlah Urin Hewan Coba

JUMLAH URIN SEBELUM INJEKSI

Kelompok	Berat sekam	Jumlah urin
K - 1	41	11
K - 2	34	4
K - 3	33	3
K - 4	42	12
K - 5	38	8
Rata2	37.6	7.6
SD	4.037325848	4.03732585

Kelompok	Berat sekam	Jumlah urin
P 2 1	44	14
P 2 2	45	15
P 2 3	31	1
P 2 4	37	7
P 2 5	40	10
Rata2	39.4	9.4
SD	5.6833089	5.6833089

Kelompok	Berat Sekam	Jumlah urin
K + 1	46	16
K + 2	33	3
K + 3	42	12
K + 4	45	15
K + 5	31	1
Rata2	39.4	9.4
SD	6.949820142	6.94982014

Kelompok	Berat sekam	Jumlah urin
P 3 1	41	11
P 3 2	43	13
P 3 3	31	1
P 3 4	32	2
P 3 5	31	1
Rata2	35.6	5.6
SD	5.89915248	5.89915248

Kelompok	Berat sekam	Jumlah urin
P 1 1	31	1
P 1 2	42	12
P 1 3	35	5
P 1 4	44	14
P 1 5	35	5
Rata2	37.4	7.4
SD	5.412947441	5.41294744

JUMLAH URIN SESUDAH INJEKSI

H 3

Kelompok	Berat sekam	Jumlah urin
K - 1	36	6
K - 2	36	6
K - 3	40	10
K - 4	42	12
K - 5	38	8
Rata2	38.4	8.4
SD	2.607680962	2.60768096

Kelompok	Berat seka	Jumlah urin
P 2 1	44	14
P 2 2	101	71
P 2 3	95	65
P 2 4	56	26
P 2 5	69	39
Rata2	73	43
SD	24.56624	24.566237

Kelompok	Berat sekam	Jumlah urin
K + 1	125	95
K + 2	60	30
K + 3	120	90
K + 4	71	41
K + 5	102	72
Rata2	95.6	65.6
SD	29.0396281	29.0396281

Kelompok	Berat seka	Jumlah urin
P 3 1	81	51
P 3 2	103	73
P 3 3	58	28
P 3 4	99	69
P 3 5	88	58
Rata2	85.8	55.8
SD	17.82414	17.8241409

Kelompok	Berat sekam	Jumlah urin
P 1 1	74	44
P 1 2	43	13
P 1 3	102	72
P 1 4	72	42
P 1 5	100	70
Rata2	78.2	48.2
SD	24.17022962	24.1702296

JUMLAH URIN SESUDAH INJEKSI

H 6

Kelompok	Berat sekam	Jumlah urin
K - 1	38	8
K - 2	37	7
K - 3	44	14
K - 4	42	12
K - 5	47	17
Rata2	41.6	11.6
SD	4.159326869	4.15932687

Kelompok	Berat seka	Jumlah urin
P 2 1	43	13
P 2 2	126	96
P 2 3	74	44
P 2 4	78	48
P 2 5	62	32
Rata2	76.6	46.6
SD	30.78636	30.7863606

Kelompok	Berat sekam	Jumlah urin
K + 1	75	45
K + 2	66	36
K + 3	83	53
K + 4	78	48
K + 5	45	15
Rata2	69.4	39.4
SD	14.97664849	14.9766485

Kelompok	Berat seka	Jumlah urin
P 3 1	85	55
P 3 2	110	80
P 3 3	59	29
P 3 4	96	66
P 3 5	89	59
Rata2	87.8	57.8
SD	18.70027	18.7002674

Kelompok	Berat sekam	Jumlah urin
P 1 1	73	43
P 1 2	40	10
P 1 3	94	64
P 1 4	77	47
P 1 5	97	67
Rata2	76.2	46.2
SD	22.75302178	22.7530218

JUMLAH URIN SESUDAH INJEKSI

H 9

Kelompok	Berat sekam	Jumlah urin
K - 1	38	8
K - 2	40	10
K - 3	41	11
K - 4	47	17
K - 5	48	18
Rata2	42.8	12.8
SD	4.438468204	4.4384682

Kelompok	Berat seka	Jumlah urin
P 2 1	84	54
P 2 2	124	94
P 2 3	94	64
P 2 4	43	13
P 2 5	56	26
Rata2	80.2	50.2
SD	31.9875	31.9874976

Kelompok	Berat sekam	Jumlah urin
K + 1	98	68
K + 2	93	63
K + 3	98	68
K + 4	94	64
K + 5	101	71
Rata2	96.8	66.8
SD	3.271085447	3.27108545

Kelompok	Berat seka	Jumlah urin
P 3 1	86	56
P 3 2	108	78
P 3 3	99	69
P 3 4	88	58
P 3 5	90	60
Rata2	94.2	64.2
SD	9.176056	9.1760558

Kelompok	Berat sekam	Jumlah urin
P 1 1	67	37
P 1 2	49	19
P 1 3	94	64
P 1 4	86	56
P 1 5	89	59
Rata2	77	47
SD	18.6949191	18.6949191

JUMLAH URIN SESUDAH INJEKSI

H12

Kelompok	Berat sekam	Jumlah urin
K - 1	44	14
K - 2	44	14
K - 3	42	12
K - 4	52	22
K - 5	45	15
Rata2	45.4	15.4
SD	3.847076812	3.84707681

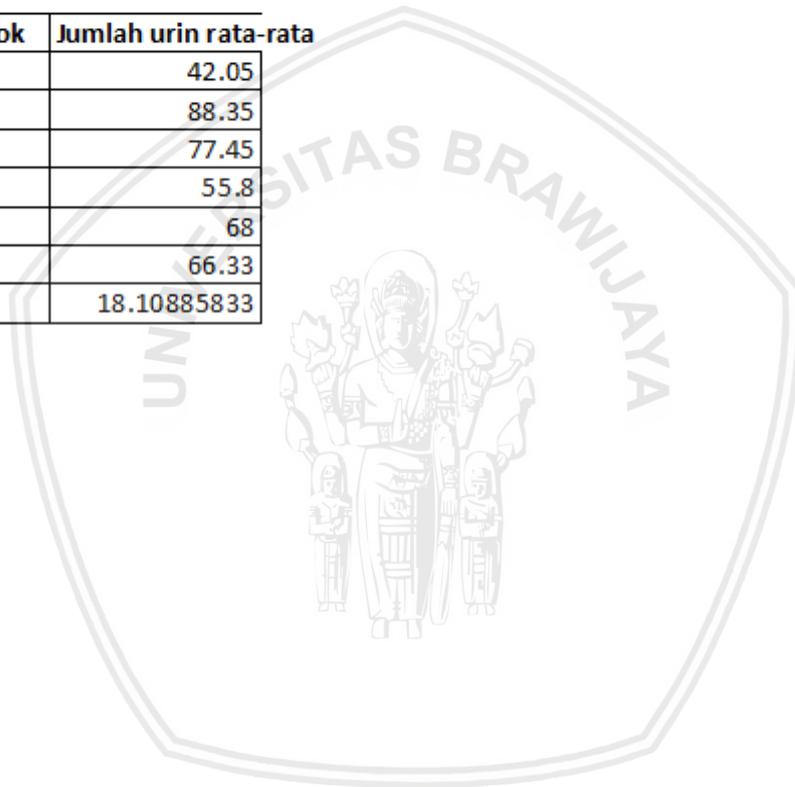
Kelompok	Berat seka	Jumlah urin
P 2 1	42	12
P 2 2	90	60
P 2 3	89	59
P 2 4	58	28
P 2 5	56	26
Rata2	67	37
SD	21.44761	21.4476106

Kelompok	Berat sekam	Jumlah urin
K + 1	110	80
K + 2	81	51
K + 3	69	39
K + 4	97	67
K + 5	101	71
Rata2	91.6	61.6
SD	16.42558979	16.4255898

Kelompok	Berat seka	Jumlah urin
P 3 1	86	56
P 3 2	64	34
P 3 3	56	26
P 3 4	64	34
P 3 5	119	89
Rata2	77.8	47.8
SD	25.59687	25.5968748

Kelompok	Berat sekam	Jumlah urin
P 1 1	76	46
P 1 2	55	25
P 1 3	83	53
P 1 4	80	50
P 1 5	98	68
Rata2	78.4	48.4
SD	15.50161282	15.5016128

Kelompok	Jumlah urin rata-rata
K -	42.05
K +	88.35
P1	77.45
P2	55.8
P3	68
Rata2	66.33
SD	18.10885833



Tabel 3.4 Kadar Gula Darah

KADAR GULA DARAH SEBELUM INJEKSI

Kelompok	Kadar (mg/ dL)
K - 1	60
K - 2	68
K - 3	80
K - 4	72
K - 5	65
Rata2	69
SD	7.549834435

Kelompok	Kadar (mg/ dL)
P 2 1	63
P 2 2	57
P 2 3	89
P 2 4	55
P 2 5	68
Rata2	66.4
SD	13.63084737

Kelompok	Kadar (mg/ dL)
K + 1	78
K + 2	64
K + 3	84
K + 4	68
K + 5	71
Rata2	73
SD	8

Kelompok	Kadar (mg/ dL)
P 3 1	77
P 3 2	87
P 3 3	81
P 3 4	93
P 3 5	73
Rata2	82.2
SD	7.949842766

Kelompok	Kadar (mg/ dL)
P 1 1	75
P 1 2	79
P 1 3	66
P 1 4	84
P 1 5	81
Rata2	77
SD	6.964194139

KADAR GULA DARAH SETELAH INJEKSI

Kelompok	Kadar (mg/ dL)
K - 1	84
K - 2	82
K - 3	81
K - 4	76
K - 5	73
Rata2	79.2
SD	4.549725266

Kelompok	Kadar (mg/ dL)
P 2 1	384
P 2 2	431
P 2 3	504
P 2 4	378
P 2 5	422
Rata2	423.8
SD	50.42023403

Kelompok	Kadar (mg/ dL)
K + 1	433
K + 2	472
K + 3	428
K + 4	419
K + 5	581
Rata2	466.6
SD	67.08427536

Kelompok	Kadar (mg/ dL)
P 3 1	429
P 3 2	382
P 3 3	366
P 3 4	298
P 3 5	452
Rata2	385.4
SD	59.92328429

Kelompok	Kadar (mg/ dL)
P 1 1	278
P 1 2	334
P 1 3	576
P 1 4	545
P 1 5	331
Rata2	412.8
SD	137.0974106

Lampiran 4. Dokumentasi



Pembelian Tikus



Aklimatisasi tikus 12 hari



Pemilihan daun bakung



Pengeringan daun bakung putih



Membuat serbuk



Proses maserasi



Proses evaporasi



Menimbang berat tikus



Membuat makanan tikus



Mengganti sekam



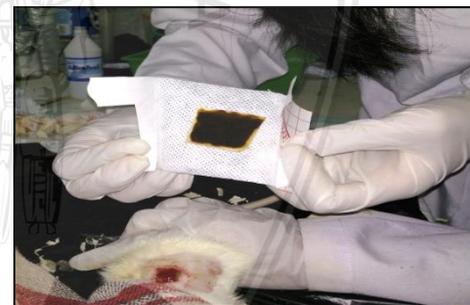
Menyiapkan minum tikus



Injeksi STZ



Membuat luka pada tikus



Perawatan luka



Foam dressing mengandung ekstrak



Pengukuran gula darah

Lampiran 5 Kelaikan Etik


KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
 Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
 Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755
<http://www.fk.ub.ac.id> e-mail : kep.fk@ub.ac.id

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")
No. 128 / EC / KEPK – PKM / 05 / 2018

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA,
 SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN,
 DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

JUDUL : CFD Foam (*Crinum Asiaticum L. for Diabetic Ulcer Foam*) : Ekstrak
 Daun Bakung *Crinum Asiaticum L.* sebagai Solusi Alternatif Perawatan
 Ulkus Diabetes pada Model Tikus (Strain Wistar Diabetes).

PENELITI : Ni Made Ari Widayani
 Anisa Hanifatin Rahayu
 Desi Christin Saragih

UNIT / LEMBAGA : PKM – Fakultas Kedokteran – Universitas Brawijaya Malang

TEMPAT PENELITIAN : Laboratorium Prasitologi Klinik, Farmasi, dan Fisiologi / Ilmu Faal
 Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Malang, MAY 2018
 Ketua,


 Prof. Dr. dr. Moch. Istiadjid ES, SpS, SpBS(K), SH, M.Hum, Dr.H.
 NIK. 160746683

Catatan :
 Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan
 Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk
 Soft Copy. Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali
 Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).

Lampiran 6. Surat Sehat Tikus

SURAT KETERANGAN PEMERIKSAAN KESEHATAN HEWAN

Nomor: 524.3 / 087 / 35.73.309 / 2018

Dengan ini menerangkan bahwa hewan dengan signaturemen :

Hewan / Signalemen	1
Spesies	RAT
Ras	WTSTAR
Jumlah	30 ekor
Kelamin	Jantan
Warna bulu	Putih

Owner Farm

Nama : Dianthy Kurniawan
 Alamat : Perum Bumi Mondoroko Rays Blok G01 nomor 36
 Singosari Malang
 Telpun : 081252500799, 085755511102

Penerima Hewan

Nama : Sdri. Ni Made Ari Widayanti
 Alamat : Laboratorium Putera Indonesia
 Jln. Barito NO. 5 Lowokwaru Malang

Tujuan Pengiriman : Experiment Animi

Terhadap hewan tersebut diatas pada tanggal 08 Juni 2018 telah kami periksa dalam keadaan sehat (tidak menunjukkan adanya gejala penyakit hewan menular).

Surat keterangan ini dikeluarkan untuk 1 (satu) kali/pake pengiriman dan berlaku sampai dengan tanggal 14 Juni 2018.

a.n. Kepala Dinas Pertanian Kota Malang
 Kepala Bidang Peternakan dan
 Kesehatan Hewan



Drs. ANTON PRAMUJONO
 Pembina

NIP. 19601017 192711 1 007

Lampiran 7. Determinasi Tanaman



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No. 87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu
KOTA BATU

65313

Nomor : 074 / 197A / 102.7 / 2018
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Bakung**

Menyebutkan permohonan saudara :

Nama : ANISA HANIFATIN R.
NIM : 155070201111018
Instansi : KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

1. Perihal determinasi tanaman bakung

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpenyuluh)
Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Magnoliopsida
Batasu : Liliaceae
Suku : Amaryllidaceae
Marga : Crinum
Jenis : *Crinum asiaticum* L.
Nama Daerah : Bakong (Batak), sermu (Bengk), bakung (Miongekabe), bakung (Melayu), bakung (Sunda), bakung (Jawa Tengah), bakong (Medan), bakung bug (Makassar), danan (Ambon), pere (Halmahera), fete-fete (Tocuss).

Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-5b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-243b-244a-245a-1b-12a-13a-14a-12.

2. Morfologi : Habitus: Herba, talusan, tinggi 1,5 m. Batang: Sempit, diameter ± 10 cm, tegak, lunak, putih kelujasaan. Daun: Tunggal, lanset, panjang 32-120 cm, lebar 3-10 cm, rehal, ber tepi rata, ujung meruncing, pangkal tumpul, bila dipotong melintang nampak lubang-lubang, hijau. Bunga: Mujermuk, bentuk pnyung, tepal pipih, tebal, panjang 35-120 cm, pangkal mahkota berlekuk, bentuk corong, putih, purik panjang ± 1,5 cm, nipis, benang sari melengkung keluar, tongkat sari panjang 3-10 cm, kepala sari warna jingga; bakal buah bersekat elips, panjang ± 1,5 cm, putih keunguan. Buah: Katak, bulat rehr, tiap katuk terdapat 1 biji. Biji: Keras, bentuk pipih, panjang ± 5 cm, hitam. Akar: Serabut, silindris, putih.

3. Nama Simplisia : Crini asiaticum Polipny Daun Bakung.

4. Kandungan : Akar dan daun mengandung alkaloida, saponin, flavonoida dan polifenil. Bunganya mengandung saponin, flavonoida dan tanin. Bunga bakung mengandung flavonoid, saponin, dan tanin. Umbi, akar serta biji mengandung alkaloid likoelin, kolin, dan teofilin.

5. Pengobatan : Pendidikan.

6. Daftar Pustaka

- Anonim. <http://www.pom.go.id/cai/laksanoma/bakungputih>, diakses 7 November 2011.
- Anonim. <http://www.warintek.risetek.go.id/bakung>, diakses 1 Desember 2010.
- Syamsulhidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Juhay Ria. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia 1*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.
- Van Steenis. COGI. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Praditya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

PROVINSI
JAWA TIMUR
Batu, 07 Mei 2018
Kepala UPT Materia Medica Batu
UPT MATERIA MEDICA
KOTA BATU
M. A. M. M. M.
Drs. Ani, M.Kes.
NIP. 196711021991031003