

**UJI POTENSI EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia*
(Ten) Steenis) TERHADAP JUMLAH FIBROBLAS DAN
KETEBALAN KOLAGEN PADA LUKA BAKAR TIKUS WISTAR**



ROSWITA H F NUGU

2443014247

PROGRAM STUDI S1

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA

2018

**UJI POTENSI EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia*
(Ten) Steenis) TERHADAP JUMLAH FIBROBLAS DAN
KETEBALAN KOLAGEN PADA LUKA BAKAR TIKUS WISTAR**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Strata I
di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

OLEH:

ROSWITA HANDAYANI FATIKASARI NUGU

2443014247

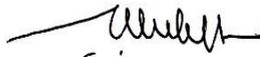
Telah disetujui pada tanggal 27 Juli 2018 dan dinyatakan LULUS

Pembimbing I,



Dr. Iwan Sahrial Hamid, M.Si., drh
NIK. 196807131993031009

Pembimbing II,



Dra. Hj. Liliek S. Hermanu, MS., Apt
NIK. 241.81.0084

Mengetahui,

Ketua Penguji



(Dr. Rondius Solfaine, drh. MPAP. Vet.)

NIK. 10526-ET

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul : **Uji Potensi Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) Terhadap Jumlah Fibroblas dan Ketebalan Kolagen pada Luka Bakar Tikus Wistar** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 27 Juli 2018



Roswita H F Nugu
2443014247

LEMBAR PERNYATAAN KARYA ILMIAH NON PLAGIAT

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Surabaya, 27 Juli 2018



Roswita H F Nugu
2443014247

ABSTRAK

UJI POTENSI EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP JUMLAH FIBROBLAS DAN KETEBALAN KOLAGEN PADA LUKA BAKAR TIKUS WISTAR

ROSWITA H F NUGU
2443014247

Binahong (*Anredera cordifolia*) merupakan salah satu tanaman yang berkhasiat untuk mempercepat proses penyembuhan luka. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) pada penyembuhan luka bakar. Ekstrak etanol daun binahong dibuat dalam bentuk sediaan salep untuk memudahkan lepasnya obat dan pengaplikasiannya. Penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus wistar jantan yang dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yakni kelompok tanpa pengobatan, bioplacenton, ekstrak etanol daun binahong 20% dan ekstrak etanol daun binahong 40%. Tikus yang telah dibuat luka bakar diberi perlakuan kemudian diamati jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen pada hari ke-3 dan hari ke-7. Analisis data menggunakan *One Way Anova* dilanjutkan uji *Duncan Test*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun binahong 40% dapat meningkatkan jumlah fibroblas paling signifikan, pada hari ke-3 ($245,33 \pm 32,87$) dan hari ke-7 ($333,00 \pm 40,85$) diikuti ekstrak etanol daun binahong 20% hari ke-3 ($164,00 \pm 7,00$) dan hari ke-7 ($183,67 \pm 10,12$). Ekstrak etanol daun binahong 40% meningkatkan ketebalan kolagen pada hari ke-3 ($22,82 \pm 1,72$) dan hari ke-7 ($26,98 \pm 7,22$) diikuti ekstrak etanol daun binahong 20% hari ke-3 ($17,19 \pm 2,05$) dan hari ke-7 ($24,71 \pm 10,35$). Dari hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun binahong 40% lebih efektif dalam mempercepat proses penyembuhan luka bakar dengan meningkatkan jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen.

Kata Kunci : Daun binahong, jumlah fibroblas, ketebalan kolagen, luka bakar.

ABSTRACT

ACTIVITY TEST OF MADEIRA VINE (*Anredera cordifolia*) (Ten. Steenis) LEAVES EXTRACT ON THE NUMBER OF FIBROBLAST AND COLLAGEN DENSITY OF BURN WOUND IN WISTAR RATS

**ROSWITA H F NUGU
2443014247**

Madeira vine (*Anredera cordifolia*) is one of the medical plants to accelerate the wound healing process. The aim of this research was to determine the effect of madeira vine (*Anredera cordifolia*) leaves ethanol extract on the healing of burns. The ethanol extract of madeira vine leaves was made in ointment preparations to facilitate the application and releases the medicine into skin layers. This study used 24 male wistar rats divided into 4 treatment groups; group without treatment, bioplacenton, madeira vine leaves ethanol extract 20% and madeira vine leaves ethanol extract 40%. Rats that had been burned were treated and then observed the amount of fibroblasts and the collagen density on day-3 and day-7. The data was analyzed using One Way Anova and Duncan Test. The results showed that the madeira vine leaves extract 40% could increase the most significant amount of fibroblasts, on day-3 (245.33 ± 32.87) and day-7 (333.00 ± 40.85) followed by madeira vine leaves ethanol extract 20% day-3 (164.00 ± 7.00) and day-7 (183.67 ± 10.12). madeira vine leaves ethanol extract 40% increased collagen density on day-3 (22.82 ± 1.72) and day-7 (26.98 ± 7.22) followed by madeira vine leaves ethanol extract 20% on the 3rd day (17.19 ± 2.05) and the 7th day (24.71 ± 10.35). From the results of the study, it can be concluded that the madeira vine leaves ethanol extract 40% more effective in accelerating the healing process of burn wound with increasing the number of fibroblast and collagen density.

Keywords: madeira vine leaves, number of fibroblasts, collagen density, burn wound.

KATA PENGANTAR

Puji syukur dipanjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat, rahmat dan penyertaan-Nya sehingga skripsi dengan judul “Uji Potensi Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Jumlah Fibroblas Dan Ketebalan Kolagen Pada Luka Bakar Tikus Wistar” dapat diselesaikan dengan baik. Skripsi ini disusun dan diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Skripsi ini dapat diselesaikan karena bantuan, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak baik moril, materiil maupun spiritual. Dalam kesempatan ini, dengan segenap rasa syukur, disampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Tuhan Yesus Kristus dan Bunda Maria atas berkat pertolongan, hikmat dan rahmatNya yang luar biasa dalam kehidupan penulis sehingga selalu dikuatkan dan diteguhkan dalam setiap proses penyusunan skripsi ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik,
2. Dr. Iwan Syahrial, M.Si., drh., selaku Pembimbing I dan Dra. Hj. Liliek S Hermanu, MS., Apt., selaku Pembimbing II, atas waktu, bimbingan, pengertian, kesabaran, ilmu, nasihat dan dukungan yang telah diberikan selama pengerjaan skripsi ini hingga dapat terselesaikan,
3. Dr. Rondius Solfaine, drh., MPAP. Ve., dan Restry Sinansari, M.Farm., Apt., selaku dosen penguji yang telah bersedia menilai, memberikan saran dan masukan untuk kesempurnaan skripsi ini,
4. Drs. Kuncoro Foe, Ph.D, Apt., selaku Rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, atas kesempatan yang diberikan untuk menempuh jenjang pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

5. Sumi Wijaya, S.Si., Ph.D., Apt., selaku Dekan dan Wali Studi, yang telah membantu dalam memberikan sarana, fasilitas, saran dan dukungan sehingga skripsi ini dapat selesai dengan baik.
6. Seluruh dosen Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya,
7. Para laboran Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya khususnya pak Anang, pak Rendy, pak Tri, pak Ary, pak Dwi, pak Anto, pak Sam, ibu Retno, ibu Tyas, ibu Mega dan ibu Evi yang membantu menyediakan kebutuhan selama proses pengerjaan skripsi hingga selesai,
8. Papa Onduk Fabianus, Mama Oliva Pepo, Kaka Iwan Nugu, Adik Widi Nugu dan Vandy Nugu serta seluruh keluarga besar yang telah memberikan dukungan baik secara moral, materil dan kasih serta cinta kepada saya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
9. Tim Binahong Squad tersayang yakni Elyn Ratu, Antonella Felisitas, Dea Betriksia dan Merry Caldas yang selalu memberikan semangat dan bantuan, serta telah berjuang bersama dalam suka dan duka menyelesaikan penelitian demi tersusunnya skripsi ini,
10. Teman-teman seperjuangan dari Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya khususnya geng Blok Timur 14 yakni Gege, Ayu, Wilia, Taty, Cerli, Nining, Is, Lhia, Dea Koni, Ria, Elna, Sita, Yun, Jole, Rio, Paula,
11. Sahabat tercinta Pingkan, Stefani, Vianny, Lusy, Kezia, Jean, Yuta dan Feny yang sabar senantiasa, memberikan semangat dan selalu ada saat dibutuhkan.
12. Sempas Family Nina, Febry, Pio, Anggy, Hery, Lady, Ernesta, Desy yang selalu memberikan keceriaan dan kegembiraan

13. Pihak-pihak lain yang telah memberikan dukungan dan bantuan selama proses pengerjaan penelitian ini.

Demikian skripsi ini dipersembahkan bagi almamater Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat serta sumbangan ilmu bagi dunia kefarmasian dan kesehatan serta masyarakat luas pada umumnya.

Disadari adanya keterbatasan pengalaman, pengetahuan maupun pustaka yang ditinjau dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini sehingga masih terdapat banyak kekurangan yang jauh dari sempurna. Akhir kata, diucapkan terima kasih banyak kepada semua pihak dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Surabaya, 27 Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|---------|
| ABSTRAK..... | i |
| ABSTRACT | ii |
| KATA PENGANTAR | iii |
| DAFTAR ISI | vi |
| DAFTAR TABEL | xi |
| DAFTAR GAMBAR..... | xii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiii |
| BAB | |
| 1 PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1. Latar Belakang | 1 |
| 1.2. Rumusan Masalah | 6 |
| 1.3. Tujuan Penelitian | 6 |
| 1.4. Hipotesis Penelitian..... | 6 |
| 1.5. Manfaat Penelitian | 7 |
| 2 TINJAUAN PUSTAKA | 8 |
| 2.1. Tinjauan tentang Tanaman Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) | 8 |
| 2.1.1. Morfologi tanaman | 8 |
| 2.1.2. Klasifikasi tanaman binahong | 9 |
| 2.1.3. Nama lain | 9 |
| 2.1.4. Nama daerah..... | 9 |
| 2.1.5. Nama asing..... | 9 |
| 2.1.6. Manfaat dan kandungan kimia tanaman binahong | 10 |
| 2.2. Tinjauan tentang Simplisia | 11 |
| 2.2.1. Pengertian simplisia | 11 |

| | Halaman |
|--|---------|
| 2.2.2. Proses pembuatan simplisia..... | 12 |
| 2.3. Tinjauan tentang Ekstraksi | 15 |
| 2.3.1. Definisi ekstrasi..... | 15 |
| 2.3.2. Proses pembuatan ekstrak | 15 |
| 2.3.3. Metode ekstraksi | 17 |
| 2.4. Tinjauan tentang Ekstrak..... | 20 |
| 2.4.1. Definisi ekstrak | 20 |
| 2.4.2. Faktor yang mempengaruhi mutu ekstrak | 20 |
| 2.5. Tinjauan tentang Standarisasi..... | 24 |
| 2.5.1. Definisi standarisasi | 24 |
| 2.6. Parameter Mutu Simplisia dan Ekstrak | 25 |
| 2.6.1. Parameter spesifik | 25 |
| 2.6.2. Parameter non spesifik | 26 |
| 2.7. Tinjauan Kromatografi Lapis Tipis Golongan Senyawa Flavonoid | 29 |
| 2.8. Tinjauan tentang Jaringan Kulit | 30 |
| 2.8.1. Definisi kulit..... | 30 |
| 2.7.1. Epidermis | 30 |
| 2.7.2. Dermis | 31 |
| 2.9. Tinjauan tentang Luka Bakar | 32 |
| 2.9.1 Definisi luka bakar | 32 |
| 2.9.2 Derajat luka bakar | 33 |
| 2.9.3 Patofisiologi | 34 |
| 2.9.4 Fase penyembuhan luka | 35 |
| 2.9.5 Gangguan penyembuhan luka | 39 |
| 2.9. Tinjauan tentang Tikus..... | 40 |
| 2.10 Tinjauan tentang Vaseline Album..... | 41 |

| | Halaman |
|---|---------|
| 2.11. Tinjauan tentang Adeps Lanae | 41 |
| 3 METODE PENELITIAN | 42 |
| 3.1. Jenis Penelitian | 42 |
| 3.2. Alat Penelitian | 42 |
| 3.3. Bahan Penelitian | 43 |
| 3.3.1. Bahan tanaman | 43 |
| 3.3.2. Bahan penginduksi | 43 |
| 3.3.3. Bahan pembanding | 43 |
| 3.3.4. Hewan laboratorium | 43 |
| 3.4. Rancangan Penelitian | 43 |
| 3.5. Unit Analisis | 45 |
| 3.6. Tahapan Penelitian | 45 |
| 3.6.1. Pembuatan sampel ekstrak daun binahong | 45 |
| 3.6.2. Standarisasi ekstrak | 46 |
| 3.6.3. Uji KLT kandungan flavonoid ekstrak daun binahong | 48 |
| 3.6.4. Pembuatan salep ekstrak daun binahong | 49 |
| 3.7. Penentuan Dosis | 50 |
| 3.8. Pembuatan Luka | 51 |
| 3.9. Perlakuan Hewan Coba | 51 |
| 3.10. Eksisi Jaringan Kulit Tikus | 52 |
| 3.11. Pembuatan Preparat Histologi Jaringan Kulit Tikus .. | 52 |
| 3.12. Pengamatan Jumlah Fibroblas | 52 |
| 3.13. Pengamatan Ketebalan Kolagen | 52 |
| 3.14. Analisis Data | 53 |
| 3.15. Skema Kerja | 54 |
| 3.15.1. Pembuatan ekstrak daun binahong | 54 |

| | Halaman |
|---|---------|
| 3.15.2. Perlakuan hewan coba | 55 |
| 4 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN | 56 |
| 4.1. Analisis Data | 56 |
| 4.1.1. Hasil karakterisasi tanaman segar | 56 |
| 4.2. Standarisasi Simplisia Daun Binahong | 57 |
| 4.2.1. Parameter spesifik | 59 |
| 4.2.2. Parameter non spesifik | 62 |
| 4.3. Rendemen Ekstrak Etanol Daun Binahong | 62 |
| 4.4. Standarisasi Ekstrak Etanol Daun Binahong | 63 |
| 4.4.1. Parameter spesifik | 63 |
| 4.4.2. Parameter non spesifik | 67 |
| 4.5. Evaluasi Salep Ekstrak Etanol Daun Binahong..... | 67 |
| 4.5.1. Pengamatan organoleptis..... | 68 |
| 4.5.2. Pengujian pH..... | 68 |
| 4.5.3. Pengujian homogenitas..... | 69 |
| 4.6. Pengamatan Jumlah Fibroblas dan Ketebalan Kolagen | 69 |
| 4.7. Pembahasan..... | 74 |
| 5 KESIMPULAN DAN SARAN | 85 |
| 5.1. Kesimpulan | 85 |
| 5.2. Saran..... | 85 |
| DAFTAR PUSTAKA | 86 |
| LAMPIRAN..... | 96 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | | Halaman |
|-------|---|---------|
| 4.1. | Hasil Pengamatan Morfologi Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>)..... | 56 |
| 4.2. | Hasil Pengamatan Makroskopis Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) | 57 |
| 4.3. | Hasil Pengamatan Mikroskopik Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) | 58 |
| 4.4. | Rangkuman Hasil Pengamatan Mikroskopik Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) | 59 |
| 4.5. | Hasil Pengamatan Organoleptis Simplisia Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) | 60 |
| 4.6. | Hasil Pengamatan Mikroskopik Simplisia Daun Binahong (<i>Anredera Cordifolia</i>) pada Media Aquadest dan Florogusin HCl dengan Perbesaran 40 x 42,3 | 61 |
| 4.7. | Hasil Uji Parameter Non Spesifik Simplisia Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) | 62 |
| 4.8. | Hasil Pengamatan Organoleptis Ekstrak Etanol Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) | 63 |
| 4.9. | Hasil Pengamatan Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) | 64 |
| 4.10. | Nilai Rf dari KLT Ekstrak Etanol Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) dengan Fase Gerak <i>n</i> -Butanol : Asam Asetat : Air (4:1:5) dan Penampak Noda AlCl ₃ | 67 |
| 4.11. | Hasil Uji Parameter Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) | 67 |
| 4.12. | Hasil Evaluasi Sediaan Salep | 68 |
| 4.13. | Hasil Rerata Perhitungan Jumlah Fibroblas dan Ketebalan Kolagen (\pm SD) pada Hari ke-3 dan Hari ke-7 .. | 70 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|--|---------|
| 2.1. Tanaman Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>)..... | 8 |
| 2.2. Histologi Kulit | 32 |
| 2.3. Gambar Sel Fibroblas dan Kolagen secara Histologi | 39 |
| 3.1. Rancangan Penelitian..... | 44 |
| 3.2. Skema Kerja Pembuatan Ekstrak Daun Binahong..... | 54 |
| 3.3. Skema Kerja Hewan Laboratorium | 55 |
| 4.1. Simplisia Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>)..... | 60 |
| 4.2. Ekstrak Etanol Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) | 64 |
| 4.3. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>)..... | 65 |
| 4.4. Hasil KLT Ekstrak Etanol Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) dengan Fase Gerak <i>n</i> -Butanol : Asam Asetat : Air (4:1:5) dan Penampak Noda $AlCl_3$ | 66 |
| 4.5. Sediaan Salep Ekstrak Etanol Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) Konsentrasi 20% dan 40% | 68 |
| 4.6. Hasil Pengamatan Mikroskopis Sel Fibroblas dengan Pewarnaan <i>Hematoxyllin-Eosin</i> Perbesaran 1000 kali..... | 71 |
| 4.7. Hasil Pengamatan Mikroskopis Ketebalan Kolagen dengan Pewarnaan <i>Hematoxyllin-Eosin</i> Perbesaran 1000 kali | 73 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | | Halaman |
|----------|---|---------|
| A | Perhitungan Hasil Penetapan Kadar Air dan Kadar Abu dari Simplisia dan Ekstrak..... | 91 |
| B | Tabel Hasil Pengamatan Jumlah Fibroblas..... | 95 |
| C | Tabel Hasil Pengamatan Ketebalan Kolagen | 97 |
| D | Analisis Statistik Perhitungan Jumlah Fibroblas | 99 |
| E | Analisis Statistik Perhitungan Ketebalan Kolagen | 101 |
| F | Surat Determinasi Simplisia Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>)..... | 103 |
| G | Sertifikat Hewan Coba | 104 |
| H | Preparat Jaringan Kulit Hewan Coba | 105 |

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka bakar adalah luka yang disebabkan oleh kontak langsung dengan suhu tinggi seperti air panas, listrik, bahan kimia, dan radiasi. Luka bakar mengakibatkan tidak hanya kerusakan pada kulit, tetapi juga mempengaruhi seluruh sistem tubuh. Pasien dengan luka bakar (*mayor*) akan menyebabkan ketidakmampuan tubuh dalam memperbaiki kondisi kulit yang rusak dan menyebabkan berbagai macam komplikasi sehingga memerlukan penanganan khusus (Moenadjat, 2003). Kulit dengan luka bakar akan mengalami kerusakan pada epidermis, dermis, maupun subkutan, tergantung faktor penyebab dan lama kulit kontak dengan sumber panas. Kedalaman luka bakar ditentukan oleh tingginya suhu dan lamanya paparan pada kulit (Syamsuhidayat dan Jong, 2005).

Penderita luka bakar di Amerika dilaporkan sekitar 2 sampai 3 juta penderita luka bakar setiap tahunnya dengan jumlah kematian sekitar 5-6 ribu kematian/tahun. Di Unit Luka Bakar RSUD Dr. Sutomo Surabaya jumlah kasus yang dirawat selama Januari sampai Desember 2000 sebanyak 106 kasus atau 48,4% dari seluruh penderita bedah plastik yang dirawat yaitu sebanyak 219, jumlah kematian akibat luka bakar sebanyak 28 atau 26,41% dari seluruh penderita luka bakar yang dirawat (Noer, 2006).

Luka bakar paling banyak ditemukan di tengah masyarakat adalah luka bakar derajat II. Luka bakar derajat II sering terjadi di rumah tangga yang disebabkan pejanan air panas, kontak langsung dengan api atau minyak panas saat memasak yang menimbulkan lepuhan, hipersensitivitas, dan nyeri (Muttaqin dkk, 2011). Penyembuhan luka bakar normal bergantung pada penyebab luka bakar, derajat dan luas luka bakar, lokasi serta ada atau

tidaknya komplikasi pada faktor host seperti usia penderita, dan status gizi serta faktor lingkungan seperti metode perawatan dan sterilisasi ruang perawatan juga berpengaruh pada penyembuhan luka untuk mencegah adanya infeksi sekunder oleh mikroorganisme atau penyebab infeksi lain. Pada penyembuhan luka bakar terdapat 3 fase yaitu inflamasi, proliferasi, dan *remodelling* jaringan. Fase inflamasi berlangsung sejak terjadinya luka sampai hari ke-5, fase proliferasi berlangsung dari hari ke-5 sampai akhir minggu ke-3, dan fase *remodelling* dapat berlangsung berbulan-bulan sampai semua tanda peradangan sudah lenyap (Syamsuhidayat dan Jong, 1997).

Penyembuhan luka merupakan suatu proses yang ditandai dengan adanya penutupan jaringan luka dan pemulihan jaringan ikat dibawahnya. Selama proses ini, keratinosit, sel-sel endothelial, fibroblast dan sel-sel berproliferasi dan bermigrasi ke daerah yang mengalami luka, saling berinteraksi dengan matriks ekstraseluler. Migrasi sel-sel dan pemulihan jaringan ikat tersebut dipengaruhi oleh degradasi matriks ekstraseluler dan aktivasi dari faktor-faktor pertumbuhan (Sabiston, 1997).

Sel jaringan ikat yang sangat penting dalam *remodelling* dan penyembuhan dan jaringan yang rusak adalah fibroblas. Fibroblas adalah komponen seluler primer jaringan ikat dan sumber sintesis utama dari matriks protein. Fibroblas akan menghasilkan kolagen yang akan membentuk struktur protein utama pada jaringan ikat yang memberikan daya regang (*tensile strength*). Kolagen juga mempunyai peranan penting dalam proses penyembuhan luka karena kolagen memiliki kemampuan dalam hemostatis, interaksi dengan trombosit, interaksi dengan fibronektin, meningkatkan eksudasi cairan, meningkatkan komponen seluler, meningkatkan faktor pertumbuhan dan mendorong proses fibroplasia serta proliferasi epidermis. Setelah terkena luka, paparan kolagen fibriler ke darah dapat menyebabkan agregasi dan aktivasi trombosit dan melepaskan faktor kemotaksis yang

memulai proses penyembuhan luka. Fragmen-fragmen kolagen melepaskan kolagenase leukositik untuk menarik fibroblas ke daerah luka, selanjutnya kolagen menjadi pondasi untuk matriks ekstraseluler yang baru (Mercandetti dan Cohen, 2002).

Akumulasi kolagen pada daerah luka tergantung pada ratio antara sintesis kolagen dan degradasi kolagen oleh enzim. Pada fase awal penyembuhan luka, jumlah degradasi kolagen rendah, tetapi akan meningkat seiring dengan maturasi dari luka (Mercandetti dan Cohen, 2002). Pada proses penyembuhan luka yang kompleks dan urut tidak lepas dari peran sitokin. Pada tahap deposisi matrik ekstraseluler (ECM), sintesis kolagen diperbanyak oleh faktor pertumbuhan dan sitokin, (PDGF, FGF, TGF- β , IL-1, IL-4, IgG1). Dalam penelitian pada tikus menunjukkan bahwa TGF- β akan mempercepat sintesis dan deposit kolagen. Faktor pertumbuhan TGF- β mempunyai efek kemotaksis dan mitogenik pada fibroblas sehingga akan meningkatkan sintesis kolagen (Mulyata, 2002).

Proses penyembuhan luka bakar dapat terjadi secara normal tanpa bantuan, walaupun beberapa bahan obat kimia maupun alami dapat membantu dan mendukung proses penyembuhan (Stott dan Whitney, 1993). Luka bakar yang tidak dirawat akan menyebabkan komplikasi, infeksi, dan perdarahan. Oleh karena itu, penanganan dalam penyembuhan luka bakar bertujuan mencegah terjadinya infeksi sekunder dan memberika kesempatan kepada sisa-sisa sel epitel berproliferasi dan menutup permukaan luka bakar (Septiningsih, 2008). Tindakan yang sering dilakukan pada luka bakar adalah dengan memberikan terapi lokal dengan tujuan mendapatkan kesembuhan secepat mungkin (Anief, 1997). Selama ini obat yang sering digunakan oleh masyarakat dalam menangani luka bakar adalah Bioplacenton. Tiap 15g Bioplacenton mengandung ekstrak plasenta 10%, neomisin sulfat 0,5% dan basis gel (Ristaningsih, 2016), tetapi pada bayi di bawah 1 tahun,

bioplacenta harus digunakan dengan hati-hati pada pasien dengan ginjal atau kerusakan hati, gangguan neuromuskuler, dan pada mereka dengan gangguan pendengaran. Penggunaan topikal neomisin pada pasien dengan kerusakan kulit yang luas atau membran timpani perforasi dapat mengakibatkan ketulian. Penggunaan lokal berkepanjangan harus dihindari karena dapat menyebabkan kepekaan kulit dan kemungkinan sensitivitas hilang (Sweetman, 2009).

Penggunaan obat tradisional, seperti tanaman berkhasiat obat tetap berlangsung di zaman modern ini, bahkan cenderung meningkat. Hal ini menandai kesadaran masyarakat untuk kembali ke alam (*back nature*) dalam rangka mencapai kesehatan yang optimal dan untuk mengatasi berbagai macam penyakit secara alami (Wijayakusuma, 1997).

Dalam upaya mencegah kematian sel dan mempercepat penyembuhan luka bakar masyarakat dapat memanfaatkan tanaman Binahong. Berdasarkan pengalaman masyarakat menggunakan dengan cara tradisional, yaitu dengan menumbuk daun binahong dan ditempelkan pada bagian yang sakit atau membasuh luka dengan air rebusan daun Binahong. Penggunaan tanaman binahong ini masih dalam batas berdasar pengalaman, belum ada dasar bukti penelitian ilmiah (Webb dan Harrington, 2005).

Daun binahong banyak memiliki manfaat antara lain sebagai antiinflamasi, antioksidan, antibakteri, dan antianalgetik (Gupta, 2010). Binahong juga dapat dipercaya dapat menyembuhkan diabetes, wasir, penyakit jantung, tifus, reumatik, asam urat, luka, dan berbagai macam penyakit lainnya (Manoi, 2009).

Daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) memiliki kandungan senyawa bioaktif misalnya flavonoid dan senyawa saponin. Senyawa flavonoid dalam daun binahong bersifat sebagai antiinflamasi karena kemampuannya mencegah oksidasi. Senyawa saponin mempunyai

kemampuan membunuh atau mencegah pertumbuhan dari mikroorganisme yang timbul pada luka sehingga luka tidak mengalami infeksi berat (Paju, 2013). Saponin yang memiliki manfaat dalam meningkatkan jumlah sel fibroblas dan menstimulasi pembentukan kolagen (Astuti dkk, 2011). Pembentukan kolagen dipengaruhi oleh kandungan vitamin C dalam daun binahong (Nur, 2010).

Penggunaan daun binahong untuk menyembuhkan luka bakar dapat dipermudah dengan membuat dalam bentuk sediaan seperti salep, krim dan gel. Pada penelitian ini akan diteliti potensi ekstrak etanol daun Binahong dalam menyembuhkan luka bakar dengan parameter yang digunakan adalah jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen. Proses ekstraksi daun binahong diacu dari jurnal penelitian terdahulu dimana menggunakan metode maserasi, selain itu metode ekstraksi maserasi mempunyai beberapa keuntungan yaitu menggunakan pelarut tunggal, prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana dan merupakan ekstraksi dingin sehingga bahan alam yang tidak tahan pemanasan tidak mudah terurai. Pelarut yang digunakan pada penelitian ini juga diacu dari penelitian terdahulu yaitu menggunakan pelarut etanol. Pelarut etanol juga mempunyai beberapa kelebihan yaitu merupakan pelarut *universal* yang mampu melarutkan senyawa metabolit sekunder, mudah diperoleh karena harganya murah, tidak berbahaya dan memiliki kemampuan menyari dengan polaritas yang lebar mulai dari senyawa nonpolar sampai dengan polar (Saifudin, Rahayu dan Teruna, 2011). Ekstrak daun binahong diaplikasikan pada sediaan salep dengan dasar pemikiran salep memiliki kelebihan seperti sebagai pelindung untuk mencegah kontak permukaan kulit dengan rangsang kulit, stabil dalam penggunaan, mudah dipakai, dan mudah terdistribusi merata (Ansel, 1985).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Paju dkk (2013) menyatakan salep ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) efektif

menyembuhkan luka yang terinfeksi *Staphylococcus aureus* pada kelinci (*Oryctogalus cuniculus*) dengan konsentrasi 10%. Pada penelitian digunakan 10%, 20% dan 40% dalam bentuk sediaan salep.

Rahma (2014) melakukan uji pengaruh pemberian salep ekstrak daun binahong terhadap reepitalisasi pada luka bakar. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong pada konsentrasi 10%, 20%, dan 40% memiliki pengaruh terhadap peningkatan ketebalan reepitalisasi pada proses penyembuhan luka bakar.

Berdasarkan uraian diatas serta didukung penelitian sebelumnya yang menunjukkan adanya pengaruh bermakna pada pemberian daun binahong topikal terhadap penyembuhan luka bakar, maka sangat menarik dilakukan penelitian lebih lanjut yang lebih disempurnakan. Antara lain pada penelitian ini menggunakan sediaan topikal ekstrak daun binahong dalam bentuk salep agar memudahkan hasil penelitian dilakukan dengan konsentrasi 20% dan 40%. Alasan pemilihan kedua konsentrasi ini, karena pada penelitian sebelumnya menggunakan konsentrasi 10% yang mana proses penyembuhan luka lebih lama dibandingkan konsentrasi 20% dan 40% (Paju dkk, 2013) . Kemudian pengamatan hasil penelitian dilakukan dengan lebih teliti yaitu secara mikroskopis menggunakan parameter peningkatan jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen pada penyembuhan luka bakar derajat II pada tikus wistar.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian ekstrak etanol daun Binahong dalam konsentrasi 20% dan 40% dapat mempengaruhi jumlah fibroblas pada penyembuhan luka bakar kulit tikus?

2. Apakah pemberian ekstrak etanol daun Binahong dalam konsentrasi 20% dan 40% dapat mempengaruhi ketebalan kolagen pada penyembuhan luka bakar kulit tikus?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun Binahong terhadap jumlah fibroblas pada penyembuhan luka bakar kulit tikus.
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun Binahong terhadap ketebalan kolagen pada penyembuhan luka bakar kulit tikus.

1.4 Hipotesis Penelitian

1. Pemberian ekstrak etanol daun Binahong dalam bentuk sediaan salep dapat berpengaruh terhadap jumlah fibroblas pada penyembuhan luka bakar kulit tikus.
2. Pemberian ekstrak etanol daun Binahong dalam bentuk sediaan salep dapat berpengaruh terhadap ketebalan kolagen pada penyembuhan luka bakar kulit tikus.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk melengkapi penjelasan ilmiah mengenai khasiat dari ekstrak tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) yang diberikan secara topikal sebagai obat bahan alam untuk pengobatan luka bakar.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia*)

2.1.1 Morfologi tanaman

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) adalah tanaman obat potensial yang dapat mengatasi berbagai jenis penyakit. Tanaman ini berasal dari dataran Cina dengan nama asalnya Dheng san chi, di Inggris disebut *madeira vine* (Manoi, 2009). Binahong memiliki batang lunak, silindris, saling membelit, bagian dalam solid, permukaan halus, kadang membentuk semacam umbi yang melekat pada ketiak daun dengan bentuk tak beraturan dan bertekstur kasar. Tanaman ini berdaun tunggal, bertangkai sangat pendek, tersusun berseling, berwarna hijau, bentuk jantung, panjang 5-13 cm, lebar 3-12 cm, helaian daun tipis lemas, ujung runcing, pangkal berlekuk, tepi rata dan memiliki permukaan yang licin. Bunga majemuk berbentuk tanda, bertangkai panjang, muncul di ketiak daun, mahkota berwarna krem keputih-putihan berjumlah lima helai tidak berlekatan, panjang helai mahkota 0,5-1 cm, berbau harum. Akar berbentuk rimpang, berdaging lunak (BPOM, 2008). Tanaman binahong dapat dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1. Tanaman binahong (*Anredera cordifolia*)
(BPOM RI, 2008).

2.1.2 *Klasifikasi tanaman binahong*

Berdasarkan penggolongan dan tata nama tumbuhan, klasifikasi tanaman binahong adalah sebagai berikut (Cronquist, 1981):

| | |
|--------------|------------------------------|
| Kingdom | : Plantae |
| Subkingdom | : Tracheobionta |
| Super Divisi | : Spermatophyta |
| Divisi | : Magnoliophyta |
| Kelas | : Magnoliopsida |
| Sub Kelas | : Hamamelidae |
| Ordo | : Caryophyllales |
| Famili | : Basellaceae |
| Genus | : <i>Anredera</i> |
| Spesies | : <i>Anredera cordifolia</i> |

2.1.3 *Nama lain*

Anredera cordifolia memiliki nama lain, yaitu: *Boussingaultia gracilis* Miers, *Boussingaultia cordifolia*, *Boussingaultia baselloides* (BPOM RI, 2008).

2.1.4 *Nama daerah*

Anredera cordifolia (TEN) Steenis memiliki nama daerah yaitu: gandola (Sunda), gondola (Bali), lembayung (Minangkabau), genjerot, gedrek, uci-uci (Jawa), kandula (Madura), tatabuwe (Sulawesi Utara), *poiloo* (Gorontalo), kandola (Timor) (Hariana, 2013).

2.1.5 *Nama asing*

Anredera cordifolia (Ten) Steenis memiliki nama asing yaitu: *Dheng Shan Chi* atau (Cina), madeira vine atau *heartleaf* (Inggris) (Hariana, 2013).

2.1.6 *Manfaat dan kandungan kimia tanaman binahong*

Manfaat tanaman ini sangat besar dalam dunia pengobatan. Secara empiris binahong juga dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Dalam pengobatan, bagian tanaman yang dapat digunakan dapat berasal dari akar, batang, daun, dan bunga maupun umbi yang menempel pada ketiak daun. Tanaman ini dikenal sebagai sebutan *Madeira vine* dipercaya memiliki kandungan antioksidan tinggi dan antivirus. Beberapa penyakit yang dapat disembuhkan dengan menggunakan tanaman ini adalah diabetes, kerusakan ginjal, pembengkakan jantung, tifus, stroke, wasir, rematik, melancarkan dan menormalkan peredaran dan tekanan darah, kolesterol, menyembuhkan segala luka-luka dalam dan khitanan, radang usus, sembelit, sesak napas, sariawan berat, pusing-pusing, sakit perut, menurunkan panas tinggi, maag, asam urat, keputihan, dan pembengkakan hati, selain itu tanaman binahong juga dapat digunakan untuk pemulihan pasca operasi, pemulihan pasca melahirkan, menyuburkan kandungan, meningkatkan vitalitas dan daya tahan tubuh (Manoi, 2009).

Rachmawati (2007) telah melakukan skrining fitokimia daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) dengan melakukan maserasi terhadap serbuk kering daun dengan menggunakan pelarut n-heksana dan metanol didapatkan kandungan kimia berupa saponin, terpenoid, flavonoid, dan minyak atsiri. Rochani (2009), melakukan ekstraksi dengan cara maserasi daun binahong dengan menggunakan pelarut petroleum eter, etil asetat, dan etanol, setelah dilakukan uji tabung ditemukan kandungan alkaloid, saponin, dan flavonoid, sedangkan analisis secara KLT ditemukan senyawa alkaloid, saponin, dan flavonoid. Senyawa lain yang terdapat dalam daun binahong adalah asam oleanat. Asam oleanat berkhasiat sebagai antiinflamasi dan mengurangi nyeri pada luka bakar, dan *ancordin* yang berkhasiat untuk menstimulasi pembentukan antibodi dan menstimulasi

pembentukan *nitric oxide*. *Nitric oxide* dapat meningkatkan sirkulasi darah yang membawa nutrient ke sel, merangsang produksi hormon pertumbuhan dan mengganti sel yang rusak dengan sel yang baru (Aini, 2014).

2.2 Tinjauan tentang simplisia

2.2.1 Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan dan kecuali dinyatakan lain, merupakan bahan yang dikeringkan. Ada tiga golongan simplisia yaitu simplisia nabati, hewani dan mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia nabati merupakan simplisia yang paling banyak digunakan sebagai bahan baku ekstrak obat untuk bahan obat tradisional. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang berupa bahan pelikan atau bahan mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (DepKes RI, 1989).

Simplisia secara umum merupakan produk hasil pertanian tumbuhan obat setelah melalui proses pasca panen dan proses preparasi secara sederhana menjadi bentuk produk kefarmasian yang siap dipakai atau siap diproses selanjutnya yaitu :

1. Siap dipakai dalam bentuk serbuk halus untuk diseduh sebelum diminum (jamu).
2. Siap dipakai untuk dicacah dan digodok sebagai jamu godokan (infus).

3. Diproses selanjutnya untuk dijadikan produk sediaan farmasi lain yang umumnya melalui proses ekstraksi, separasi, dan pemurnian, yaitu menjadi ekstrak, fraksi, atau bahan isolat senyawa murni (Ditjen POM RI, 2000).

Simplisia sebagai produk hasil pertanian atau pengumpulan tumbuhan liar (*wild crop*) tentu saja kandungan kimianya tidak dapat dijamin selalu ajeg (konstan) karena disadari adanya variabel bibit, tempat tumbuh, iklim, kondisi (umur dan cara) panen, serta proses pasca panen dan preparasi akhir. Walaupun ada juga pendapat bahwa variabel tersebut tidak besar akibatnya pada mutu ekstrak nantinya dan dapat dikompensasi dengan penambahan/pengurangan bahan setelah sedikit prosedur analisis kimia dan sentuhan inovasi teknologi farmasi lanjutan sehingga tidak berdampak banyak pada khasiat produknya (Ditjen POM RI, 2000).

2.2.2 *Proses pembuatan simplisia*

Pada umumnya proses pembuatan simplisia melalui tahapan sebagai berikut: pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, pengepakan dan penyimpanan (DepKes RI, 1985).

a. Pengumpulan bahan baku

Waktu panen sangat erat hubungannya dengan pembentukan senyawa aktif di dalam bagian tanaman yang akan dipanen. Waktu panen yang tepat pada saat bagian tanaman tersebut mengandung senyawa aktif dalam jumlah yang tersebar (DepKes RI, 1985).

b. Sortasi basah

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing dari simplisia sebelum proses pengeringan. Pengotor luar dapat berupa tanah, kerikil, rumput, tumbuhan lain dan sebagainya,

sedangkan pengotor dalam yaitu berasal dari tumbuhannya sendiri yang tidak diinginkan. Sortasi basah dapat membersihkan simplisia dari tanah, sehingga dapat mengurangi berbagai jenis mikroba awal (DepKes RI, 1985).

c. Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lain yang masih tersisa setelah dicuci dengan air bersih, misalnya air dari mata air, air sumur atau air PAM (bebas *Pseudomonas*, *Proteus*, *Streptococcus*, *Enterobacter*, dan *Escherichia*). Pencucian tidak dapat membersihkan simplisia dari semua mikroba karena air pencucian yang digunakan biasanya mengandung sejumlah mikroba. Oleh karena itu, air yang digunakan untuk mencuci seharusnya air yang bersih. Pencucian diharapkan tidak menambah pengotor bakteri pada simplisia. Pencucian dapat dilakukan dengan berbagai cara, misalnya dengan mengalirkan air melalui bahan simplisia dan dengan cara pengocokan. Simplisia yang mengandung zat yang mudah larut dalam air, diusahakan agar pencuciannya sesingkat mungkin (DepKes, 1985).

d. Perajangan

Beberapa jenis simplisia perlu mengalami proses perajangan. Perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan. Tanaman yang baru diambil jangan langsung dirajang tetapi dijemur dalam keadaan utuh selama satu hari (DepKes RI, 1985).

e. Pengeringan

Tujuan pengeringan simplisia adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang relatif lebih lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan mencegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia. Reaksi enzimatik dapat dicegah dengan cara merendam bahan simplisia dalam etanol 70% atau dengan mengaliri uap panas. Dari hasil penelitian diketahui bahwa reaksi enzimatik tidak berlangsung bila kadar air dalam simplisia kurang dari 10%.

Dengan demikian proses pengeringan sudah dapat menghentikan proses enzimatik dalam sel bila kadar airnya dapat mencapai kurang dari 10%.

Pada dasarnya dikenal dua cara pengeringan yaitu pengeringan secara alamiah dan buatan, tergantung dari senyawa aktif yang dikandung dalam bagian tanaman yang dikeringkan, maka pengeringan secara alamiah dapat dilakukan dengan dua cara yaitu pertama dengan menggunakan cahaya matahari langsung dimana cara ini dilakukan untuk mengeringkan bagian tanaman yang relatif keras seperti kayu, kulit kayu, biji, dan sebagainya dan mengandung senyawa aktif yang relatif stabil. Kedua, diangin-anginkan dan tidak dipanaskan dengan sinar matahari langsung. Cara ini terutama digunakan untuk mengeringkan bagian tanaman yang lunak seperti bunga, daun, dan sebagainya dan mengandung senyawa aktif yang mudah menguap.

Pengeringan secara buatan menggunakan suatu alat atau mesin pengering yang suhu, kelembaban, tekanan dan aliran udaranya dapat diatur. Dengan menggunakan cara pengeringan buatan dapat diperoleh simplisia dengan mutu yang lebih baik karena pengeringan akan merata dan waktu pengeringan lebih cepat tanpa dipengaruhi keadaan cuaca. Hal-hal yang perlu diperhatikan selama pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan. Dengan demikian diperoleh simplisia yang tidak mengalami kerusakan (DepKes RI, 1985).

f. Sortasi kering

Sortasi setelah pengeringan sebenarnya merupakan tahap akhir pembuatan simplisia. Tujuan sortasi adalah untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor-pengotor lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. Proses ini dilakukan sebelum simplisia dibungkus untuk kemudian disimpan. Pada simplisia bentuk rimpang, sering jumlah akar yang melekat pada rimpang

terlampau besar dan harus dibuang. Demikian pula adanya partikel-partikel pasir, besi dan benda-benda tanah lain yang tertinggal harus dibuang sebelum simplisia dibungkus (DepKes RI, 1985).

g. Pengepakan dan penyimpanan

Pengepakan dapat dilakukan dengan berat atau jumlah tertentu untuk memudahkan penentuan jumlahnya. Wadah yang digunakan untuk pengepakan harus bersifat tidak beracun dan tidak beraksi dengan isinya sehingga tidak menyebabkan terjadinya reaksi serta penyimpangan warna, bau, rasa dan sebagainya pada simplisia. Selain itu wadah harus melindungi simplisia dari cemaran mikroba, kotoran dan serangga serta mempertahankan senyawa aktif yang mudah menguap, masuknya uap air dan gas-gas lainnya yang dapat menurunkan mutu simplisia. Untuk simplisia yang tidak tahan terhadap sinar, diperlukan wadah yang dapat melindungi simplisia dari cahaya (DepKes RI, 1985).

2.3 Tinjauan tentang ekstraksi

2.3.1 Definisi ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia, maka akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Ditjen POM RI, 2000).

2.3.2 Proses pembuatan ekstrak

a. Pembuatan serbuk simplisia dan klasifikasinya

Menurut Ditjen POM (2000), proses awal pembuatan ekstrak adalah tahapan pembuatan serbuk simplisia kering (penyerbukan). Dari simplisia

dibuat serbuk simplisia dengan peralatan tertentu sampai derajat kehalusan tertentu. Proses ini dapat mempengaruhi mutu ekstrak dengan dasar beberapa hal sebagai berikut :

1. Makin halus serbuk simplisia, proses ekstraksi makin efektif, efisien, namun makin halus serbuk maka makin sulit secara teknologi peralatan untuk tahap filtrasi.
 2. Selama penggunaan peralatan penyerbukan dimana ada gerakan dan interaksi dengan benda keras (logam, dll), maka akan timbul panas yang dapat berpengaruh pada senyawa kandungan.
- b. Cairan pelarut

Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, dengan demikian senyawa tersebut dapat dipisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan. Dalam hal ekstrak total, maka cairan pelarut dipilih adalah yang melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung. Faktor utama untuk pertimbangan pada pemilihan cairan penyari adalah sebagai berikut :

1. Selektivitas
2. Kemudahan bekerja dan proses dengan cairan tersebut
3. Ekonomis
4. Ramah lingkungan
5. Keamanan

Namun kebijakan dan peraturan pemerintahan dalam hal ini juga ikut membatasi, cairan pelarut apa yang diperbolehkan dan mana yang dilarang. Pada prinsipnya cairan pelarut harus memenuhi syarat kefarmasian atau dalam perdagangan dikenal dengan kelompok spesifikasi "*Pharmaceutical Grade*". Sampai saat ini berlaku aturan bahwa pelarut yang

diperbolehkan adalah air dan alkohol (etanol) serta campurannya. Jenis pelarut lain seperti metanol, heksan, toluen, kloroform, aseton, umumnya digunakan sebagai pelarut untuk tahap separasi dan tahap pemurnian (fraksinasi). Khusus metanol, dihindari penggunaannya karena sifat yang toksik akut dan kronik, namun demikian jika dalam uji ada sisa pelarut dalam ekstrak menunjukkan negatif, maka metanol sebenarnya pelarut yang lebih baik dari etanol (Ditjen POM RI, 2000).

c. Separasi dan pemurnian

Tujuan dari tahapan ini adalah menghilangkan (memisahkan senyawa) yang tidak dikehendaki semaksimal mungkin tanpa berpengaruh pada senyawa kandungan yang dikehendaki, sehingga diperoleh ekstrak yang lebih murni.

d. Pemekatan/ penguapan (vaporasi dan evaporasi)

Pemekatan berarti peningkatan jumlah partikel solut (senyawa terlarut) dengan cara menguapkan pelarut tanpa sampai menjadi kondisi kering. Ekstrak hanya menjadi kental/ pekat.

e. Rendemen

Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal.

2.3.3 *Metode ekstraksi*

Ada beberapa metode ekstraksi menurut Ditjen POM (2000) yaitu:

a. Cara dingin

1. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia yang dihaluskan sesuai dengan syarat farmakope (umumnya

terpotong-terpotong atau berupa serbuk kasar) disatukan dengan bahan pengestraksi. Selanjutnya rendaman tersebut disimpan terlindung cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalis cahaya atau perubahan warna) dan dikocok berulang-ulang (kira-kira 3 kali sehari). Waktu lamanya maserasi berbeda-beda, masing-masing farmakope mencantumkan 4-10 hari. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengestraksi, akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Voigt, 1995).

2. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat).

Perkolasi dilakukan dalam wadah berbentuk silindris atau kerucut (perkolator) yang memiliki jalan masuk dan keluar yang sesuai. Bahan pengestraksi yang dialirkan secara kontinyu dari atas, akan mengalir turun secara lambat melintasi simplisia yang umumnya berupa serbuk kasar. Melalui penyegaran bahan pelarut secara kontinyu, akan terjadi proses maserasi bertahap banyak. Jika pada maserasi sederhana tidak terjadi ekstraksi sempurna dari simplisia oleh karena akan terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan dalam sel dengan cairan disekelilingnya, maka pada perkolasi melalui simplisia bahan pelarut segar, perbedaan konsentrasi tadi selalu dipertahankan. Dengan demikian ekstraksi total secara teoritis dimungkinkan (praktis jumlah bahan yang dapat diekstraksi mencapai 95%) (Voigt, 1995).

Proses terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan atau penampungan ekstrak,

terus-menerus sampai diperoleh ekstrak atau perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Ditjen POM RI, 2000).

b. Cara panas

1. Refluks

Refluks adalah ekstraksi pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Ditjen POM, 2000).

2. Digesti

Digesti adalah maserasi dengan pengadukan kontinyu pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan yaitu temperatur 40-50°C (Ditjen POM RI, 2000).

3. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C selama waktu tertentu (15-20 menit) (Ditjen POM RI, 2000).

4. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air (Ditjen POM RI, 2000).

5. Sokletasi

Soxhletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus yang sampelnya dibungkus dengan kertas saring sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Ditjen POM, 2000).

2.4 Tinjauan tentang ekstrak

2.4.1 Definisi ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Sebagian besar ekstrak dibuat dengan mengekstraksi bahan baku secara perkolasi. Seluruh perkolat biasanya dipekatkan secara destilasi dengan pengurangan tekanan, agar bahan sesedikit mungkin terkena panas (DepKes RI, 1980). Jika ekstrak bahan tumbuhan, bahan pengekstraksinya sebagian atau seluruhnya diuapkan maka akan diperoleh ekstrak yang dapat dikelompokkan atas dasar sifatnya menjadi:

a. Ekstrak cair

Adalah sediaan cair dari simplisia nabati yang mengandung etanol sebagai pelarut atau sebagai pengawet. Jika tidak dinyatakan lain pada masing-masing monografi tiap ml ekstrak mengandung senyawa aktif dari 1 g simplisia yang memenuhi syarat. Ekstrak cair yang cenderung membentuk endapan dapat didiamkan dan disaring atau bagian yang bening dituangkan (dekantasi). Beningan yang diperoleh memenuhi persyaratan farmakope. Ekstrak cair dapat dibuat dari ekstrak yang sesuai (Ditjen POM RI, 2000).

b. Ekstrak kental (*extractum spissum*)

Sediaan ini kental pada keadaan dingin dan tidak dapat dituang. Kandungan airnya berjumlah sampai 30%. Tingginya kandungan air dapat menyebabkan ketidakstabilan sediaan obat karena cemaran bakteri dan terjadinya peruraian bahan aktifnya. Ekstrak kental sulit ditakar (penimbangan dan sebagainya) (Ditjen POM RI, 2000).

c. Ekstrak kering (*extractum siccum*)

Sediaan ini memiliki konsistensi kering dan mudah digosokkan. Melalui penguapan cairan pengekstraksi dan pengeringan sisanya akan terbentuk suatu produk yang memiliki kandungan lembab tidak lebih dari 5 % (Ditjen POM RI, 2000).

2.4.2 *Faktor yang mempengaruhi mutu ekstrak*

Terpenuhi standar mutu produk/ bahan ekstrak tidak terlepas dari pengendalian proses artinya bahwa proses yang terstandar dapat menjamin produk terstandar. Inilah hal yang sementara ini banyak dilakukan, yaitu dengan bahan baku terstandar dan proses yang terkendali/ terstandar, maka akan diperoleh produk atau bahan ekstrak terstandar tanpa penerapan pengujian atau pemeriksaan. Namun hal ini tidak dapat dibiarkan untuk masa depan era globalisasi. Pengujian atau pemeriksaan persyaratan parameter standar umum ekstrak mutlak harus dilakukan dengan berpegang pada majemen pengendalian mutu eksternal oleh badan formal atau badan independen (Ditjen POM RI, 2000). Beberapa hal yang dapat mempengaruhi mutu ekstrak antara lain:

a. Faktor biologi

Mutu ekstrak dipengaruhi oleh bahan asal yaitu tumbuhan obatnya dan khusus dipandang dari segi biologi. Faktor biologi, baik untuk bahan dari tumbuhan obat hasil budidaya (kultivar) ataupun dari tumbuhan liar (*wild crop*) yang meliputi :

1. Identitas jenis (spesies): Jenis tumbuhan dari sudut keragaman hayati dapat dikonfirmasi sampai informasi genetik sebagai faktor internal untuk validasi jenis (spesies).
2. Lokasi tumbuhan asal: Lokasi berarti faktor eksternal, yaitu lingkungan (tanah dan atmosfer) dimana tumbuhan berinteraksi berupa energi

(cuaca, temperatur, cahaya) dan materi (air, senyawa organik dan anorganik).

3. Periode pemanenan hasil tumbuhan: Faktor ini merupakan dimensi waktu dari proses kehidupan tumbuhan terutama metabolisme sehingga menentukan senyawa kandungan. Kapan senyawa kandungan mencapai kadar optimal dari proses biosintesis dan sebaliknya kapan sebelum senyawa tersebut dikonversi/dibiotransformasi/biodegradasi menjadi senyawa lain.
4. Penyimpanan bahan tumbuhan: Merupakan faktor eksternal yang dapat diatur karena dapat berpengaruh pada stabilitas bahan serta adanya kontaminasi (biotik dan abiotik).
5. Umur tumbuhan dan bagian yang digunakan

Selain 5 faktor tersebut maka untuk bahan dari tumbuhan obat hasil budidaya (kultivar) ada lagi faktor GAP (*Good Agriculture Practice*) sedangkan untuk bahan tumbuhan liar (*wild crop*) ada faktor kondisi proses pengeringan yang umumnya dilakukan di lapangan.

b. Faktor kimia

Mutu ekstrak dipengaruhi oleh bahan asal yaitu tumbuhan obatnya, khususnya dipandang dari segi kandungan kimianya. Faktor kimia, baik untuk bahan dari tumbuhan obat hasil budidaya ataupun dari tumbuhan liar, meliputi beberapa hal yaitu:

- Faktor internal
- Jenis senyawa aktif dalam bahan
- Komposisi kualitatif senyawa aktif
- Komposisi kuantitatif senyawa aktif
- Kadar total rata-rata senyawa aktif
- Faktor eksternal
- Metode ekstraksi

- Perbandingan ukuran alat ekstraksi (diameter dan tinggi alat)
- Ukuran, kekerasan dan kekeringan bahan
- Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi
- Kandungan logam berat
- Kandungan pestisida

Mutu ekstrak ditinjau dan dipandang dari senyawa kimia yang dikandung didalamnya seiring dengan paradigma respon biologis yang diakibatkan oleh ekstrak pada manusia disebabkan oleh senyawa kimia, bukannya unsur lain seperti bioenergi dan spiritual. Senyawa kimia dalam ekstrak ditinjau dari asalnya dapat dibedakan menjadi 4 kelompok yaitu :

1. Senyawa kandungan asli dari tumbuhan asal

Senyawa asli sebenarnya berarti senyawa memang sudah ada sejak masa tumbuhan tersebut hidup. Jika proses preparasi simplisia dan ekstraksi dijamin tidak menyebabkan perubahan kimia, maka hasil analisis kimia terhadap ekstrak mencerminkan komposisi senyawa kandungan asli.

2. Senyawa hasil perubahan dari senyawa asli

Dari kajian dan riset memang sudah dapat diprediksi terjadi perubahan kimia senyawa asli karena memang sifat fisikokimia senyawa asli dan proses penstabil yang sulit.

3. Senyawa kontaminasi, baik sebagai polutan atau aditif proses

Senyawa kontaminasi merupakan senyawa eksogen yang tercampur pada ekstrak, baik polusi yang tidak terhindari atau sebagai sisa atau residu proses.

4. Senyawa hasil interaksi kontaminasi dengan senyawa asli atau senyawa perubahan

Pengertian dan kesadaran akan adanya 4 kelompok senyawa terkandung dalam ekstrak dan meningkatkan validasi standarisasi dan parameter mutu ekstrak. Kelompok pertama dan kedua terkait dengan

parameter standar umum yang bersifat spesifik sedangkan kelompok ketiga dan empat merupakan parameter standar umum nonspesifik.

2.5 Tinjauan tentang Standarisasi

2.5.1 Definisi standarisasi

Standarisasi adalah serangkaian proses yang melibatkan berbagai metode analisis kimiawi berdasarkan data farmakologis, melibatkan analisis fisik dan mikrobiologi berdasarkan kriteria umum keamanan (toksikologi) terhadap suatu ekstrak alam (Saifudin, Rahayu dan Teruna, 2011).

Standarisasi secara normatif ditujukan untuk memberikan efikasi yang terukur secara farmakologis dan menjamin keamanan konsumen. Standarisasi obat herbal meliputi dua aspek:

- a. Aspek parameter spesifik: berfokus pada senyawa atau golongan senyawa yang bertanggungjawab terhadap aktivitas farmakologis. Analisis kimia yang dilibatkan ditujukan untuk analisa kualitatif dan kuantitatif terhadap senyawa aktif.
- b. Aspek parameter non spesifik: berfokus pada aspek kimia, mikrobiologi, dan fisik yang akan mempengaruhi keamanan konsumen dan stabilitas. Misal kadar logam berat, aflatoksin, kadar air dan lain-lain.

Standarisasi dalam kefarmasian tidak lain adalah serangkaian parameter, prosedur dan cara pengukuran yang hasilnya merupakan unsur-unsur terkait paradigma mutu kefarmasian, mutu dalam artian memenuhi syarat standar (kimia, biologi dan farmasi), termasuk jaminan (batas-batas) stabilitas sebagai produk kefarmasian umumnya. Dengan kata lain, pengertian standarisasi juga berarti proses menjamin bahwa produk akhir obat (obat, ekstrak atau produk ekstrak) mempunyai nilai parameter tertentu yang konstan dan ditetapkan terlebih dahulu. Terdapat dua faktor yang

mempengaruhi mutu yaitu faktor biologi dari bahan asal tanaman obat dan faktor kandungan kimia bahan obat tersebut (Ditjen POM RI, 2000).

2.6 Parameter Mutu Simplisia dan Ekstrak

2.6.1 Parameter spesifik

Parameter spesifik adalah parameter terkait kandungan kimia dalam simplisia dan ekstrak yang berperan terhadap efek farmakologis. Pengamatan parameter spesifik yaitu organoleptis, uji kandungan kimia ekstrak dan penetapan kadar senyawa terlarut (Direktorat Jenderal POM RI, 2000).

Parameter spesifik menurut buku Parameter Standar Umum Ekstrak Tanaman Obat meliputi:

- a. Identitas: mendeskripsikan tata nama meliputi nama simplisia dan/ atau ekstrak (generik, dagang, paten), nama latin tanaman (sistematika botani), bagian tanaman yang digunakan (rimpang, daun dsb) dan nama Indonesia tanaman (Ditjen POM RI, 2000). Pada Binahong, nama simplisia adalah *Anrederae Folium* (simplisia daun binahong), nama latin: *Anredera cordifolia*, bagian tanaman yang digunakan yakni daun, dan nama Indonesia dari tanaman adalah Binahong (Paskartini, 2017).
- b. Organoleptis: parameter organoleptik meliputi penggunaan panca indera mendeskripsikan bentuk, warna, bau, rasa guna pengenalan awal yang sederhana seobjektif mungkin (Ditjen POM RI, 2000). Pengamatan organoleptis terhadap daun Binahong menunjukkan hasil yakni bentuk berupa serbuk simplisia kasar, berwarna coklat tua dan memiliki bau aromatis (Paskartini, 2017).
- c. Senyawa terlarut dalam pelarut tertentu: melarutkan simplisia dan ekstrak dengan pelarut (alkohol/air) untuk ditentukan jumlah larutan yang identik dengan jumlah kandungan senyawa secara gravimetrik. Dalam hal tertentu dapat diukur senyawa terlarut dalam pelarut lain misalnya

heksana, diklorometan, dan metanol. Tujuannya untuk memberikan gambaran awal jumlah senyawa kandungan (Ditjen POM RI, 2000).

2.6.2 *Parameter non spesifik*

Penentuan parameter non spesifik yaitu penentuan aspek kimia, mikrobiologi, dan fisik yang akan mempengaruhi keamanan konsumen dan stabilitas (Saifudin, Rahayu dan Teruna, 2011). Parameter non spesifik menurut buku Parameter Standar Umum Ekstrak Tanaman Obat, meliputi:

a. Susut pengeringan

Parameter susut pengeringan adalah suatu pengukuran sisa zat setelah pengeringan pada temperatur 105°C selama 30 menit atau sampai berat konstan, yang dinyatakan sebagai prosen. Dalam hal khusus (jika bahan tidak mengandung minyak menguap atau atsiri dan sisa pelarut organik menguap) identik dengan kadar air yaitu kandungan air karena berada di atmosfer atau lingkungan udara terbuka. Parameter ini bertujuan untuk memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Nilai maksimal atau rentang yang diperbolehkan, terkait dengan kemurnian dan kontaminasi (Ditjen POM RI, 2000). Susut pengeringan untuk simplisia daun Binahong adalah kurang dari 9% (Paskartini, 2017).

b. Bobot jenis

Parameter bobot jenis adalah massa per satuan volume yang diukur pada suhu kamar tertentu (25°C) yang menggunakan alat khusus piknometer atau alat lainnya. Tujuannya adalah memberikan batasan tentang besarnya masa persatuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai ekstrak pekat (kental) yang masih dapat dituang, bobot jenis juga terkait dengan kemurnian dari bahan dan kontaminasi (Ditjen POM RI,

2000). Bobot jenis simplisia daun Binahong adalah 0,89 sampai 1,03 g/cm³ (Paskartini, 2017).

c. Kadar air

Kadar air adalah pengukuran kandungan air yang berada di dalam bahan dilakukan dengan cara yang tepat diantaranya cara titrasi, destilasi, atau gravimetri. Pengukuran kadar air dilakukan untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air didalam bahan. Menurut literatur, kadar air dalam simplisia tidak boleh lebih dari 10%. Hal ini bertujuan untuk menghindari cepatnya pertumbuhan jamur dalam simplisia (Ditjen POM, 2000). Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Paskartini (2017), kadar air simplisia daun Binahong adalah kurang dari 8%.

d. Kadar abu total

Parameter kadar abu adalah bahan yang dipanaskan pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap, sehingga tinggal unsur mineral dan anorganik yang memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses bahan baku dibuat. Parameter kadar abu ini terkait dengan kemurnian dan kontaminasi suatu bahan. Semakin sedikit kadar abu yang terkandung menunjukkan sedikitnya mineral internal (anorganik) dalam bahan (Ditjen POM RI, 2000). Untuk simplisia daun Binahong, kadar abu total adalah kurang dari 14% (Paskartini, 2017).

e. Kadar abu larut air

Penetapan kadar abu larut air merupakan lanjutan proses dari penetapan kadar abu, dimana abu yang telah didapatkan dari hasil pemijaran dilarutkan di dalam air 25 ml yang mendidih selama 5 menit (Ditjen POM RI, 2000). Kadar abu larut air dari simplisia daun Binahong adalah kurang dari 13% (Paskartini, 2017).

f. Kadar abu larut asam

Penetapan kadar abu larut asam dilakukan dengan mendidihkan hasil penetapan kadar abu dengan menambahkan 25 ml asam klorida encer P selama 5 menit dan hasil yang tidak larut dihitung terhadap bahan yang dikeringkan di udara (Ditjen POM RI, 2000). Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Paskartini (2017), kadar abu tidak larut asam untuk simplisia daun Binahong adalah kurang dari 2%.

g. Sisa pelarut

Paramater ini dilakukan dengan menentukan kandungan sisa pelarut tertentu yang secara umum dengan kromatografi gas. Untuk ekstrak cair berarti kandungan pelarutnya, misalnya kadar alkohol. Hal ini bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa selama proses tidak meninggalkan sisa pelarut yang memang seharusnya tidak boleh ada sesuai dengan yang ditetapkan (Ditjen POM RI, 2000).

h. Residu pestisida

Paramater ini digunakan untuk menentukan kandungan sisa pestisida yang mungkin saja pernah ditambahkan atau mengkontaminasi pada bahan simplisia pembuatan ekstrak. Hal ini bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak mengandung pestisida melebihi nilai yang ditetapkan karena berbahaya (toksik) bagi kesehatan (Ditjen POM RI, 2000).

i. Cemar logam berat

Parameter cemaran logam berat ditentukan secara spektroskopi serapan atom atau lainnya yang lebih valid. Hal ini bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak mengandung logam berat tertentu (Hg, Pb, dan lain-lain) melebihi nilai yang ditetapkan karena berbahaya (toksik) bagi kesehatan (Ditjen POM RI, 2000).

j. Cemaran Mikroba

Hal ini bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak

boleh mengandung mikroba patogen dan tidak mengandung mikroba non patogen melebihi batas yang ditetapkan karena berpengaruh pada stabilitas ekstrak dan berbahaya bagi kesehatan (Ditjen POM RI, 2000).

k. Cemaran kapang, khamir dan aflatoksin

Parameter ini digunakan untuk menentukan adanya jamur secara mikrobiologis dan adanya aflatoksin dengan KLT. Hal ini bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak mengandung cemaran jamur melebihi batas yang ditetapkan karena berpengaruh pada stabilitas ekstrak dan aflatoksin yang berbahaya bagi kesehatan (Ditjen POM RI, 2000).

2.7 Tinjauan tentang Kromatografi Lapis Tipis Senyawa Flavonoid

Kromatografi lapis tipis merupakan uji untuk menegaskan hasil skrining fitokimia. Pemeriksaan senyawa kimia dilakukan terhadap senyawa flavonoid. Menurut Markham (1988), bahwa eluen yang digunakan untuk memisahkan komponen dari bahan alam yang diduga mengandung senyawa flavonoid adalah n-butanol : asam asetat : air (BAA) dengan komposisi (4:1:5), dan metanol : kloroform (7:3) serta adanya flavonoid dapat ditunjukkan dengan adanya pepadaman bercak di bawah sinar UV 254 dan dengan pereaksi semprot sitoborat atau $AlCl_3$ akan terbentuk warna kuning. Noda-noda terpisah berdasarkan kepolarannya, noda yang mempunyai harga R_f lebih rendah cenderung memiliki kepolaran yang lebih tinggi karena lebih terdistribusi ke fase diam yang bersifat polar, dibandingkan dengan harga R_f yang lebih besar karena lebih terdistribusi ke dalam fase gerak. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fidrianny, Wirasutisna dan Amanda (2013), diperoleh senyawa flavonoid golongan flavonol yaitu kuersetin dengan menggunakan fase gerak kloroform : methanol (10:1). Penelitian lain yang dilakukan oleh Rahmawati, Fachriyah dan Kusriani (2012) menggunakan fase gerak kloroform : n-heksan : diklorometan (3:1:2) menunjukkan adanya

senyawa flavonoid. Beberapa penelitian lainnya juga dengan fase gerak etil asetat P : asam format P : air (5:1:1), n-butanol : asam asetat : air (4:1:5), kloroform : n-heksan : etil asetat (5:5:4) menunjukkan adanya kandungan senyawa flavonoid dalam ekstrak daun binahong (Firdausi, 2015; Andriyani dkk., 2015; Nuriyah, Binti dan Munawaroh, 2016). Harga Rf untuk senyawa flavonoid adalah Rf 0,5 untuk fase gerak kloroform : metanol : air (9,7:0,2:0,1), Rf 0,91 dan 0,96 untuk fase gerak petroleum eter : etil asetat (5:1), Rf 0,87 untuk fase gerak n-butanol : asam asetat : air (4:1:5) (Latifah, 2015).

2.8 Tinjauan tentang Kulit

2.8.1 Definisi kulit

Kulit adalah suatu jaringan pembungkus seluruh permukaan luar tubuh. Struktur kulit tersusun atas 2 lapis yaitu epidermis dan dermis. Kedua lapisan ini bersama-sama membentuk membran yang sangat erat melekat dan terletak diatas lapisan jaringan ikat longgar yaitu lapisan subkutan yang mempunyai banyak lemak dan menghubungkan kulit dengan struktur yang lebih dalam. Histologi kulit dapat dilihat pada gambar 2.2.

2.8.2 Epidermis

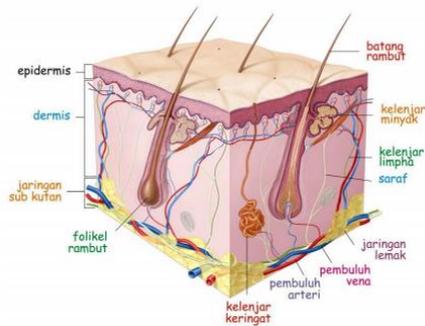
Epidermis adalah lapisan terluar kulit yang tipis dan avaskuler. Terdiri dari epitel berlapis gepeng, bertanduk, mengandung sel melanosit, lagerhans dan sel merkel. Fungsi utamanya adalah sebagai proteksi barrier, organisasi sel, sintesis vitamin D dan sitoksin, pembelahan dan mobilisasi sel, pigmentasi (melanosit) dan pengenalan alergen (sel lagerhans) (Perdanakusuma, 2007). Epidermis mempunyai melanosit yang berfungsi membuat melanin dan memberikan warna pada kulit. Fungsi lapisan epidermis adalah melindungi dari masuknya bakteri dan toksin, serta untuk keseimbangan cairan yaitu menghindari pengeluaran cairan secara berlebihan

(Suriadi, 2004). Ganeser (1994), menyatakan epidermis dapat berperan dalam mekanisme penyembuhan luka karena epidermis pada lapisan luar membentuk selaput yang terdiri dari sel-sel mati, lapisan tanduk atau stratum korneum, yang berisi protein keratin dan campuran kompleks lipid.

2.8.3 *Dermis*

Dermis atau korium adalah lapisan tebal jaringan ikat yang merupakan tempat melekatnya epidermis dan lapisan terdalamnya sampai ke jaringan subkutan yang berisi lemak tanpa suatu batas yang jelas. Dermis terletak dibawah epidermis dan dibatasi oleh lamina basalis. Tebalnya bervariasi, yang paling tebal terletak pada telapak kaki dan ukurannya sekitar 3 mm (Perdanakusuma, 2007). Suriadi (2004), menyatakan lapisan dermis lebih tebal dari lapisan epidermis. Fungsi utama lapisan ini adalah sebagai penyokong lapisan epidermis. Lapisan dermis strukturnya lebih kompleks dan terdapat dua lapisan bagian *superficial papillary* dan bagian dalam retikular dermis.

Regenerasi merupakan proses penyembuhan dari sel parenkim yang terjadi dengan mengganti sel yang rusak dengan sel baru yang sama sehingga fungsi tubuh atau jaringan akan pulih kembali dengan sempurna. Sedangkan regenerasi secara fisiologi disebut juga dengan sel labil karena pada proses ini sel yang pada saat tertentu mengalami nekrosis tetapi akan mengalami pembaharuan yang terjadi secara periodik dan sel akan terganti dengan sel yang sama (Sudiono *et al.*, 2003). Histologi kulit dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2. Histologi kulit
(Somantri, 2007).

Fungsi proteksi kulit adalah melindungi dari kehilangan cairan elektrolit, trauma mekanik, ultraviolet dan sebagai barier dari invasi mikroorganisme patogen. Kulit berperan pada pengaturan suhu dan keseimbangan cairan elektrolit. Termoregulasi dikontrol oleh hipotalamus. Temperatur perifer mengalami proses keseimbangan melalui keringat, paru-paru dan mukosa bukal. Temperatur kulit dikontrol dengan dilatasi atau kontriksi pembuluh darah kulit. Bila temperatur meningkat maka akan terjadi vasodilatasi pembuluh darah, kemudian tubuh akan mengurangi temperatur dengan melepas panas dari kulit dengan cara mengirim sinyal kimia yang dapat meningkatkan aliran darah di kulit. Pada temperatur yang menurun, akan terjadi vasokonstriksi pada pembuluh darah kulit yang kemudian akan mempertahankan panas (Perdanakusuma, 2007).

2.9 Tinjauan tentang Luka Bakar

2.9.1 Definisi luka bakar

Luka bakar adalah suatu bentuk kerusakan atau kehilangan jaringan yang disebabkan adanya kontak dengan sumber panas seperti api, air panas, bahan kimia, listrik dan radiasi. Kerusakan jaringan yang disebabkan api dan koloid

(misalnya bubur panas) lebih berat dibandingkan air panas. Ledakan dapat menimbulkan luka bakar dan menyebabkan kerusakan organ. Bahan kimia terutama asam menyebabkan kerusakan yang hebat akibat reaksi jaringan sehingga terjadi diskonfigurasi jaringan yang menyebabkan gangguan proses penyembuhan. Lama kontak jaringan dengan sumber panas menentukan luas dan kedalaman kerusakan jaringan. Semakin lama waktu kontak, semakin luas dan dalam kerusakan jaringan yang terjadi (Moenadjat, 2003).

2.9.2 *Derajat luka bakar*

Kerusakan yang ditimbulkan karena luka bakar bervariasi, mulai dari yang ringan yaitu rasa nyeri dan kulit berwarna merah sampai tubuh korban terbakar hangus. Berdasarkan kelainan yang bervariasi tersebut, dikenal pembagian luka bakar berdasarkan berat ringannya kerusakan yaitu: luka bakar derajat pertama, kedua dan ketiga (Idries, 1997). Kedalaman luka bakar ditentukan oleh tingginya suhu dan lamanya pejanan tingginya suhu (Syamsuhidayat dan Jong, 1997).

Menurut Moenadjat (2003), luka bakar dibedakan atas beberapa jenis :

1. Luka bakar derajat I

Luka bakar derajat I dengan kerusakan terbatas pada bagian superfisial epidermis, kulit kering, hiperemik memberikan fluoresensi berupa eritema, tidak melepuh, nyeri karena ujung saraf sensorik teriritasi. Luka sembuh dalam waktu 5-10 hari. Contohnya luka bakar akibat sengatan matahari.

2. Luka bakar derajat II

Kerusakan yang terjadi pada epidermis dan sebagian dermis, berupa reaksi inflamasi akut disertai proses eksudasi, melepuh, dasar luka berwarna merah atau pucat, terletak lebih tinggi di atas permukaan kulit normal, nyeri karena ujung-ujung saraf teriritasi. Luka bakar derajat II ada dua:

a) Derajat II dangkal (*superficial*)

Kerusakan yang mengenai bagian superficial dari dermis, *apendises* kulit seperti folikel rambut, kelenjar keringat. Luka sembuh dalam waktu 10-14 hari.

b) Derajat II dalam (*deep*)

Kerusakan yang mengenai hampir seluruh bagian dermis, *apendises* kulit, kelenjar keringat, kelenjar *sebacea*. Luka sembuh lebih dari 1 bulan.

3. Luka bakar derajat III

Kerusakan meliputi seluruh ketebalan dermis dan lapisan yang lebih dalam, *apendises* kulit seperti folikel rambut, kelenjar keringat, kelenjar *sebacea* rusak, tidak ada pelepasan, kulit berwarna abu-abu atau coklat, kering, letaknya lebih rendah dibandingkan kulit sekitar karena koagulasi protein pada lapisan epidermis dan dermis, tidak timbul rasa nyeri. Penyembuhan lama karena tidak ada proses epitelisasi spontan.

2.9.3 Patofisiologi

Luka bakar disebabkan oleh perpindahan energi dari sumber panas ke tubuh. Panas tersebut mungkin dipindahkan melalui konduksi atau radiasi elektromagnetik. Luka bakar dikategorikan sebagai luka bakar termal, radiasi atau luka bakar kimiawi (Effendi, 1999).

Akibat pertama luka bakar adalah syok karena kaget dan kesakitan. Pembuluh kapiler yang terpejan suhu tinggi rusak dan permeabilitas meninggi. Sel darah yang ada didalamnya ikut rusak sehingga dapat terjadi anemia (Syamsuhidayat dan Jong, 1997).

Luka bakar mengakibatkan peningkatan permeabilitas pembuluh darah sehingga air, natrium, klorida dan protein tubuh akan keluar dari dalam sel dan menyebabkan terjadinya edema yang dapat berlanjut pada keadaan hipofalaemi dan hemokonsentrasi (Effendi, 1999).

2.9.4 Fase Penyembuhan Luka

Luka adalah rusaknya sebagian jaringan tubuh. Keadaan ini dapat disebabkan oleh trauma benda tajam atau tumpul, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik, atau gigitan hewan (Syamsuhidayat dan Jong, 1997). Proses yang kemudian pada jaringan rusak ini adalah penyembuhan luka yang dapat dibagi dalam 3 fase:

1. Fase inflamasi

Pada fase inflamasi terjadi proses hemostasis yang cepat dan dimulainya suatu siklus regenerasi jaringan. Fase inflamasi dimulai segera setelah cedera sampai hari ke-5 pasca cedera. Tujuan utama fase ini adalah hemostasis, hilangnya jaringan yang mati dan pencegahan kolonisasi maupun infeksi oleh agen mikrobial patogen. Komponen jaringan yang mengalami cedera, meliputi *fibrillar collagen* dan *tissue factor*, akan mengaktifasi jalur koagulasi ekstrinsik dan mencegah perdarahan lebih lanjut pada fase ini. Pembuluh darah yang cedera mengakibatkan termobilisasinya berbagai elemen darah ke lokasi luka. Agregasi platelet akan membentuk plak pada pembuluh darah yang cedera. Selama proses ini berlangsung, platelet akan mengalami degranulasi dan melepaskan beberapa *growth factor*, seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF) dan *transforming growth factor* (TGF). Hasil akhir kaskade koagulasi jalur intrinsik dan ekstrinsik adalah konversi fibrinogen menjadi fibrin (Hidayat, 2013).

Berbagai mediator inflamasi yakni prostaglandin, *interleukin-1* (IL-1), *tumor necrotizing factor* (TNF), C5a, TGF- dan produk degradasi bakteri seperti lipopolisakarida (LPS) akan menarik sel netrofil sehingga menginfiltrasi matriks fibrin dan mengisi kavitas luka. Migrasi netrofil ke luka juga dimungkinkan karena peningkatan permeabilitas kapiler akibat terlepasnya serotonin dan histamin oleh *mast cell* dan jaringan ikat. Netrofil pada umumnya akan ditemukan pada 2 hari pertama dan berperan penting

untuk memfagositosis jaringan mati dan mencegah infeksi. Keberadaan netrofil yang berkepanjangan merupakan penyebab utama terjadinya konversi dari luka akut menjadi luka kronis yang tak kunjung sembuh. Makrofag juga akan mengikuti netrofil menuju luka setelah 48-72 jam dan menjadi sel predominan setelah hari ke-3 pasca cedera. Debris dan bakteri akan difagositosis oleh makrofag. Makrofag juga berperan utama memproduksi berbagai *growth factor* yang dibutuhkan dalam produksi matriks ekstraseluler oleh fibroblas dan pembentukan neovaskularisasi. Keberadaan makrofag oleh karenanya sangat penting dalam fase penyembuhan ini (Hidayat, 2013).

Limfosit dan *mast cell* merupakan sel terakhir yang bergerak menuju luka dan dapat ditemukan pada hari ke-5 sampai ke-7 pasca cedera. Peran keduanya masih belum jelas hingga saat ini. Fase ini disebut juga *lag phase* atau fase lamban karena reaksi pembentukan kolagen baru sedikit, belum ada *tensile strength*, di mana pertautan luka hanya dipertahankan oleh fibrin dan fibronektin. Sel punca mesenkim akan bermigrasi ke luka, membentuk sel baru untuk regenerasi jaringan baik tulang, kartilago, jaringan fibrosa, pembuluh darah, maupun jaringan lain. Fibroblas akan bermigrasi ke luka dan mulai berproliferasi menghasilkan matriks ekstraseluler. Sel endotel pembuluh darah di daerah sekitar luka akan berproliferasi membentuk kapiler baru untuk mencapai daerah luka. Ini akan menandai dimulainya proses angiogenesis. Pada akhir fase inflamasi, mulai terbentuk jaringan granulasi yang berwarna kemerahan, lunak dan granuler. Jaringan granulasi adalah suatu jaringan kaya vaskuler, berumur pendek, kaya fibroblas, kapiler dan sel radang tetapi tidak mengandung ujung saraf (Hidayat, 2013).

2. Fase Proliferasi

Fase proliferasi berlangsung mulai hari ke-4 hingga hari ke-21 pasca cedera. Keratinosit yang berada pada tepi luka sesungguhnya telah mulai bekerja

beberapa jam pasca cedera, menginduksi terjadinya reepitelialisasi. Pada fase ini matriks fibrin yang didominasi oleh platelet dan makrofag secara gradual digantikan oleh jaringan granulasi yang tersusun dari kumpulan fibroblas, makrofag dan sel endotel yang membentuk matriks ekstraseluler dan neovaskular (Ristaningsih, 2016; Hidayat, 2013).

Pada fase destruktif, sel polimorf dan makrofag membunuh bakteri jahat dan terjadi proses debris luka. Pada fase ini, makrofag juga berfungsi menstimulasi fibroblas untuk menghasilkan kolagen tipe III, elastin dan terjadi proses angiogenesis. Kolagen dan elastin yang dihasilkan menutupi luka dengan membentuk ikatan jaringan baru. Proses ini disebut proses granulasi, yaitu tumbuhnya sel-sel yang baru. Epitelisasi terjadi setelah tumbuh jaringan granulasi dan dimulai dari tepi luka yang mengalami proses migrasi membentuk lapisan tipis berwarna merah muda menutupi luka. Sel pada lapisan ini sangat rentan dan mudah rusak. Sel mengalami pergeseran, tepi luka menyatu hingga ukuran luka mengecil (Ristaningsih, 2016). Regresi jaringan desmosom antar keratinosit mengakibatkan terlepasnya keratinosit untuk bermigrasi ke daerah luka. Keratinosit juga bermigrasi secara aktif karena terbentuknya filamen aktin di dalam sitoplasma keratinosit. Matriks temporer ini akan digantikan secara bertahap oleh jaringan granulasi yang kaya akan fibroblas, makrofag dan sel endotel. Sel tersebut akan membentuk matriks ekstraseluler dan pembuluh darah baru. Jaringan granulasi umumnya mulai dibentuk pada hari ke-4 setelah cedera (Hidayat, 2013).

Fibroblas merupakan sel utama selama fase ini dimana ia menyediakan kerangka untuk migrasi keratinosit. Makrofag juga akan menghasilkan *growth factor* seperti PDGF dan TGF- β yang akan menginduksi fibroblas untuk berproliferasi, migrasi dan membentuk matriks ekstraseluler. Matriks temporer ini secara bertahap akan digantikan oleh kolagen tipe III. Sel endotel akan membentuk pembuluh darah baru dengan

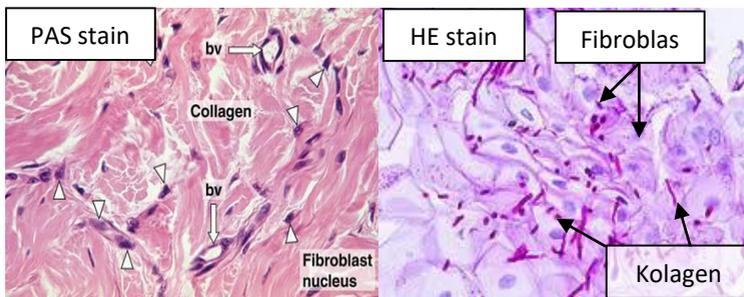
bantuan protein sekretori VEGF, FGF dan TSP-1. Pembentukan pembuluh darah baru dan jaringan granulasi merupakan tanda penting fase proliferasi karena ketiadaannya pembuluh darah baru dan atau jaringan granulasi merupakan tanda dari gangguan penyembuhan luka. Setelah kolagen mulai menggantikan matriks temporer, fase proliferasi mulai berhenti dan fase *remodeling* mulai berjalan (Gurtner, 2007).

3. Fase Pematangan

Fase ketiga dan terakhir adalah fase *remodeling*. Selama fase ini jaringan baru yang terbentuk akan disusun sedemikian rupa seperti jaringan asalnya. Fase pematangan ini berlangsung mulai hari ke-21 hingga sekitar 1 tahun. Selama pematangan, densitas makrofag dan fibroblas berkurang, pertumbuhan kapiler terhenti, aliran darah dan aktivitas metabolik berkurang (Gambar 2.6). Fase ini segera dimulai segera setelah kavitas luka terisi oleh jaringan granulasi dan proses reepitelialisasi usai. Perubahan yang terjadi adalah penurunan kepadatan sel dan vaskularisasi, pembuangan matriks temporer yang berlebihan dan penataan serat kolagen sepanjang garis luka untuk meningkatkan kekuatan jaringan baru. Fase akhir penyembuhan luka ini dapat berlangsung selama bertahun-tahun (Ristaningsih, 2016; Gurtner, 2007).

Kontraksi dari luka dan *remodeling* kolagen terjadi pada fase ini. Kontraksi luka terjadi akibat aktivitas miofibroblas, yakni fibroblas yang mengandung komponen mikrofilamen aktin intraselular. Kolagen tipe III pada fase ini secara gradual digantikan oleh kolagen tipe I dengan bantuan *matrix metalloproteinase* (MMP) yang disekresi oleh fibroblas, makrofag dan sel endotel. Sekitar 80% kolagen pada kulit adalah kolagen tipe I yang memungkinkan terjadinya *tensile strength* pada kulit (Gurtner, 2007). Keseimbangan antara proses sintesis dan degradasi kolagen terjadi pada fase ini. Kolagen yang berlebihan didegradasi oleh enzim kolagenase dan

kemudian diserap. Sisanya akan mengerut sesuai tegangan yang ada. Hasil akhir dari fase ini berupa jaringan parut yang pucat, tipis, lemas dan mudah digerakkan dari dasarnya (Hidayat, 2013). Kolagen awalnya tersusun secara tidak beraturan, sehingga membutuhkan *lysyl hydroxylase* untuk mengubah lisin menjadi hidroksilisina yang dianggap bertanggung jawab terhadap terjadinya *cross-linking* antar kolagen. *Cross-linking* inilah yang menyebabkan terjadinya *tensile strength* sehingga luka tidak mudah terkoyak lagi. *Tensile strength* akan bertambah secara cepat dalam 6 minggu pertama, kemudian akan bertambah perlahan selama 1-2 tahun. Pada umumnya *tensile strength* pada kulit dan *fascia* tidak akan pernah mencapai 100%, namun hanya sekitar 80% dari normal. Metaloproteinase matriks yang disekresi oleh makrofag, fibroblas dan sel endotel akan mendegradasi kolagen tipe III. Kekuatan jaringan parut bekas luka akan semakin meningkat akibat berubahnya tipe kolagen dan terjadinya *crosslinking* jaringan kolagen. Pada akhir fase *remodeling*, jaringan baru hanya akan mencapai 70% kekuatan jaringan awal (Gurtner, 2007). Penampakan histologi sel fibroblas dan kolagen dapat dilihat pada gambar 2.3.



Gambar 2.3. Sel fibroblas dan kolagen secara histologi.

2.9.5 Gangguan Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka dapat terganggu oleh penyebab dari tubuh sendiri (endogen) dan oleh penyebab dari luar tubuh (eksogen)

(Syamsuhidayat dan Jong, 1997). Penyebab endogen terpenting adalah gangguan koagulasi yang disebut koagulopati dan gangguan sistem imun. Semua gangguan pembekuan darah akan menghambat penyembuhan luka sebab homeostatis merupakan titik tolak dan dasar fase inflamasi. Gangguan sistem imun akan menghambat dan mengubah reaksi tubuh terhadap luka, kematian jaringan dan kontaminasi (Syamsuhidayat dan Jong, 1997).

Penyebab eksogen meliputi penyinaran sinar ionisasi yang akan mengganggu mitosis dan merusak sel dengan akibat dini maupun lanjut. Pemberian sitostatik, obat penekan imun, misalnya setelah transplantasi organ, dan kortikosteroid juga akan mempengaruhi penyembuhan luka. Pengaruh setempat seperti infeksi, hematoma, benda asing, serta jaringan mati seperti sekuestrasi dan nekrosis sangat menghambat penyembuhan luka (Syamsuhidayat dan Jong, 1997).

Faktor-faktor yang mempercepat penyembuhan luka bakar adalah kondisi bersih, sikap mental positif, kesehatan baik, usia muda, nutrisi baik, dan keseimbangan antara gerak dan latihan. Faktor-faktor yang menghambat penyembuhan luka bakar adalah faktor psikologi (takut dan stres), kurang mobilisasi, nutrisi kurang baik, usia tua dan sirkulasi udara kurang baik (Effendi, 1999).

2.10 Tinjauan tentang Hewan Coba

Tikus yang biasa digunakan pada laboratorium adalah tikus Norwegia (*Rattus norvegicus*) yang telah dipelihara. Tikus cocok untuk berbagai macam penelitian karena telah diketahui sifat-sifatnya, mudah dipelihara, serta merupakan hewan yang relatif (Hubrecht dan Kirkwood, 2010). Terdapat beberapa galur tikus yang memiliki kekhususan tertentu antara lain galur Wistar yang albino dengan kepala besar, telinga panjang dan ekor pendek, galur *Sprague Dawley* yang albino putih berkepala kecil dan

ekor panjang, dan galur *Long Evans* yang memiliki badan berwarna putih, sedangkan kepala dan ekstremitas berwarna hitam. Tikus Wistar memiliki panjang ekor yang selalu lebih pendek daripada badan (Krinke, 2000).

Taksonomi tikus putih menurut Krinke (2000) adalah:

| | |
|-----------|----------------------------|
| Kingdom | : Animalia |
| Divisi | : Chordata |
| Subdivisi | : Vertebrata |
| Kelas | : Mamalia |
| Ordo | : Rodentia |
| Sub ordo | : Myormopha |
| Famili | : Muridae |
| Genus | : Rattus |
| Species | : <i>Rattus norvegicus</i> |

2.11 Tinjauan tentang Vaseline Album

Vaseline album adalah golongan lemak mineral yang diperoleh dari minyak bumi. Titik cair sekitar 10-50°C, mengikat 30% air, tidak berbau, transparan, konsistensi lunak. Sifat dasar salep ini sukar dicuci, tidak mengering dan tidak berubah dalam waktu lama. Salep ini digunakan untuk memperpanjang kontak bahan obat dengan kulit dan bertindak sebagai penutup (Yanhendri, 2012).

2.12 Tinjauan tentang Adeps Lanae

Adeps lanae ialah lemak murni dari lemak bulu domba, keras dan melekat sehingga sukar dioleskan, mudah mengikat air. Adeps lanae hydrosue dan lanolin ialah adeps lanae dengan kandungan air 25-27%. Salep ini dapat dicuci namun kemungkinan bahan sediaan yang tersisa masih ada walaupun telah dicuci dengan air (Rowe, Sheskey dan Quinn, 2009).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium. Penelitian ini dilakukan untuk mengamati pengaruh pemberian sediaan ekstrak daun binahong pada penyembuhan luka bakar tikus Wistar jantan dengan pengamatan mikroskopis pada jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen. Jenis penelitian eksperimental laboratorium dipilih karena baik pada sampel maupun perlakuan lebih terkontrol, terukur dan pengaruh perlakuan lebih dapat dipercaya (Notoatmodjo, 2002). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah berbagai konsentrasi ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (TEN) Steenis). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah cara ekstraksi, cara perlakuan, jenis kelamin tikus, berat badan, usia tikus, marga dan jenis tikus, marga dan jenis tanaman.

3.2 Alat penelitian

Alat yang digunakan untuk penelitian antara lain : timbangan tikus (ks-1 kitchen scale 2 kg, Indonesia), styrofoam berukuran 2 x 2 cm, kassa, pisau cukur, pot salep, mortar dan stamper, spatula, stopwatch, gunting bedah, pinset, kandang, beaker glass, timbangan analitik (Shimadzu Electronic Balance Ex-200A, Japan), gelas ukur (Pyrex, USA), beaker glass (Pyrex, USA), batang pengaduk, kerta saring, sendok tanduk, sendok porselen, botol coklat, lemari es (Hitachi R-528H, Japan), penangas air, oven (Mommert), mikroskop monokuler dan perlengkapannya (Carlton, Jerman), lemari asam, mikropipet (Eppendorf pipette 20 µl & Socorex, No.381.05,

Switzerland), termometer, jangka sorong, Bunsen, alat-alat gelas, cawan petri diameter 15 cm, tissue.

3.3 Bahan penelitian

3.3.1 Bahan tanaman

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia daun binahong (*Anredera cordifolia* (TEN) Steenis) berupa serbuk kering yang diperoleh dari Balitro Bogor.

3.3.2 Bahan pembanding

Bahan pembanding yang diberikan pada tikus adalah bioplacenton.

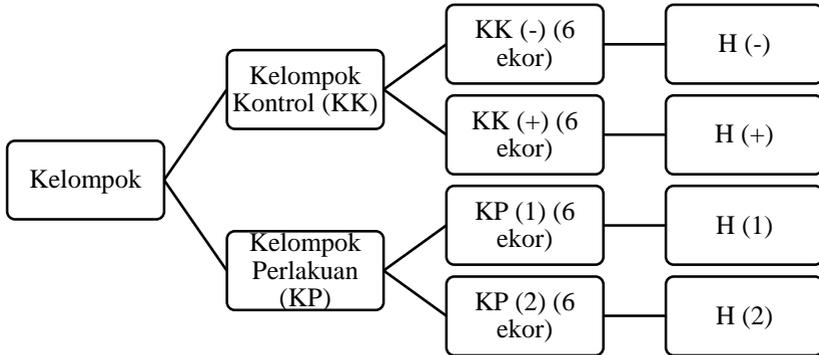
3.3.3 Hewan laboratorium

Hewan laboratorium yang dipakai adalah tikus putih jantan galur Wistar yang berusia 2-3 bulan dengan berat rata-rata 200 gram, sebanyak 24 ekor, sehat, dan mempunyai aktifitas normal. Sebelum digunakan dalam penelitian, tikus tersebut diadaptasikan selama satu minggu dengan kondisi atau perlakuan yang sama, diamati kesehatannya dengan cara menimbang berat bobot badan dan pengamatan tingkah lakunya. Hewan dinyatakan sehat dan dapat digunakan untuk penelitian, bila tidak menunjukkan gejala-gejala sakit, dan penurunan berat badan tidak lebih dari 10% berat awal, tikus dipuaskan selama 18 jam dengan tetap diberikan air minum (Mitruka dan Rawnsley, 1976).

3.4 Rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang menggunakan rancangan penelitian *postest only controlled group randomized design*. Penelitian ini untuk meneliti potensi ekstrak daun binahong terhadap jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen dengan

konsentrasi 20% dan 40%. Ekstrak daun Binahong dalam bentuk salep dioleskan pada kulit punggung tikus secara topikal. Rancangan yang dilakukan dapat digambarkan dalam gambar 3.1.



Gambar 3.1. Rancangan penelitian.

Keterangan :

KK(-) : Kelompok kontrol negatif yang tidak diberi perlakuan.

KK(+): Kelompok kontrol positif yang diberikan bioplacenton

KP(1) : Kelompok perlakuan satu yang diberikan salep ekstrak daun binahong dengan konsentrasi 20%.

KP(2) : Kelompok perlakuan dua yang diberikan salep ekstrak daun binahong dengan konsentrasi 40%.

H(-), H(+), H(1), H(2): Hasil pengamatan jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen secara mikroskopis.

Penentuan jumlah hewan coba pada pembagian tiap kelompok dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan perhitungan pada jumlah hewan coba per kelompok dalam penelitian. Pembagian kelompok dalam penelitian ini dibagi

menjadi 4 kelompok, maka berdasarkan rumus Federer jumlah sampel minimal adalah:

$$\text{Rumus Federer} = (n-1) (t-1) \geq 15$$

Keterangan :

t : jumlah kelompok uji

n : jumlah hewan coba setiap kelompok uji

Pada penelitian ini, terdapat 4 kelompok maka:

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

$$(n-1) (3) \geq 15$$

$$n-1 \geq 5$$

$$n \geq 6$$

Setiap kelompok terdapat 6 ekor tikus sehingga jumlah seluruh hewan coba dalam penelitian ini sebanyak 24 ekor mencit dan diberi perlakuan yang sama selama 7 hari.

3.5 Unit Analisis

Unit analisis adalah perhitungan terhadap jumlah fibroblas dan pengukuran ketebalan kolagen yang diamati secara mikroskopis.

3.6 Tahapan Penelitian

3.6.1 Pembuatan sampel ekstrak daun binahong

Sampel yang telah halus direndam dalam pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10 yang disesuaikan dalam Farmakope Indonesia. Sampel direndam selama 24 jam sambil sesekali diaduk. Setelah 24 jam, debris I dan filtrat I dipisahkan dengan menggunakan kertas saring. Debris I direndam kembali menggunakan etanol 96% selama 24 jam dengan sesekali diaduk. Debris II dan filtrat II yang diperoleh kemudian dipisahkan menggunakan kertas saring. Debris II direndam kembali menggunakan etanol 96% selama

24 jam dengan sesekali pengadukan dan setelah didapatkan debris III dan filtrat III, kemudian dipisahkan menggunakan kertas saring. Filtrat I, filtrat II, dan filtrat III digabungkan dan disaring kembali untuk memastikan tidak ada ampas (debris) yang terikut dan untuk memperoleh total maserat daun binahong. Maserat di evaporasi dengan menggunakan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental.

3.6.2 *Standarisasi ekstrak*

a. Parameter non spesifik

Standarisasi parameter non spesifik ekstrak yang dilakukan yaitu penetapan kadar air dan penetapan kadar abu.

Penetapan kadar air dilakukan dengan cara lebih kurang 10 g ekstrak kental dimasukkan ke dalam wadah yang telah ditara kemudian ditimbang secara seksama. Ekstrak dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang. Selanjutnya dikeringkan dan dilakukan penimbangan dengan interval waktu 1 jam sampai perbedaan antara 2 penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (DepKes RI, 1977).

Penetapan kadar abu dilakukan dengan cara lebih kurang 2 g ekstrak yang telah digerus dan ditimbang seksama, dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan, ditara, dan diratakan. Krus dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, kemudian didinginkan, dan ditimbang. Jika dengan cara ini arang tidak dapat dihilangkan, dapat dilakukan penambahan air panas, dan disaring melalui kertas saring bebas abu. Krus dipijarkan dengan sisa kertas dan kertas saring dalam krus yang sama. Filtrat dimasukkan ke dalam krus, diuapkan, dan dipijarkan hingga bobot tetap, kemudian ditimbang. Kadar abu terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (DepKes RI, 1977).

b. Parameter spesifik

Standarisasi parameter spesifik yang dilakukan adalah pemeriksaan identitas ekstrak, pengamatan organoleptis dan skrining kandungan kimia.

Pemeriksaan identitas dilakukan dengan mendeskripsikan tata nama meliputi: nama ekstrak (generik, dagang, paten), nama latin tanaman (sistematika botani), bagian tanaman yang digunakan (rimpang, daun dsb) dan nama Indonesia tanaman. Pengamatan organoleptis dilakukan dengan mengamati bentuk, warna dan bau dari ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (TEN) Steenis). Pemeriksaan terhadap kandungan kimia yang ada di dalam suatu tanaman dapat dilakukan dengan beberapa teknik antara lain (Ditjen POM RI, 2000) :

1. Alkaloid

Serbuk simplisia ditimbang 2 g kemudian tambahkan 5 ml amoniak, gerus hingga homogen. Ditambahkan CHCl_3 lalu disaring sehingga menghasilkan larutan A. Larutan A diekstraksi lagi 2 kali dengan HCl 10% sehingga menghasilkan larutan B. Larutan A ditetesi pada kertas saring dan diikuti pereaksi Dragendorff. Apabila terbentuk warna jingga pada kertas saring maka positif alkaloid. Larutan B juga ditetesi pada kertas saring dan diikuti pereaksi Mayer. Endapan putih pada kertas saring maka positif alkaloid.

2. Flavonoid

Serbuk simplisia ditimbang 2 g kemudian tambahkan 100 ml air panas, gerus hingga homogen lalu disaring sehingga menghasilkan larutan C. Ambil 5 ml larutan C masukan dalam tabung reaksi kemudian tambahkan serbuk Mg, alkohol klorhidrik dan amil alkohol secukupnya. Kocok dan diamkan, lalu amati lapisan amilalkohol akan berwarna kuning sehingga menandakan positif flavonoid.

3. Saponin

Larutan C pada uji flavonoid di atas diambil sebanyak 10 ml lalu dikocok vertikal, bila terbentuk busa yang stabil selama 10 menit maka positif saponin.

4. Tanin

Larutan C diambil sebanyak 5 ml kemudian tambahkan FeCl_3 dan larutan gelatin secara berurutan. Apabila terbentuk warna hijau maka positif tanin. Selain itu bisa dilakukan dengan penambahan pereaksi Steasny yaitu : larutan C ditambah pereaksi Steasny kemudian dipanaskan. Bila terbentuk endapan merah muda maka larutan disaring, filtratnya ditambah Na asetat dan FeCl_3 secara berturut-turut. Apabila terbentuk warna hijau maka positif tanin.

5. Steroid dan terpenoid

Serbuk simplisia dimasukkan sedikit dalam tabung reaksi lalu ditambah 5 ml eter, dikocok dan diuapkan. Setelah kering, ditambahkan dua tetes asam asetat anhidrat dan satu tetes asam sulfat pekat. Apabila terbentuk warna oranye, merah atau kuning berarti positif terpenoid. Tetapi apabila terbentuk warna hijau berarti positif steroid.

3.6.3 Uji kromatografi lapis tipis (KLT) kandungan flavonoid ekstrak daun binahong

Kromatografi lapis tipis dilakukan dengan fase gerak adalah *n*-butanol : asam asetat : air (4:1:5) v/v, sedangkan fase diam yang digunakan adalah Silika Gel 60 F₂₅₄ dengan jarak eluasi 8 cm. Cuplikan dibuat dengan konsentrasi 1% b/v dan ditotolkan sebanyak 10 µl dengan menggunakan pipa kapiler. Setiap penotolan dilakukan setelah totolan sebelumnya kering (Gritter dkk, 1985). Plat yang sudah ditotolkan dieluasi dengan larutan pengembang kurang lebih 100 ml yang sudah jenuh dengan tinggi pelarut 0,5

cm sampai 1 cm. Setelah proses eluasi selesai, lempeng dikeluarkan dari bejana. Lempeng KLT dikeringkan diudara, kemudian bercak diamati mula-mula secara visibel, kemudian dengan sinar ultraviolet gelombang pendek (254 nm) dan sinar ultraviolet dengan gelombang panjang (366 nm). Lempeng KLT kemudian di diambil gambarnya untuk proses dokumentasi, kemudian menghitung harga Rf (DepKes RI, 1989). Berdasarkan penelitian identifikasi kandungan flavonoid yang dilakukan oleh Selawa, Runtunewe dan Citraningtyas (2013) didapatkan hasil bahwa ekstrak etanol daun binahong mengandung flavonoid jenis flavonol yaitu kuersetin. Maka pada penelitian ini menggunakan pembandingan kuersetin.

3.6.4 Pembuatan salep ekstrak daun binahong

a. Penyiapan bahan salep

Bahan yang akan digunakan untuk membuat basis salep dan ekstrak daun binahong ditimbang sesuai dengan takaran. Basis yang akan digunakan adalah basis berlemak yaitu adeps lanae dan vaseline album. Sebelum dibuat basis salep, mortir dan stamper dipanaskan dengan cara dibakar dengan alkohol. Adeps lanae kemudian dimasukkan ke dalam mortir yang telah panas dan diaduk hingga melebur, kemudian vaselin album ditambahkan dan diaduk dengan kecepatan konstan hingga homogen dan membentuk basis salep.

b. Pencampuran basis salep dengan ekstrak daun binahong

Basis salep yang telah dibuat, ditambahkan dengan ekstrak daun binahong dan diaduk hingga homogen dengan menggunakan mortir dan stamper yang panas yang disesuaikan dengan masing – masing konsentrasi. Formula standar basis salep yang digunakan menurut Paju *et al* (2013) ialah adeps lanae 15 g dan vaseline album 85 g. Total campuran kedua basis adalah sebanyak 100 g. Sediaan salep yang akan digunakan pada penelitian ini

memiliki masing-masing konsentrasi ekstrak daun Binahong yaitu 20% dan 40% dibuat sebanyak 30 g. Formulasi salep ekstrak daun Binahong 20% adalah ekstrak daun Binahong 6 g ditambah basis salep 24 g, totalnya sebanyak 30 g. Sementara untuk formulasi salep ekstrak daun Binahong 40% adalah ekstrak daun Binahong 12 g ditambah basis salep 18 g, total sediaan adalah 30 g.

c. Pengujian sediaan salep

- Tes organoleptik

Sediaan salep ekstrak daun Binahong diamati bentuk, warna dan bau.

- Tes homogenitas

Sediaan salep ekstrak daun Binahong dioleskan pada sekeping kaca transparan dimana sediaan diambil bagian atas, tengah dan bawah.

- Tes pH

Sebanyak 1 g salep ekstrak daun Binahong ditimbang lalu diencerkan dalam 10 ml aquades kemudian diukur pH salep menggunakan pH meter (Paju *et al.*, 2013).

3.7 Penentuan dosis

Pada literatur tidak disebutkan dosis yang harus digunakan sebagai sediaan salep luka bakar ekstrak daun binahong. Tetapi setelah dilakukan orientasi pada penelitian Rahma (2014) sebelumnya didapat konsentrasi ekstrak daun binahong 10%, 20% dan 40% dapat membantu proses penyembuhan luka bakar, tetapi pada konsentrasi 10% waktu penyembuhannya jauh lebih lama jika dibandingkan dengan konsentrasi 20% dan 40%. Oleh karena itu pada penelitian ini digunakan dosis 20% dan 40% ekstrak daun binahong.

3.8 Pembuatan luka bakar

Tikus yang telah diadaptasi selama 1 minggu, dicukur bulunya pada punggung tikus. Kemudian tikus dibius menggunakan eter, lalu sterilisasi daerah punggung tikus yang telah dicukur dengan alkohol 70% dan dibuat luka bakar berukuran 2 x 2 cm menggunakan batangan panas suhu 95⁰C selama 30 detik, pemanasan dilakukan dalam waterbath selama 5 menit. Tikus dibagi menjadi 4 kelompok secara acak yaitu kelompok kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan 1 dan perlakuan 2. Setelah pengolesan salep ekstrak daun binahong masing-masing luka ditutup dengan perban untuk mencegah kontaminasi ke area luka (Rahma, 2014).

3.9 Perlakuan Hewan Coba

Hewan coba dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan. Setiap kelompok perlakuan terdiri dari 6 ekor tikus. Kategori perlakuan hewan coba yaitu :

1. Kontrol negatif : 6 ekor tikus dengan luka bakar tanpa perlakuan
2. Kontrol positif : 6 ekor tikus dengan luka bakar diberikan Bioplacenton
3. Kelompok Perlakuan II : 6 ekor tikus dengan luka bakar diberikan salep ekstrak daun Binahong dengan konsentrasi 20%
4. Kelompok Perlakuan III : 6 ekor tikus dengan luka bakar diberikan salep ekstrak daun Binahong dengan konsentrasi 40%

Pada hari yang ke-8 tikus mulai diberi perlakuan, antara lain : Kelompok kontrol negatif / K(-) tidak diberi perlakuan, Kelompok kontrol positif / K(+) diberikan pembanding salep *Bioplacenton*. Kelompok perlakuan satu / K(1) diberikan salep ekstrak daun binahong dengan konsentrasi 20%, Kelompok perlakuan dua / K(2) diberikan salep ekstrak daun binahong dengan konsentrasi 40%. Tikus diberikan perlakuan selama 7

hari. Pengamatan dilakukan pada hari ke-3 dan ke-7, dilakukan pengamatan jumlah fibroblas dan pengukuran ketebalan kolagen.

3.10 Eksisi Jaringan Kulit Tikus

Pengambilan sampel jaringan kulit dilakukan pada hari ke-12 dan hari ke-16. Dari keempat kelompok diambil masing-masing 3 ekor tikus. Pengambilan dilakukan setelah tikus dikorbankan dengan larutan eter secara inhalasi. Daerah dorsal yang akan diambil jaringan kulitnya dibersihkan dari bulu yang mulai tumbuh kembali, kemudian jaringan kulit digunting dengan ketebalan ± 3 mm.

3.11 Pembuatan Preparat Histologi Jaringan Kulit Tikus

Jaringan kulit tersebut kemudian dibuat preparat histopatologi dengan metode blok paraffin dengan pewarnaan Hemaktosilin-Eosin.

3.12 Pengamatan Jumlah Fibroblas

Pada hari ke-12 dan hari ke-16, dilakukan pengamatan terhadap preparat dengan mikroskop cahaya pada pembesaran 1000x pada 5 lapang pandang. Perhitungan sel fibroblas dilakukan dan diambil data rata-rata dari perhitungan. Analisis data untuk melihat perbandingan sel fibroblas kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

3.13 Pengamatan Ketebalan Kolagen

Pengamatan ketebalan deposit kolagen dilakukan pada hari ke-12 dan hari ke-16. Preparat jaringan diletakkan di bawah mikroskop cahaya pembesaran 1000x dan difoto menggunakan kamera mikroskopis fotografi kemudian kepadatan deposit kolagen diukur menggunakan program komputer *Adobe Photoshop 6.0*.

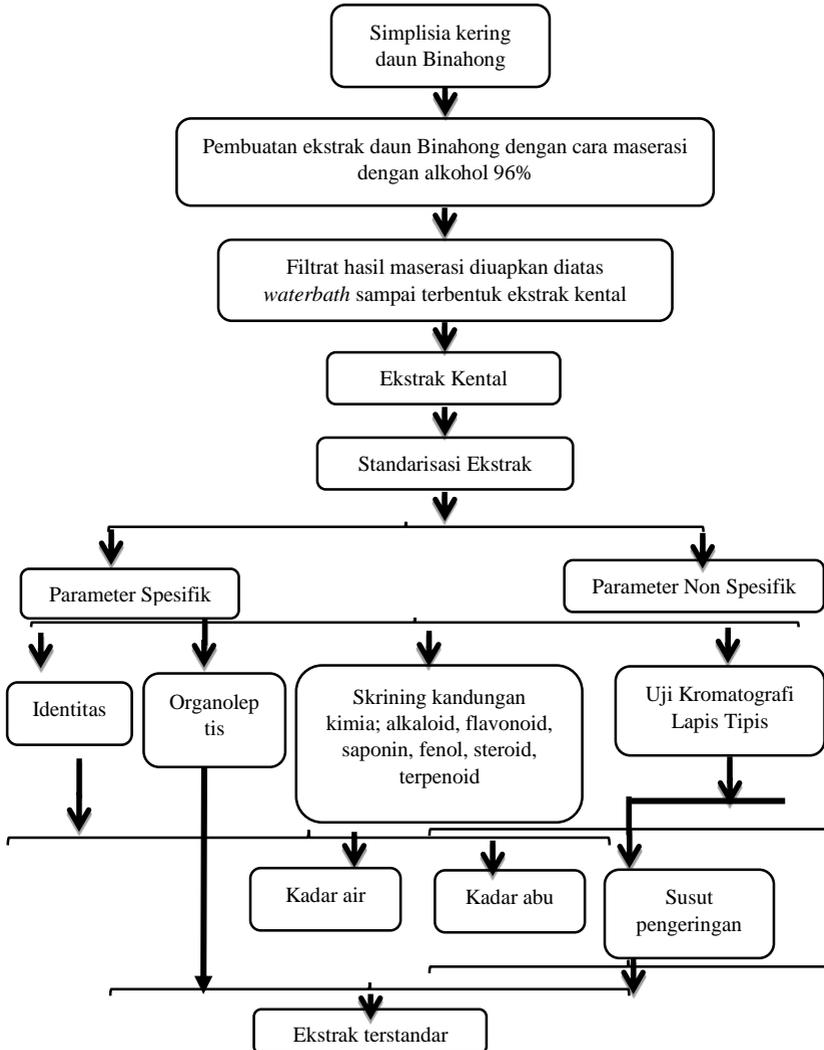
3.14 Analisis Data

Jika ada perbedaan bermakna ($p < 0,05$) diantara kelompok perlakuan, maka dilanjutkan uji perbandingan jarak berganda. Analisa statistik dilakukan dengan menggunakan bantuan perangkat lunak SPSS versi 17.0 pada signifikansi 95%.

3.15 Skema Kerja

3.15.1 Pembuatan ekstrak daun binahong

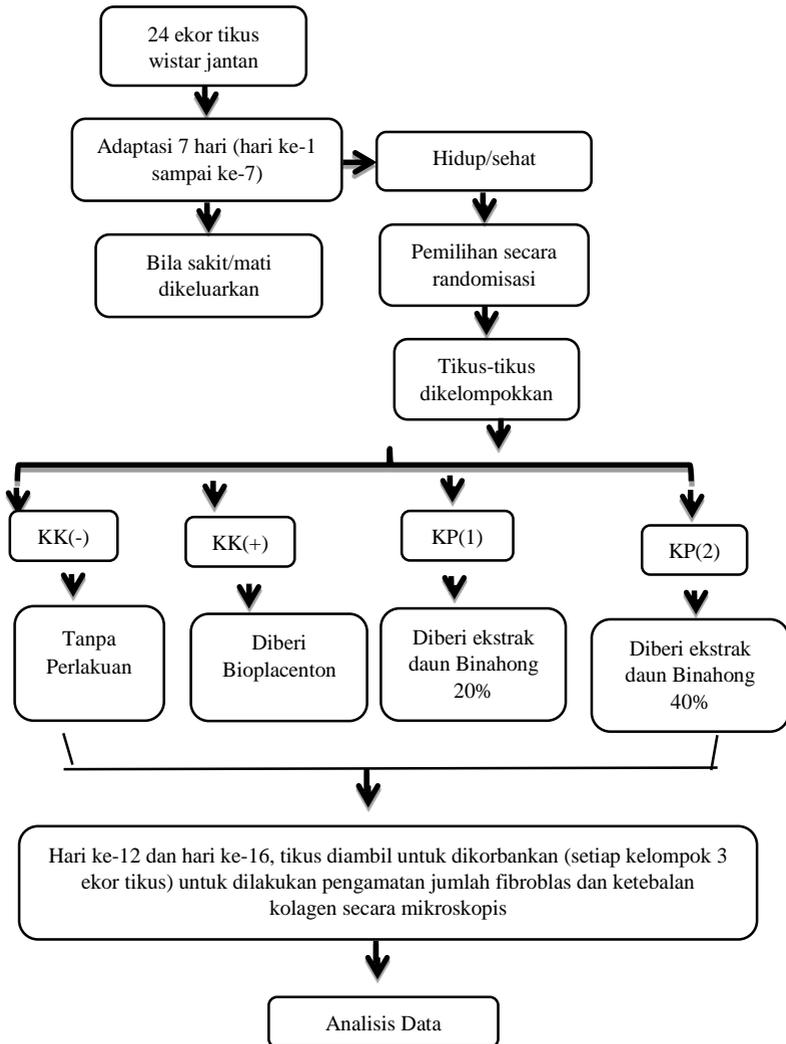
Pembuatan ekstrak daun binahong dapat dilihat pada gambar 3.2.



Gambar 3.2. Skema kerja pembuatan ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*).

3.15.2 *Perlakuan hewan coba*

Perlakuan hewan coba dapat dilihat pada gambar 3.3.



Gambar 3.3. Skema kerja perlakuan hewan laboratorium.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Analisis Data

4.1.1 Hasil karakterisasi tanaman segar

Bagian tanaman segar yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun binahong (*Anredera cordifolia*) yang diperoleh dari Green House Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya. Pada daun binahong dilakukan pengamatan makroskopik dan mikroskopik.

a. Pengamatan makroskopik

Pengamatan makroskopik dilakukan untuk mempelajari ciri-ciri dan karakteristik dari daun binahong (*Anredera cordifolia*) yakni pengamatan bentuk, warna, ukuran, tulang daun, tekstur dan filotaksis daun. Hasil pengamatan morfologi dan makroskopis daun binahong dapat dilihat berturut-turut pada Tabel 4.1 dan 4.2.

Tabel 4.1. Hasil pengamatan morfologi daun binahong (*Anredera cordifolia*).

| Parameter | Hasil Pengamatan | Pustaka (BPOM, 2008) |
|-----------------|---|---|
| Bentuk daun | Cordatus | Cordatus |
| ➤ Apeks | Runcing | Runcing |
| ➤ Base | Berlekuk | Berlekuk |
| ➤ Margin | Rata | Rata |
| Warna daun | Warna permukaan atas hijau tua dan warna permukaan bawah hijau muda | Warna permukaan atas hijau tua dan warna permukaan bawah hijau muda |
| Ukuran daun | | |
| ➤ Panjang | 6,3 – 10,6 cm | 5 – 13 cm |
| ➤ Diameter | 5,1 – 8,9 cm | 3 – 12 cm |
| Tulang daun | Menyirip | Menyirip |
| Tekstur daun | Halus | Halus |
| Filotaksis daun | Tunggal tersebar | Tunggal tersebar |

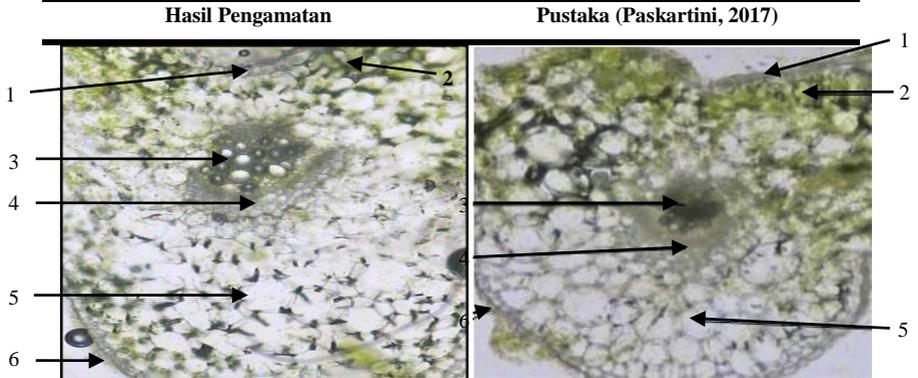
Tabel 4.2. Hasil pengamatan makroskopis daun binahong (*Anredera cordifolia*).

| Hasil Pengamatan | Pustaka (Paskartini, 2017) |
|--|--|
|  |  |
| Bagian depan daun binahong | |
|  |  |
| Bagian belakang daun binahong | |
|  |  |
| Tanaman binahong utuh | |

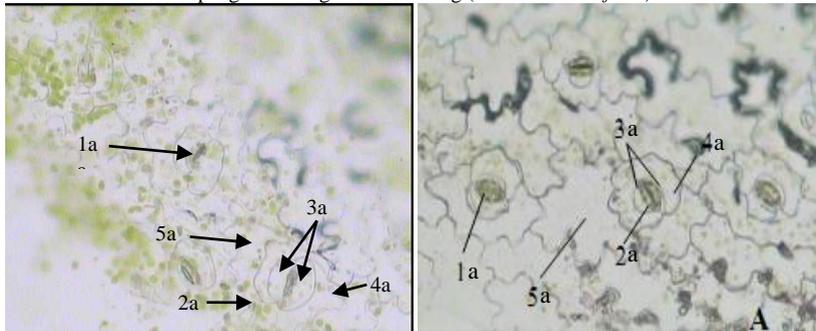
b. Pengamatan mikroskopik

Pengamatan mikroskopis dilaksanakan dengan melakukan irisan melintang dan membujur dari daun binahong dan dilakukan pengamatan terhadap jaringan penyusun, tipe berkas pembuluh, tipe daun, tipe stomata dan kristal yang ada. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 4.3 dan 4.4.

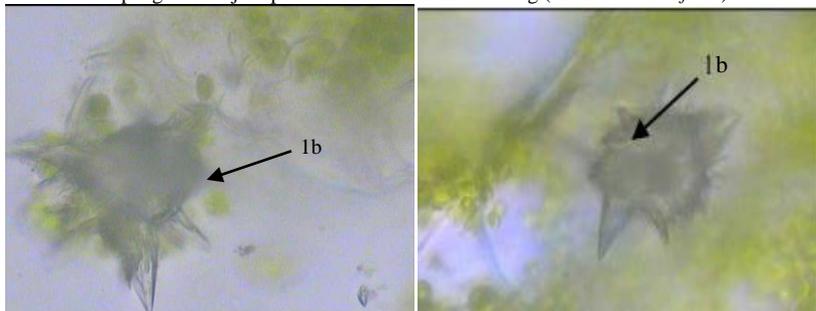
Tabel 4.3. Hasil pengamatan mikroskopik daun binahong (*Anredera cordifolia*) dalam media air dan florogusin HCl dengan perbesaran 4 x 42,3.



Penampang melintang daun binahong (*Anredera cordifolia*)



Penampang membujur epidermis bawah daun binahong (*Anredera cordifolia*)



Penampang irisan membujur epidermis bawah daun binahong (*Anredera cordifolia*)

| | | |
|--------------|-----------------------|--|
| Keterangan : | 1 = Epidermis atas | 1a = Celah stomata |
| | 2 = Jaringan palisade | 2a = Butir klorofil |
| | 3 = Xilem | 3a = Sel penutup |
| | 4 = Floem | 4a = Sel tetangga |
| | 5 = Jaringan parenkim | 5a = Sel epidermis |
| | 6 = Epidermis bawah | 1b = Kristal Ca-Oksalat berbentuk roset |

Tabel 4.4. Rangkuman hasil pengamatan mikroskopik daun binahong (*Anredera cordifolia*).

| Parameter | Hasil Pengamatan Mikroskopik |
|----------------------|---|
| Tipe berkas pembuluh | Tipe bikolateral |
| Tipe stomata | Parasitik |
| Tipe daun | Bifasial/ Dorsivental |
| Sel penyusun | Epidermis, jaringan palisade, xilem, floem, jaringan parenkim, kristal Ca-Oksalat bentuk roset dan stomata tipe parasitic |

4.2 Standarisasi Simplisia Daun Binahong

Simplisia daun binahong yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Balitro Bogor, Jawa Barat.

4.2.1 Parameter spesifik

Parameter standarisasi spesifik meliputi pemeriksaan identitas, organoleptis dan pengamatan mikroskopik.

1. Identitas simplisia

a. Deskripsi tata nama:

Nama simplisia : *Anrederae Folium* (Simplisia daun binahong)

Nama latin tumbuhan : *Anredera cordifolia* (TEN) Steenis

Bagian yang digunakan : Folium (daun)

Nama Indonesia : Binahong

Asal tanaman : Balitro Bogor, Jawa Barat

b. Senyawa identitas adalah : -

2. Organoleptis

Pengamatan organoleptis dilakukan pada serbuk simplisia daun binahong dengan tujuan sebagai pengenalan awal yang sesederhana dan seobjektif mungkin dan mengetahui kebenaran simplisia menggunakan panca indra dengan mendeskripsikan bentuk, warna dan bau. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 4.5 dan Gambar 4.1.

Tabel 4.5. Hasil pengamatan organoleptis simplisia daun binahong (*Anredera cordifolia*).

| Parameter yang Diamati | Hasil Pengamatan |
|------------------------|------------------|
| Bentuk | Serbuk kasar |
| Warna | Cokelat |
| Bau | Aromatis |

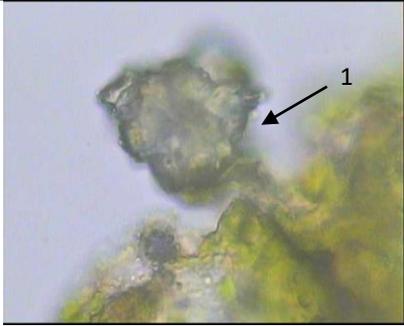
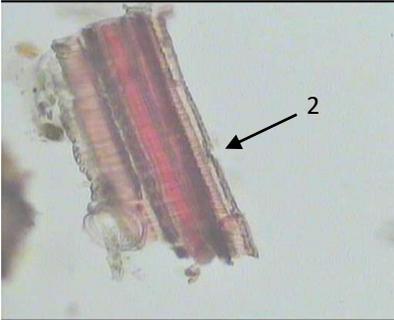
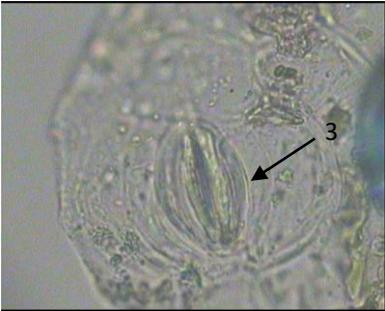
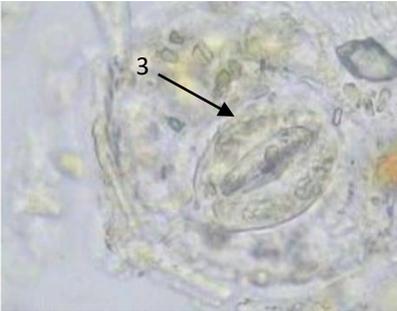


Gambar 4.1. Simplisia daun binahong (*Anredera cordifolia*).

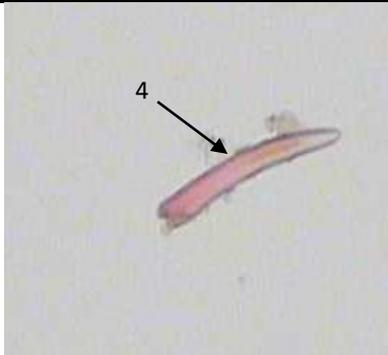
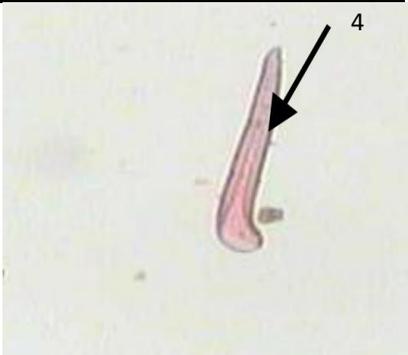
3. Pengamatan mikroskopik

Pengamatan mikroskopik dilakukan pada serbuk simplisia daun binahong untuk melihat fragmen spesifik. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6. Hasil pengamatan mikroskopik simplisia daun binahong (*Anredera cordifolia*) pada media aquadest dan kloralhidrat dengan perbesaran 40 x 42,3.

| Hasil Pengamatan | Pustaka (Paskartini, 2017) |
|---|---|
|  |  |
| <p>Kristal Ca-Oksalat berbentuk roset</p> | |
|  |  |
| <p>Berkas pembuluh</p> | |
|  |  |
| <p>Stomata tipe parasitik</p> | |

Tabel 4.6. (Lanjutan)

| Hasil Pengamatan | Pustaka (Paskartini, 2017) |
|---|---|
|  |  |
| Rambut penutup | |

Keterangan: 1 = Kristal Ca-Oksalat berbentuk roset

2 = Berkas pembuluh

3 = Stomata tipe parasitik

4 = Rambut penutup

4.4.2 Parameter non spesifik

Parameter standarisasi non spesifik yang dilakukan pada penelitian ini meliputi penetapan kadar air dan kadar abu dari simplisia daun binahong. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 4.7.

Tabel 4.7. Hasil uji parameter non spesifik simplisia daun binahong (*Anredera cordifolia*).

| Parameter Standarisasi | Hasil | Pustaka (Paskartini, 2017) |
|------------------------|-------|----------------------------|
| Kadar air (%) | 10,22 | < 11 |
| Kadar abu (%) | 13,86 | < 19 |

4.3 Rendemen Ekstrak Etanol Daun Binahong

Rendemen ekstrak etanol daun binahong diperoleh dari serbuk simplisia ekstrak daun binahong 900 gram yang diekstraksi dengan metode maserasi sebanyak tiga kali replikasi dan menggunakan pelarut etanol dengan

total pelarut sebanyak 2300 ml kemudian disaring sehingga diperoleh maserat jernih. Maserat etanol yang terkumpul diuapkan dengan penangas air sampai diperoleh ekstrak kental daun binahong sebanyak 56,7 gram. Hasil yang diperoleh kemudian dihitung dan didapatkan rendemen ekstrak etanol daun binahong sebesar 6,3%.

4.4 Standarisasi Ekstrak Etanol Daun Binahong

4.4.1 *Parameter spesifik*

Parameter standarisasi spesifik meliputi pemeriksaan identitas, organoleptis, skrining fitokimia kandungan serta pelaksanaan kromatografi lapis tipis (KLT).

1. Identitas ekstrak

a. Deskripsi tata nama:

Nama simplisia : *Anredera cordifolii extractum spissum*
(Ekstrak daun binahong)

Nama latin tumbuhan : *Anredera cordifolia* (TEN) Steenis

Bagian yang digunakan : Folium (daun)

Nama Indonesia : Binahong

b. Senyawa identitas adalah : -

2. Organoleptis

Pengamatan organoleptis dilakukan terhadap ekstrak etanol daun binahong. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 4.8 dan Gambar 4.2.

Tabel 4.8. Hasil pengamatan organoleptis ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*).

| Parameter yang diamati | Hasil Pengamatan |
|------------------------|------------------|
| Bentuk | Ekstrak kental |
| Warna | Coklat kehitaman |
| Bau | Aromatis |



Gambar 4.2. Ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*).

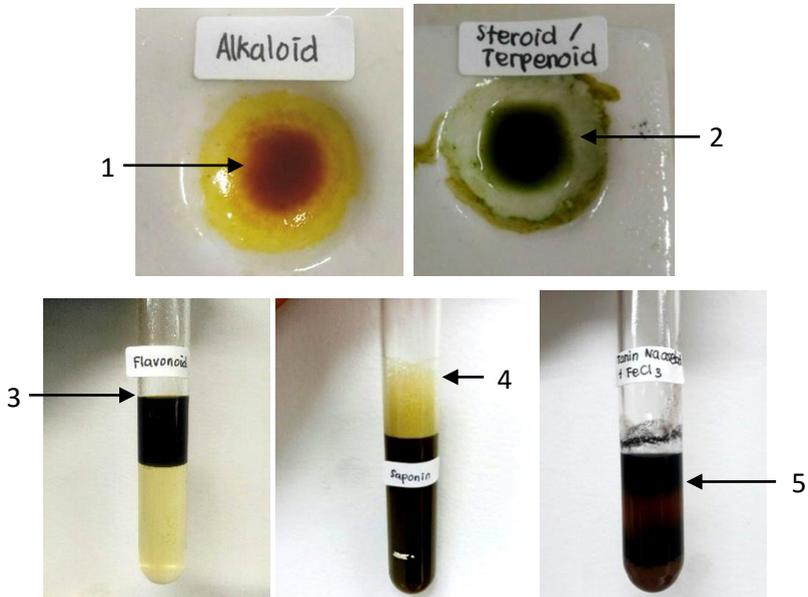
3. Skrining fitokimia

Pengamatan skrining fitokimia dilakukan terhadap ekstrak daun binahong dengan tujuan untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam ekstrak. Skrining fitokimia yang dilakukan meliputi skrining alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, stereoid dan terpenoid. Hasil skrining tersedia pada Tabel 4.9 dan Gambar 4.3.

Tabel 4.9. Hasil pengamatan skrining fitokimia ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*).

| Skrining | Pereaksi | Hasil | Keterangan |
|--------------------------|---------------------------|--------------|--------------------------------------|
| Alkaloid | Dragendorff | + | Terbentuk endapan merah bata |
| Flavonoid | Alkohol Klorhidrik | + | Lapisan amil alkohol berwarna kuning |
| Saponin | Aquadest dan dikocok kuat | + | Busa stabil |
| Tanin | Steasny | + | Terbentuk warna hijau |
| Steroid dan Triterpenoid | Libermann-burchard | + | Terbentuk warna hijau (steroid) |

Keterangan: (+) : terdapat kandungan senyawa



Gambar 4.3. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*).

- Keterangan:
1. Terbentuk endapan merah bata menunjukkan adanya senyawa alkaloid
 2. Terbentuk warna hijau menunjukkan adanya senyawa steroid
 3. Lapisan amil alkohol berwarna kuning menunjukkan adanya senyawa flavonoid
 4. Terbentuk busa stabil menunjukkan adanya senyawa saponin
 5. Terbentuk warna hijau menunjukkan adanya senyawa tanin

4. Kromatografi lapis tipis (KLT) kandungan flavonoid

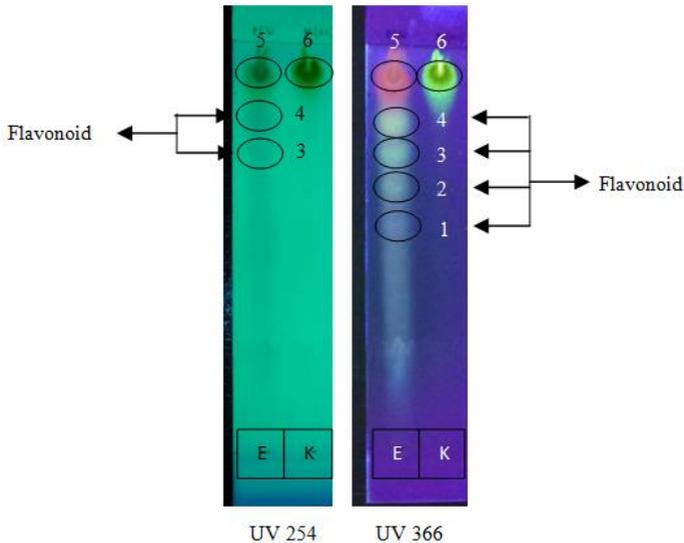
Kromatografi lapis tipis dilakukan pada ekstrak daun binahong dengan tujuan untuk mengamati profil kromatogramnya. Penentuan profil kromatogram dari ekstrak daun binahong ini menggunakan fase gerak *n*-butanol : asam asetat : air (4:1:5) kemudian larutan ekstrak ditotolkan sebanyak 10 μ l pada fase diam yakni silika gel F₂₅₄. Pembanding yang

digunakan adalah kuersetin untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid. Jumlah pembandingan yang ditotolkan adalah sebanyak 2 µl.

Kondisi KLT:

- Fase diam : Silika gel F₂₅₄
- Fase gerak : *n*-Butanol : asam asetat : air
- Indeks polaritas : 7,26
- Penampak noda : AlCl₃
- Jumlah penotolan : Ekstrak 10µl dan kuersetin 2µl

Hasil kromatografi lapis tipis kandungan senyawa flavonoid pada ekstrak daun binahong dapat dilihat pada gambar 4.4.



Gambar 4.4. Hasil KLT ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) dengan fase gerak *n*-butanol : asam asetat : air (4:1:5) dan penampak noda AlCl₃.

- Keterangan:
- 1, 2, 3, 4= Noda yang menunjukkan terkandungnya senyawa flavonoid dalam ekstrak
 - 5= Noda campuran senyawa dalam ekstrak
 - 6= Noda kuersetin (pembandingan)
 - E= Totolan ekstrak etanol daun binahong 1% (10µl)

K= Totalan larutan kuersetin (pembanding) 0,5% (2 μ l)

Tabel 4.10. Nilai rf dari KLT ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) dengan fase gerak *n*-butanol : asam asetat : air (4:1:5) dan penampak noda AlCl₃.

| Harga Rf | UV 254 | | UV 366 | |
|-----------|-------------------|-------------------|-----------------------|----------------------|
| | E | K | E | K |
| 0,00-0,10 | | | | |
| 0,11-0,20 | | | | |
| 0,21-0,30 | | | | |
| 0,31-0,40 | | | | |
| 0,41-0,50 | | | | |
| 0,51-0,60 | | | 0,54 (k) ¹ | |
| 0,61-0,70 | | | 0,64 (k) ² | |
| 0,71-0,80 | 0,74 ³ | | 0,74 (k) ³ | |
| 0,81-0,90 | 0,81 ⁴ | | 0,81 (k) ⁴ | |
| 0,91-1,00 | 0,91 ⁵ | 0,91 ⁶ | 0,91 (m) ⁵ | 0,91(k) ⁶ |

Keterangan: k = kuning; m = merah muda

4.4.2 Parameter non spesifik

Parameter standarisasi non spesifik yang dilakukan pada penelitian ini meliputi penetapan kadar air dan kadar abu dari ekstrak etanol daun binahong. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 4.11.

Tabel 4.11. Hasil uji parameter non spesifik ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*).

| Parameter Standarisasi | Hasil | Pustaka (Paskartini, 2017) |
|------------------------|-------|-------------------------------|
| Kadar air (%) | 7,44 | < 8 |
| Kadar abu (%) | 12,87 | < 14 |

4.5 Evaluasi Salep Ekstrak Etanol Daun Binahong

Evaluasi ini dilakukan untuk melihat mutu sediaan salep ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan basis salep tanpa ekstrak etanol daun binahong. Evaluasi meliputi pemeriksaan organoleptis, uji homogenitas dan uji pH. Hasil evaluasi dapat diamati pada Tabel 4.9 dan sediaan salep ekstrak etanol dapat dilihat pada gambar 4.5.

Tabel 4.12. Hasil evaluasi sediaan salep.

| Karakteristik | Persyaratan | Salep Ekstrak Etanol Daun Binahong |
|---------------------|----------------------|------------------------------------|
| Organoleptis | | |
| - Warna | Hijau tua | Hijau tua |
| - Bentuk | Salep | Salep |
| - Bau | Khas | Khas |
| pH | 4,5 – 6,5 (pH kulit) | 5,7 |
| Homogenitas | Homogen | Homogen |



Gambar 4.5. Sediaan salep ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) konsentrasi 20% dan 40%.

4.5.1 Pengamatan organoleptis

Pengamatan organoleptis meliputi bentuk, warna dan bau. Hal ini berhubungan dengan aseptabilitas dari sediaan salep ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*). Spesifikasi sediaan salep ekstrak etanol daun binahong yang diharapkan adalah berwarna hijau tua, berbau khas dan berbentuk salep. Hasil pengamatan organoleptis dapat dilihat pada Tabel 4.12.

4.5.2 Pengujian pH

Pengukuran pH dilakukan untuk mengetahui pH sediaan salep dan menjamin bahwa salep tidak berpotensi menimbulkan reaksi yang merugikan pada kulit seperti iritasi, maka diharapkan pH sediaan mengikuti pH kulit yakni 4,5 – 6,5. Hasil pengukuran pH yang didapatkan adalah 5,41 untuk

sediaan salep ekstrak etanol daun binahong. Hasil pengamatan pH sediaan emulgel dapat dilihat pada Tabel 4.12.

4.5.3 *Pengujian homogenitas*

Pengujian homogenitas dilakukan untuk mengetahui bahwa sediaan salep yang digunakan memenuhi spesifikasi yakni tidak terdapat butiran kasar pada sediaan. Pengujian homogenitas dilakukan dengan cara meratakan sediaan pada kaca objek. Hasil uji dapat dilihat pada Tabel 4.12.

4.6 Pengamatan Jumlah Fibroblas dan Ketebalan Kolagen

Pada penelitian yang telah dilakukan, peneliti menghitung jumlah fibroblas dan mengukur ketebalan (kepadatan) kolagen pada preparat histologi kulit dari hewan coba yakni tikus wistar jantan. Sel fibroblas merupakan sel penting yang berperan dalam proses penyembuhan luka dan juga merupakan sel yang mensintesis beberapa komponen matriks seperti kolagen. Hasil pengamatan mikroskopis terhadap jumlah sel fibroblas dengan perhitungan pada lima lapang pandang dan perbesaran 1000 kali menunjukkan hasil analisis statistik. Pada hari ke-3 menunjukkan bahwa ada perbedaan bermakna ($p < 0.05$) dari rata-rata jumlah fibroblas antar kelompok perlakuan. Pada pengamatan hari ke-7, kelompok tanpa pengobatan (kontrol (-)) berbeda bermakna dengan kelompok bioplacenta (kontrol(+)) dan kelompok salep ekstrak daun binahong konsentrasi 20% dan juga berbeda bermakna dengan kelompok salep ekstrak daun binahong konsentrasi 40%. Hasil analisis rerata jumlah sel fibroblas dapat dilihat pada tabel 4.13.

Pengamatan terhadap ketebalan kolagen dilakukan dengan menghitung rerata ketebalan kolagen pada lima lapang pandang dengan pengamatan mikroskopis perbesaran 1000 kali. Hasil analisis data ketebalan kolagen pada hari ke-3 dan hari ke-7 dapat dilihat pada tabel 4.13. Pada hari

ke-3 kelompok tanpa pengobatan (kontrol (-)) berbeda bermakna dengan kelompok bioplacenton (kontrol(+)) dan kelompok salep ekstrak daun binahong konsentrasi 20% dan juga berbeda bermakna dengan kelompok salep ekstrak daun binahong konsentrasi 40%. Pada hari ke-7, kelompok tanpa pengobatan (kontrol (-)) dan kelompok bioplacenton (kontrol (+)) berbeda bermakna dengan kelompok salep ekstrak daun binahong konsentrasi 20% dan kelompok salep ekstrak daun binahong konsentrasi 40%. Berbeda bermakna diartikan dengan hasil analisis antara kelompok menunjukkan signifikan $p < 0.05$.

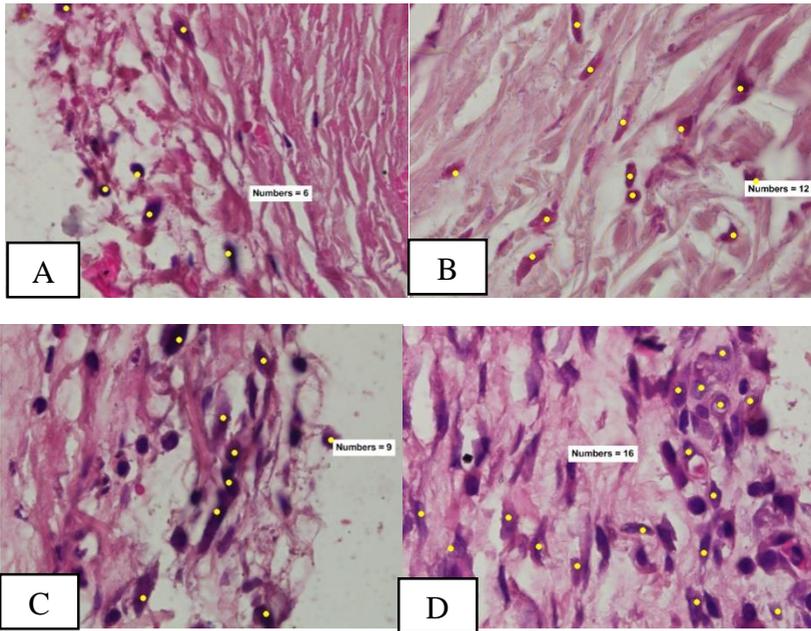
Pengamatan mikroskopis preparat histopatologi jaringan pada masing-masing kelompok yakni kelompok tanpa pengobatan (kontrol (-)), kelompok bioplacenton (kontrol (+)), kelompok salep ekstrak daun binahong 20% dan kelompok salep ekstrak daun binahong 40% menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah sel fibroblas pada hari ke-3 dan hari ke-7. Jumlah sel fibroblas pada hari ke-7 lebih banyak dari jumlah sel pada hari ke-3. Jumlah sel fibroblas terbanyak pada kelompok salep ekstrak etanol daun binahong 40%, diikuti salep ekstrak daun binahong 20%, bioplacenton dan yang terakhir kelompok tanpa pengobatan. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Gambar 4.6.

Tabel 4.13. Hasil rerata perhitungan jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen (\pm SD) pada hari ke-3 dan hari ke-7 ($\alpha = 0,05$; $n = 4$)

| Perlakuan | Jumlah Fibroblas | | Ketebalan Kolagen | |
|-------------|--------------------------------|--------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| | Hari ke-3 | Hari ke-7 | Hari ke-3 | Hari ke-7 |
| Kontrol (-) | 46,67 ^{a†} ± 12,66 | 75,33 ^{a†} ± 1,15 | 7,91 ^{a†} ± 0,88 | 9,97 ^{a†} ± 1,11 |
| Kontrol (+) | 102,67 ^{a,b*} ± 28,22 | 143,33 ^{a,b*} ± 8,08 | 14,77 ^{a,b*} ± 4,23 | 17,23 ^{a,b*} ± 3,26 |
| P1 | 159,00 ^{b,c*} ± 7,00 | 183,67 ^{b,c*} ± 10,12 | 17,19 ^{b,c*} ± 2,05 | 24,71 ^{b,c*} ± 10,35 |
| P2 | 245,33 ^{c*} ± 32,87 | 333,00 ^{c*} ± 40,85 | 22,82 ^{c*} ± 1,72 | 26,98 ^{c*} ± 7,22 |

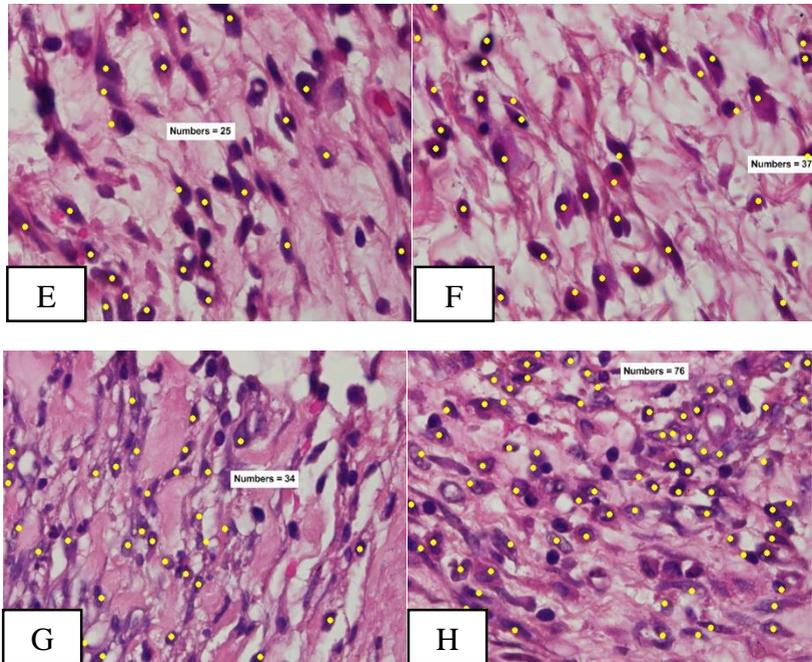
Keterangan: Kontrol (-) = Tanpa pengobatan
 Kontrol (+) = Bioplacenton
 P1 = Salep ekstrak etanol daun binahong 20%
 P2 = Salep ekstrak etanol daun binahong 40%

* = Superskrip pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan



Gambar 4.6. Hasil pengamatan mikroskopis sel fibroblas dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* perbesaran 1000 kali.

Keterangan: A =Kelompok tanpa pengobatan (kontrol (-)) pengamatan hari ke-3
B =Kelompok tanpa pengobatan (kontrol (-)) pengamatan hari ke-7
C =Kelompok bioplacenton (kontrol (+)) pengamatan hari ke-3
D =Kelompok bioplacenton (kontrol (+)) pengamatan hari ke-7

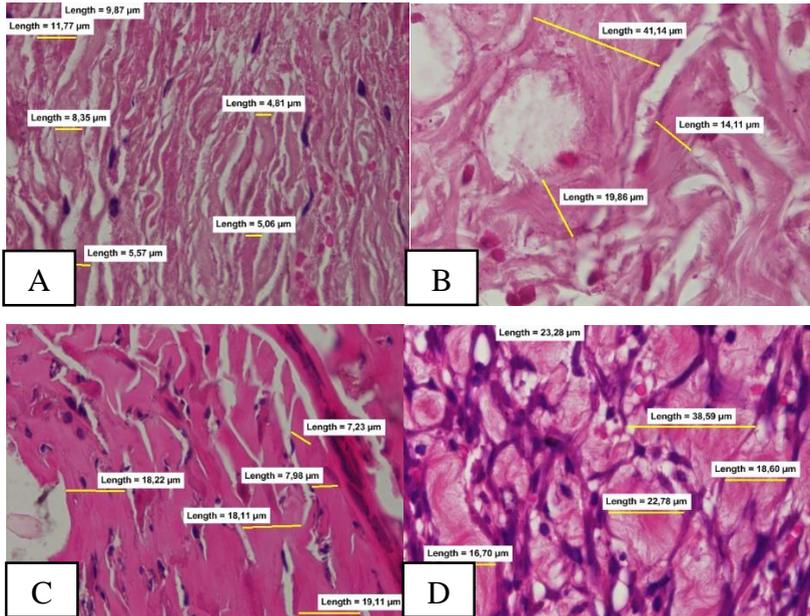


Gambar 4.6. (Lanjutan).

- Keterangan: E = Kelompok salep ekstrak etanol daun binahong 20% pengamatan hari ke-3
 F = Kelompok salep ekstrak etanol daun binahong 20% pengamatan hari ke-7
 G = Kelompok salep ekstrak etanol daun binahong 40% pengamatan hari ke-3
 H = Kelompok salep ekstrak etanol daun binahong 40% pengamatan hari ke-7

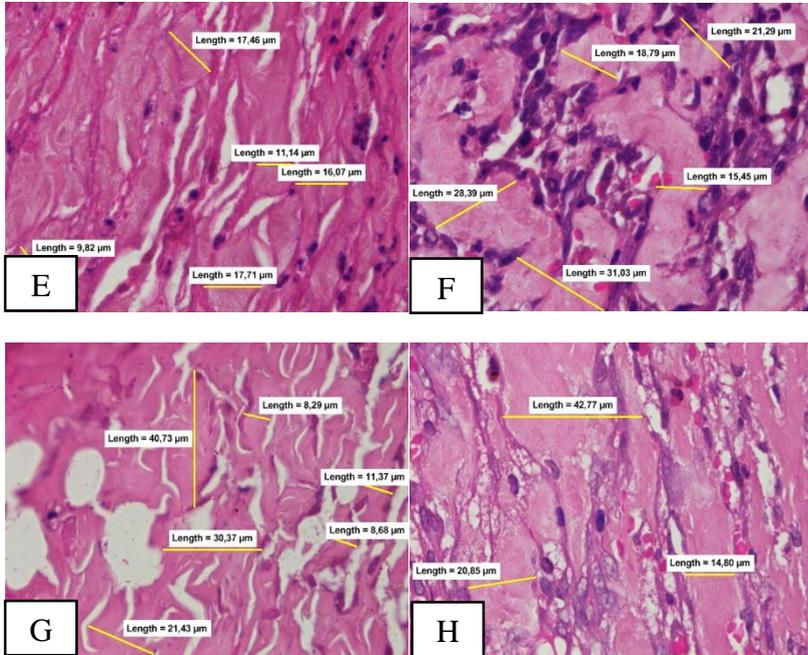
Pengamatan ketebalan kolagen secara mikroskopis dengan perbesaran 1000 kali dilakukan pada masing-masing kelompok perlakuan pada hari ke-3 dan hari ke-7. Hasil menunjukkan bahwa serabut kolagen lebih tebal pada pengamatan hari ke-7 dibandingkan pada hari ke-3, hal ini disebabkan karena jumlah fibroblast yang mensintesis kolagen lebih banyak pada hari ke-7. Di antara keempat kelompok perlakuan, serabut kolagen yang diamati paling tebal terdapat pada kelompok salep ekstrak etanol daun

binahong 40%, diikuti salep ekstrak daun binahong 20%, salep asam fusidat dan yang terakhir kelompok tanpa pengobatan. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7. Hasil pengamatan mikroskopis ketebalan kolagen dengan pewarnaan *Hematoxyllin-Eosin* perbesaran 1000 kali.

- Keterangan: A = Kelompok tanpa pengobatan (kontrol (-)) pengamatan hari ke-3
 B = Kelompok tanpa pengobatan (kontrol (-)) pengamatan hari ke-7
 C = Kelompok bioplacenta (kontrol (+)) pengamatan hari ke-3
 D = Kelompok bioplacenta (kontrol (+)) pengamatan hari ke-7



Gambar 4. 7 (Lanjutan)

Keterangan: E = Kelompok salep ekstrak etanol daun binahong 20% pengamatan hari ke-3

F = Kelompok salep ekstrak etanol daun binahong 20% pengamatan hari ke-7

G = Kelompok salep ekstrak etanol daun binahong 40% pengamatan hari ke-3

H = Kelompok salep ekstrak etanol daun binahong 40% pengamatan hari ke-7

4.7 Pembahasan

Dalam penelitian ini digunakan ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun binahong memiliki potensi untuk menyembuhkan luka bakar dengan melihat peningkatan jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen. Daun binahong dipilih karena tanaman ini memiliki banyak khasiat untuk kesehatan yakni

diantaranya untuk mempercepat pemulihan kesehatan setelah operasi, penyembuhan bermacam luka dalam, luka luar, radang usus, melancarkan peredaran darah, mencegah stroke, maag, asam urat, mengembalikan vitalitas daya tahan tubuh, melancarkan buang air kecil, serta diabetes (Susetya, 2010). Ekstrak daun binahong juga dapat mengurangi peradangan sel dan meningkatkan jumlah fibroblas pada cedera (Sumartiningsih, 2012). Selain itu tanaman binahong mudah ditemukan karena banyak tumbuh di berbagai daerah di Indonesia. Banyaknya manfaat dari tanaman binahong, maka peneliti melakukan penelitian secara eksperimental guna melihat pengaruh ekstrak daun binahong terhadap proses penyembuhan luka bakar.

Penelitian ini menggunakan tanaman binahong (*Anredera cordifolia*) berupa daun segar yang diperoleh dari Green House Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya dan serbuk simplisia yang diperoleh dari Balitro Bogor. Sebelum digunakan sebagai sediaan topikal, dilakukan karakterisasi daun binahong terhadap tanaman segar daun binahong (*Anredera Cordifolia*) yang diperoleh dari Green House Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya. Tujuan dilakukan karakterisasi tanaman segar adalah untuk mengidentifikasi tanaman binahong baik secara makroskopis maupun mikroskopis sehingga dapat menentukan karakteristik tanaman binahong dan dapat dibedakan dari tanaman lain. Pengamatan makroskopik dilakukan untuk mengetahui bentuk, warna dan ukuran daun, tulang daun, tekstur daun serta filotaksis daun. Hasil pengamatan makroskopis dapat dilihat pada Tabel 4.1. Pengujian mikroskopik dilakukan dengan mengamati irisan melintang dan membujur dari tanaman segar daun binahong. Pengamatan mikroskopik dilakukan dengan menggunakan media air dan penambahan kloralhidrat untuk mengetahui jaringan penyusun serta keberadaan kristal dalam tanaman tersebut, kemudian ditambahkan floroglusin HCl untuk mengetahui jaringan

berkas pembuluh serta yang mengandung zat lignin yang akan memberikan warna merah. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 4.2 dan Gambar 4.2.-4.4.

Penentuan kualitas serbuk simplisia dan ekstrak dari daun binahong dilakukan dengan proses standarisasi. Tujuan dilakukan standarisasi adalah guna menjamin mutu bahan obat yang kemudian akan dijadikan sebagai sediaan obat dan diberikan secara topikal. Proses standarisasi meliputi parameter non spesifik seperti penetapan kadar air dan kadar abu, serta parameter spesifik yang mencakup identitas, organoleptis, pengamatan mikroskopik, skrining fitokimia dan penetapan profil kromatogram dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Penetapan kadar air bertujuan untuk mengetahui besarnya kandungan air didalam bahan setelah proses pengeringan. Hal ini dilakukan untuk memastikan tidak adanya pertumbuhan jamur sehingga dapat memperpanjang waktu penyimpanan bahan tersebut. Sedangkan penetapan kadar abu dilakukan dengan tujuan untuk memberikan gambaran tentang kandungan mineral yang berasal dari tanaman secara alami maupun kontaminan selama proses pemanenan sampai diperoleh simplisia maupun ekstrak yang baik dan bermutu. Pada tahap ini simplisia dan ekstrak dipanaskan hingga senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sampai tinggal unsur mineral dan anorganik saja. Hasil penetapan kadar air dan kadar abu pada serbuk simplisia dan ekstrak daun binahong dapat dilihat pada Tabel 4.4 dan 4.8. Dari hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa kadar air dan kadar abu telah memenuhi standar pada pustaka (Paskartini, 2017) yakni kadar air < 11% untuk simplisia dan < 8% untuk ekstrak. Sedangkan kadar abu yakni < 19% untuk simplisia dan < 14 % untuk ekstrak.

Penentuan identitas serbuk simplisia dan ekstrak daun binahong dilakukan dengan mendeskripsikan tata nama yakni nama simplisia

(*Anrederae Folium/ simplisia* daun binahong) dan ekstrak (*Anredera cordifolii extractum spissum/ ekstrak* daun binahong), nama latin tanaman (*Anredera cordifolia* (TEN) Steenis), bagian yang digunakan (daun) serta senyawa identitas. Pengamatan organoleptis dilakukan untuk mengidentifikasi bentuk, warna dan bau dari serbuk simplisia dan ekstrak daun binahong. Hasil pengamatan yang tersaji dalam Tabel 4.3 dan 4.5. menunjukkan bahwa serbuk simplisia daun binahong memiliki bentuk serbuk kasar, berwarna coklat dan berbau aromatis sedangkan ekstraknya berbentuk ekstrak kental, berwarna coklat kehitaman dan berbau aromatis. Pengamatan mikroskopik dilakukan untuk mengetahui fragmen-fragmen spesifik yang terkandung di dalam serbuk simplisia daun binahong yang membedakan dari simplisia lain. Fragmen-fragmen tersebut yakni kristal Ca-Oksalat yang berbentuk roset, berkas pembuluh, stomata tipe parasitik dan rambut penutup. Hasil pengamatan dari fragmen-fragmen spesifik ini dapat dilihat pada Gambar 4.6. Selanjutnya, dilakukan skrining fitokimia untuk mengidentifikasi kandungan senyawa kimia yang terdapat di dalam ekstrak daun binahong. Hasil pengujian skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong mengandung senyawa-senyawa kimia yakni alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan terpenoid. Kandungan senyawa flavonoid berperan dalam proses penyembuhan luka yakni sebagai antioksidan dan antibakteri yang meningkatkan aktivasi dan proliferasi fibroblas sehingga memicu pembentukan kolagen dan mempercepat proses penyembuhan luka. Selain itu senyawa tanin dan saponin juga berperan dalam meningkatkan jumlah sel fibroblas dalam jaringan. Pada skrining fitokimia senyawa flavonoid, warna kuning pada lapisan amil alkohol yang menunjukkan ekstrak mengandung senyawa flavonoid tidak terlalu tampak/ kelihatan. Hal ini dikarenakan kurangnya volume amil alkohol yang diberikan dan juga konsentrasi dari ekstrak yang terlalu besar.

Pengujian kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan standarisasi parameter spesifik terakhir yang dilakukan terhadap ekstrak daun binahong. Tujuan dilakukan KLT adalah untuk mengamati profil kromatogram dari ekstrak daun binahong dan mengidentifikasi kandungan senyawa flavonoid di dalam ekstrak. Pengujian KLT dilakukan dengan menggunakan fase diam silika gel F₂₅₄ dan campuran beberapa fase gerak yakni *n*-butanol : asam asetat : air (4:1:5) yang memiliki indeks polaritas sebesar 7,26. Semakin besar indeks polaritas suatu pelarut maka makin besar juga polaritas dari pelarut tersebut. Hal ini menjelaskan bahwa fase gerak yang digunakan untuk pengujian KLT bersifat polar. Dipilihnya fase gerak bersifat polar didasarkan pada sifat senyawa flavonoid yang larut dalam pelarut yang lebih polar. Pengujian KLT dilakukan dengan melakukan penotolan sampel dan pembanding ke fase diam. Ekstrak daun binahong dibuat dalam konsentrasi 1% (1g/ 100 ml) dan ditotolkan sebanyak 10 µl sedangkan pembanding yakni kuersetin (golongan senyawa flavonoid) dibuat dalam konsentrasi 0,5% (0,5 g/ 100 ml) dan ditotolkan sebanyak 2 µl. Hasil menunjukkan bahwa terdapat 4 noda pada pengamatan di bawah sinar UV 254 dan 6 noda di bawah UV 366. Pengamatan dilakukan sebelum dan setelah disemprotkan penampak bercak AlCl₃ dimana setelah disemprotkan noda mengalami fluoresensi menjadi kuning yang menunjukkan adanya kandungan senyawa flavonoid.

Sebelum dilakukan standarisasi ekstrak daun binahong seperti diatas, terlebih dahulu dilakukan ekstraksi serbuk simplisia yang sudah distandarisasi. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Etanol merupakan pelarut serba guna yang baik untuk ekstraksi pendahuluan (Harbone, 1987), selain itu etanol juga memiliki kemampuan menyari dengan polaritas yang lebar mulai dari senyawa non polar sampai polar. Maserasi merupakan proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan

atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana dan merupakan ekstraksi dingin sehingga bahan alam yang tidak tahan pemanasan tidak mudah terurai (Saifudin, Rahayu dan Teruna, 2011). Maserasi dilakukan sebanyak 3 kali replikasi pada 900 gram serbuk simplisia dengan total pelarut 2300 ml. Kemudian total maserat dikumpulkan dan dipekatkan dengan penguapan menggunakan *waterbath* dan didapat ekstrak kental sebesar 56,7 gram. Hasil yang diperoleh kemudian dihitung dan didapatkan rendemen ekstrak etanol daun binahong sebesar 6,3%.

Ekstrak etanol daun binahong yang telah terstandarisasi kemudian dicampurkan dengan basis salep untuk memudahkan pengaplikasian pada daerah luka. Pada penelitian ini, dipilih basis salep sebagai pembawa karena basis salep bersifat dapat menutup luka dan membantu penetrasi bahan obat (ekstrak etanol daun binahong) ke dalam lapisan kulit sehingga meningkatkan efektivitas dari sediaan obat tersebut. Basis salep yang digunakan adalah vaselin album dan *adepts lanae* yang merupakan basis salep hidrokarbon. Keuntungan dari basis salep ini adalah bersifat melunakkan lapisan kulit (*emollient*) karena *occlusive* (meninggalkan lapisan di permukaan kulit sehingga akan meningkatkan hidrasi kulit dengan menghambat penguapan air pada lapisan kulit. Hidrasi lapisan kulit akan meningkatkan aktivitas obat. Basis hidrokarbon juga dapat memberikan efek *moisture* (lembab) pada kulit. Sebelum dicampurkan dengan ekstrak etanol daun binahong, terlebih dahulu kedua basis dicampurkan di dalam mortir panas hingga homogen dan baru kemudian dicampurkan dengan ekstrak dengan jumlah sesuai perhitungan untuk ekstrak etanol daun binahong konsentrasi 20% dan konsentrasi 40%. Uji evaluasi dilakukan terhadap sediaan salep ekstrak daun binahong yang telah jadi untuk memastikan sediaan sesuai dengan karakteristik yang ditentukan. Evaluasi meliputi uji

organoleptis, penentuan pH dan uji homogenitas. Uji organoleptis bertujuan untuk mengetahui bentuk warna dan bau. Salep ekstrak etanol daun binahong memiliki bentuk sediaan salep, berwarna hijau tua dan berbau khas. Selain itu, tujuan dari pengujian organoleptis adalah memberikan pengenalan awal dengan cara yang sederhana dan seobyektif mungkin, yaitu menggunakan panca indra untuk mendapatkan deskripsi mengenai bentuk, warna dan bau. Pengujian pH dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui derajat keasaman dari sediaan, jika sediaan terlalu basa dapat menyebabkan kulit menjadi besisik sebaliknya jika sediaan terlalu asam dapat menyebabkan iritasi pada kulit. Uji pH pada salep ekstrak etanol daun binahong mendapatkan hasil pH 5,7 yang memenuhi pH persyaratan untuk sediaan salep yakni pH kulit (4,5 – 6,5). Alasan disesuaikan dengan pH kulit adalah agar tidak mengiritasi pada saat pengaplikasian sediaan salep. Uji homogenitas memiliki tujuan untuk mengetahui ketercampuran antara basis salep dan ekstrak etanol daun binahong dengan mengamati bahwa sediaan tidak memiliki butiran kasar, tidak ada perbedaan warna dan tidak terdapat gumpalan-gumpalan pada sediaan. Sediaan dikatakan homogen bila zat aktif pada salep ekstrak etanol daun binahong memiliki kadar yang sama pada setiap pengaplikasian, sehingga homogenitas juga mempengaruhi efektivitas sediaan. Hasil pengujian menunjukkan bahwa salep ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (TEN) Steenis) homogen.

Setelah pengujian sediaan salep ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan telah memenuhi spesifikasi maka dapat dilanjutkan pengaplikasian pada hewan coba. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih jantan, alasan dari dipilihnya tikus jantan karena tikus betina adanya siklus hormonal mempengaruhi proses penyembuhan luka. Tikus yang digunakan adalah tikus galur wistar (*Rattus novergicus*) sebanyak 24 ekor yang berusia 3-4 bulan dengan berat badan sekitar 250-300 gram, sehat, tidak

bercacat, dan belum pernah digunakan dalam penelitian sebelumnya. Sebelum dilakukan penelitian, hewan coba terlebih dahulu diadaptasi, selama diadaptasi tidak ada hewan coba yang mengalami penurunan berat badan, kemudian dibuat luka bakar dengan diameter 2 cm menggunakan batangan besi panas 95°C selama 20 detik. Untuk perlakuan hewan coba dibagi menjadi empat kelompok perlakuan yakni kelompok perlakuan yakni kelompok kontrol negatif (-), kelompok kontrol positif (+) menggunakan Bioplacenton, kelompok kedua yaitu kelompok perlakuan menggunakan salep ekstrak daun binahong dengan konsentrasi 20%, kelompok ketiga yaitu kelompok perlakuan menggunakan salep ekstrak daun binahong dengan konsentrasi 40%, dimana masing-masing kelompok dibagi menjadi perlakuan hari ke-3 dan perlakuan hari ke-7 yang terdiri dari 3 ekor tikus per perlakuan dengan pengolesan salep ekstrak daun binahong setiap hari. Secara mikroskopis dilakukan pengambilan preparat jaringan yang sebelumnya tikus dikorbankan dengan anestesi sistemik menggunakan eter hingga melebihi dosis, dan dilakukan pengambilan jaringan pada kulit dan dibuat preparat histopatologi pada tikus hari ke-3 dan hari ke-7. Preparat histopatologi dengan pewarnaan menggunakan Hemaktosisilin Eosin (HE). Secara mikroskopis yang diamati adalah jumlah sel fibroblas dan ketebalan kolagen. Fibroblas merupakan sel yang paling umum ditemui pada jaringan ikat dan mensintesis beberapa matriks ekstraseluler seperti kolagen. Peran fibroblas sangat besar pada proses perbaikan, persiapan menghasilkan kolagen yang akan digunakan selama proses rekonstruksi jaringan. Fibroblas berfungsi menghubungkan sel-sel jaringan yang berpindah kedaerah luka mulai 24 jam pertama setelah terjadinya luka (Balqis, Masyitha, dan Febriana, 2014).

Pada pengamatan jumlah sel fibroblas setiap kelompok ditunjukkan adanya kemajuan dari penyembuhan luka. Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan pada kelompok pengorbanan hari ke-3, jumlah rata-rata sel

fibroblas lebih sedikit dibandingkan jumlah fibroblas pada pengorbanan hari ke-7. Pengorbanan hari ke-7 lebih banyak hal ini dikarenakan memasuki hari ke-4 sampai hari ke 21 termasuk proses penyembuhan luka poliferasi atau biasa disebut fase *fibroplasi* karena fibroblas merupakan sel utama dalam fase ini dimana ia menyediakan kerangka untuk migrasi keratinosit (Gurtner, 2007). Pada fase ini, matriks fibrin yang didominasi oleh platelet dan makrofag secara gradual digantikan oleh jaringan granulasi yang tersusun dari kumpulan fibroblas, makrofag dan sel endotel yang membentuk matriks ekstraseluler dan neovaskular. Pada fase destruktif, sel polimorf dan makrofag membunuh bakteri jahat dan terjadi proses debris luka. Pada fase ini, makrofag juga berfungsi menstimulasi fibroblas untuk menghasilkan kolagen tipe III, elastin dan terjadi proses angiogenesis. Kolagen dan elastin yang dihasilkan menutupi luka dengan membentuk ikatan jaringan baru. Proses ini disebut proses granulasi, yaitu tumbuhnya sel-sel baru. Epitelisasi terjadi setelah tumbuh jaringan granulasi dan dimulai dari tepi luka yang mengalami proses migrasi membentuk lapisan tipis berwarna merah muda menutupi luka. Sel pada lapisan ini sangat rentan dan mudah rusak. Sel mengalami pergeseran, tepi luka menyatu hingga ukuran luka mengecil (Ristaningsih, 2016; Hidayat, 2013).

Kolagen termasuk protein fibrin, yang berada di daerah dermis berperan dalam pembentukan struktur sel terbesar pada matriks ekstraseluler yang mempertahankan bentuk jaringan. Hasil perhitungan rerata ketebalan kolagen menggunakan *One Way Anova-Duncan test* pada hari ke-3 kelompok tanpa pengobatan (kontrol (-)) berbeda bermakna dengan kelompok bioplacenton (kontrol(+)) dan kelompok salep ekstrak daun binahong konsentrasi 20% dan juga berbeda bermakna dengan kelompok salep ekstrak daun binahong konsentrasi 40%. Pada hari ke-7, kelompok tanpa pengobatan (kontrol (-)) dan kelompok bioplacenton (kontrol (+)) berbeda bermakna

dengan kelompok salep ekstrak daun binahong konsentrasi 20% dan kelompok salep ekstrak daun binahong konsentrasi 40%. Pada pengamatan kepadatan deposit kolagen ada perbedaan bermakna antara pengorbanan hari ke-3 dengan ke-7 dimana pada kelompok pengorbanan pada hari ke-7 gambaran kolagen lebih tinggi daripada kelompok pengorbanan hari ke-3.

Pengamatan mikroskopis preparat histopatologi jaringan pada masing-masing kelompok menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah sel fibroblas pada hari ke-3 dan ke-7. Jumlah sel fibroblas pada hari ke-7 lebih banyak dari jumlah sel pada hari ke-3. Hal ini juga menyebabkan pembentukan kolagen lebih banyak pada hari ke-7. Kelompok perlakuan yang paling banyak meningkatkan jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen adalah kelompok ekstrak etanol daun binahong 40% diikuti ekstrak etanol daun binahong 20%, kelompok bioplacenton dan yang terakhir kelompok tanpa pengobatan.

Terjadinya peningkatan jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen pada kelompok perlakuan salep ekstrak etanol daun binahong konsentrasi 20% dan 40% dibandingkan dengan kelompok tanpa pengobatan dan kelompok bioplacenton disebabkan karena salep ekstrak etanol daun binahong mengandung senyawa-senyawa kimia seperti flavonoid, saponin, dan tanin yang berperan penting dalam proses penyembuhan luka terutama dalam pembentukan sel fibroblas. Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan yang bisa meningkatkan aktivasi dan proliferasi fibroblas, sehingga memicu pembentukan kolagen dan mempercepat proses penyembuhan luka. Flavonoid juga berfungsi sebagai antibakteri yang menyebabkan infeksi pada luka lebih cepat terobati (Barbul,2005). Selain itu, flavonoid memiliki mekanisme kerja yaitu terjadinya penghambatan antiinflamasi oleh adanya penghambatan enzim siklooksigenase yang disebabkan disebabkan senyawa aktif flavonoid yang tersari dalam ekstrak dimana flavnoid mempunyai

kemampuan sebagai inhibitor enzim lipooksigenase dan sikloksigenase (Marbun, 2015). Saponin yang memiliki manfaat dalam meningkatkan jumlah sel fibroblas dan menstimulasi pembentukan kolagen (Astuti dkk, 2011). Pembentukan kolagen dipengaruhi oleh kandungan vitamin C dalam daun binahong (Nur, 2010).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dan hasil analisis data yang didapatkan maka dapat diambil kesimpulan

1. Ekstrak daun binahong konsentrasi 20% dan 40% dapat meningkatkan jumlah fibroblas pada tikus wistar dengan luka bakar dibandingkan dengan kontrol negatif pada hari ke-3 dan hari ke-7.
2. Ekstrak daun binahong konsentrasi 20% dan 40% dapat meningkatkan ketebalan kolagen pada tikus wistar dengan luka bakar dibandingkan dengan kontrol negatif pada hari ke-3 dan hari ke-7.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aturan pakai yang berbeda sehingga diketahui dosis optimal penggunaan.
2. Ekstrak etanol daun binahong dapat diberikan secara topikal yang bermanfaat untuk mempercepat proses penyembuhan luka bakar.

DAFTAR PUSTAKA

- Aini, S.Q., 2014. 'Pengaruh Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) terhadap Pembentukan Jaringan Granulasi pada Luka Bakar Tikus *Sprague Dawley* (Studi Pendahuluan Lama Paparan Luka Bakar 30 Detik dengan Plat Besi)', *Skripsi*, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Andriyani, Hanapi, A., Fasya, A. G. dan Hasanah, H., 2015. Identifikasi Senyawa Flavonoid dan Efek Terapi Ekstrak Etanol 70% Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Kadar Glukosa Darah dan Aktifitas SOD (Superoksida dismutase) Jantung Tikus yang Diinduksi Aloksan, *Journal of Chemistry*, **4(1)**: 73-78.
- Anief, M., 1997. *Ilmu Meracik Obat*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Ansel, H.C. 1985. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, diterjemahkan dari Bahasa Inggris oleh Ibrahim, F. 1989, Edisi Keempat, Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Astuti, S. M., 2013. Skrining Fitokimia dan Uji Aktifitas Antibiotika Ekstrak Etanol Daun, Batang, Bunga dan Umbi Tanaman Binahong (*Anredera cardifolia* (Ten.) Steenis), *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, **1(2)**: 51-62.
- Badan POM RI, 2008. *Taksonomi koleksi tanaman obat kebun tanaman obat citeureup*, Jakarta: Badan POM RI, p 10.
- Balqis, U., Masyitha, D., Febrina, F., 2014. Proses Penyembuhan Luka Bakar dengan Gerusan Daun Kedondong (*Spondias dulcus* F.) dan Vaseline pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Secara Histopatologis, *Jurnal Medika Veterinaria*, **8(1)** : 9-14.
- Barbul, A., 2005. 'Wound Healing' in F. Charles, B., Dana, K., Andersen, Timothy R., Billiar, David, L., John F., Raphael P, *Schwartz's principles of surgery*, 8th ed, McGraw-Hill Companies, New York.
- Cronquist, A., 1981. *An Integrated System of Clasification of Flowering Plants*, Columbia University Press, New York.
- Departemen Kesehatan RI, 1977. *Materia Medika Indonesia*, Edisi I, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan RI, 1980. *Materia Medika Indonesia*, Edisi IV, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- Departemen Kesehatan RI, 1985. *Materia Medika Indonesia*, Jilid III, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan RI, 1989. *Daftar Tanaman Obat*, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, p. 108.
- Direktorat Jenderal POM RI, 2000. *Parameter Standar Daun Ekstrak Tumbuhan Obat*, Jilid 1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, pp.1-17.
- Effendi, C.1999. *Perawatan Pasien Luka Bakar*, EGC, Jakarta.
- Fidrianny, I., Wirasutisna, K. R. dan Amanda, P., 2013. Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dari Babakan Ciparay Bandung, Indonesia, *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, **(38)1**: 12-16.
- Firdausi, R. N., 2015. ‘Pengaruh Ekstrak Etanol Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Profil Histopatologi Penyembuhan Luka Tikus Wistar Jantan yang diinduksi Aloksan’, *Skripsi*, Universitas Jember, Jember.
- Ganeser, F., 1994. *Textbook of Histology*, Munksgaard, Denmark.
- Gupta, N., Jain, U.K., 2010. Prominent Wound Healing Properties of Indigenous Medicines, *Journal of National Pharmaceutical*, **(1)**:2-10.
- Gurtner, G.C., 2007. *Wound Healing, Normal and Abnormal*, 6th Edition. Saunders Company, Philadelphia.
- Harborne, J. B., 1987. *Metode Fitokimia*. Terjemahan: Padmawinata, K dan Soediro, I, Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Hariana, Arif., 2013. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Cetakan Pertama, Penebar Swadaya, Jakarta, p 60.
- Hidayat, T. S., 2013. ‘Peran Topikal Ekstrak Gel Aloe Vera Pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat Dalam Pada Tikus’, *Skripsi*, Departemen / SMF Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya.
- Hubrecht, R., Kirkwood, J., 2010. *The UFAW Handbook on The Care and Management of Laboratory and Other Research Animals*. 8th Edition, Wiley-Blackwell, London, pp 312-313.
- Idries, A. M., 1997, *Pedoman Ilmu Kedokteran Forensik*, Edisi I, Binaputra Aksara, Jakarta, p 117-120.

- Krinke, G. J., 2000. *The Handbook of Experimental Animals The Laboratory Rat*, Academy Press, New York, pp 46-51.
- Latifah., 2005. 'Identifikasi golongan senyawa flavonoid dan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak rimpang kencur *Kaempferia galanga* L. dengan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*)', *Skripsi*, Sarjana Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Manoi, F., 2009. Binahong (*Anredera cordifolia*) sebagai Obat, *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*, **15 (1)**: 3-5.
- Mercandetti, M. dan Cohen A., 2002. *Wound healing, healing and repair*. Emedicine, , <http://www.eMedicine.com.Inc>. Diakses 10 Agustus 2017.
- Mitruka, J. dan Rawnsley H. M., 1976. *Animal for Medical Research*, John Wiley and Sons, New York, p 273.
- Moenadjat, Y., 2009. *Luka Bakar dan Tata Laksana*, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Mulyata, S. 2002, 'Analisis imunohistokimia TGF- β Indikasi Hambatan Kesembuhan Luka Operasi Episiotomi pada Tikus Sprague Dawley', Indoanesthesia Organization, *1st Indonesian simposium on obstetic anaesthesia*, Bandung.
- Muttaqin, A. dan Kumala S., 2011. *Asuhan Keperawatan Gangguan Sistem Integumen*, Salemba Medika, Jakarta.
- Noer, M.S., 2006. *Penanganan Luka Bakar*, Airlangga University Press, Surabaya.
- Notoatmodjo, S., 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*, Rineka Cipta, Jakarta.
- Nur, D.M., 2010. 'Perbedaan Kadar Vitamin C pada Daun Binahong Segar dan Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis)', *Skripsi*, Universitas Muhammadiyah, Semarang.
- Nuriyah, B. dan Munawaroh R., 2016. Skrining Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% dari Beberapa Daun Tanaman di Indonesia terhadap Bakteri *Salmonella tiphy* Serta Bioautografinya', *Skripsi*, Universitas Muhammadiyah, Surakarta.
- Paju, N., Paulina V. Y. dan Kojong, N., 2013. Uji Efektivitas Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) pada Kelinci

- (*Oryctolagus cuniculus*) yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Jurnal Ilmiah Farmasi- UNSRAT*, **2(1)**: 52.
- Paskartini, T. G., 2017. 'Parameter standarisasi tanaman segar, simplisia dan ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) dari tiga daerah berbeda', *Skripsi*, Universitas Katholik Widya Mandala, Surabaya.
- Perdanakusuma, D. S., 2007. *Anatomi Fisiologi Kulit dan Penyembuhan Luka*, Airlangga University School of Medicine, Surabaya.
- Rachmawati, S., 2007. 'Studi Makroskopi dan Skrining Fitokimia Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)', *Skripsi*, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Rahma, F.N., 2014. 'Pengaruh Pemberian Salep Ekstrak Daun Binahong terhadap reepitalisasi pada luka bakar tikus Sprague Dawley', *Skripsi*, Universitas Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Rahmawati, L., Fachriyah, E. dan Kusriani, D., 2012. 'Isolasi, Identifikasi dan Uji aktifitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)', *Skripsi*, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Ristaningsih, P. M. 2016. 'Efektivitas Gel Putih Telur Pada Luka Bakar Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Melalui Pengamatan Waktu Penyembuhan Luka dan Kepadatan Deposit Kolagen', *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Katolik Widya Mandala, Surabaya.
- Rochani, N., 2009. 'Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) terhadap *Candida Albicans* serta Skrining Fitokimianya', *Skripsi*, Universitas Muhammadiyah, Surakarta.
- Rowe, R. C., Sheskey, P. J., and Quinn, M. E., 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 6th Edition, Pharmaceutical Press and The American Pharmacist Association, London.
- Sabiston, D.C., 1997. *Buku Ajar Bedah*, EGC, Jakarta.
- Saifudin, A., Rahayu, dan Teruna, 2011. *Standardisasi Bahan Obat Alam*, Graha Ilmu, Yogyakarta.
- Selawa, W., Runtunewe, M. R. J. dan Citraningtyas G., 2013. Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), *Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*, **(2)1**: 59.

- Septiningsih, E. 2008. 'Efek Penyembuhan Luka Bakar Ekstrak Etanol 70% Daun Pepaya (*Carica papaya* L) dalam sediaan Gel pada Kulit Kelinci New Zealand', *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah, Surakarta.
- Somantri, D. dan Irman, S., 2007. *Perawatan Luka*. <http://irmanthea.blogspot.com/2007/07/definisi-luka-adalah-rusaknya.html>. diunduh 22 September 2017.
- Stott, N.A. and Whitney, J.D., 1993. *Wound Healing Critical Care Nursing*, Saunders Company, Philadelphia.
- Sudiono, J., Kurniadi, B., Hendrawan A. dan Djimantoro B., 2003. *Ilmu Patologi*, EGC, Jakarta.
- Sumartiningsih, S., 2012. 'The Benefit of Topically Administered Binahong for Treatment of Sport Injury (Hematoma)', *International Conference: Research and Application on Traditional Complementary and Alternative Medicine in Health Care (TCAM)*, Surakarta, **22(1)**: 28-31.
- Suriadi., 2004. *Perawatan Luka*, Edisi 1, CV. Sagung Seto, Jakarta.
- Sweetman, S.C., 2009. *Martindale The Complete Drug Reference*, 36th Edition, Pharmaceutical Press, New York.
- Syamsuhidayat, R. dan Wim, D.J., 1997. *Buku Ajar Ilmu Bedah*, Edisi 1, EGC Press, Jakarta.
- Syamsuhidayat, R. dan Wim, D.J., 2005. *Buku Ajar Ilmu Bedah*, Edisi 2, EGC Press, Jakarta.
- Wijayakusuma, H., 1997. *Tanaman Berkhasiat Obat Di Indonesia*, Pustaka Kartini, Jakarta.
- Yahendri, S. W. Y., 2012. Berbagai Bentuk Sediaan Topikal dalam Dermatologi, *Jurnal Cermin Dunia Kedokteran*, Bagian Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang, **(39)6**: 21-2

LAMPIRAN A

PERHITUNGAN HASIL PENETAPAN KADAR AIR DAN KADAR ABU DARI SIMPLISIA DAN EKSTRAK

A. Hasil Penetapan Kadar Air Simplisia Daun Binahong

1. Replikasi 1

$$\begin{aligned} \text{Kadar Air} &= \frac{\text{Berat simplisia} - [(\text{Berat cawan} + \text{simplisia}) - \text{Berat cawan}]}{\text{Berat simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{3,009 - (130,286 - 127,583)}{3,009} \times 100\% \\ &= 10,17\% \end{aligned}$$

2. Replikasi 2

$$\begin{aligned} \text{Kadar Air} &= \frac{\text{Berat simplisia} - [(\text{Berat cawan} + \text{simplisia}) - \text{Berat cawan}]}{\text{Berat simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{3,002 - (118,175 - 115,481)}{3,002} \times 100\% \\ &= 10,26\% \end{aligned}$$

3. Replikasi 3

$$\begin{aligned} \text{Kadar Air} &= \frac{\text{Berat simplisia} - [(\text{Berat cawan} + \text{simplisia}) - \text{Berat cawan}]}{\text{Berat simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{3,010 - (131,635 - 128,933)}{3,010} \times 100\% \\ &= 10,23\% \end{aligned}$$

LAMPIRAN A

(Lanjutan)

B. Hasil Penetapan Kadar Abu Simplisia Daun Binahong

1. Replikasi 1

$$\begin{aligned} \text{Kadar Abu} &= \frac{\{(\text{Berat kurs+Abu}) - \text{Berat kurs}\}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{23,748 - 23,3318}{3,013} \times 100\% \\ &= 13,81\% \end{aligned}$$

2. Replikasi 2

$$\begin{aligned} \text{Kadar Abu} &= \frac{\{(\text{Berat kurs+Abu}) - \text{Berat kurs}\}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{24,764 - 24,3442}{3,009} \times 100\% \\ &= 13,96\% \end{aligned}$$

3. Replikasi 3

$$\begin{aligned} \text{Kadar Abu} &= \frac{\{(\text{Berat kurs+Abu}) - \text{Berat kurs}\}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{23,891 - 23,4724}{3,027} \times 100\% \\ &= 13,82\% \end{aligned}$$

LAMPIRAN A

(Lanjutan)

C. Hasil Penetapan Kadar Air Ekstrak Daun Binahong

1. Replikasi 1

$$\begin{aligned} \text{Kadar Air} &= \frac{\text{Berat ekstrak} - [(\text{Berat cawan} + \text{ekstrak}) - \text{Berat cawan}]}{\text{Berat ekstrak}} \times 100\% \\ &= \frac{2,087 - (145,437 - 143,507)}{2,087} \times 100\% \\ &= 7,52\% \end{aligned}$$

2. Replikasi 2

$$\begin{aligned} \text{Kadar Air} &= \frac{\text{Berat ekstrak} - [(\text{Berat cawan} + \text{ekstrak}) - \text{Berat cawan}]}{\text{Berat ekstrak}} \times 100\% \\ &= \frac{2,024 - (135,842 - 133,967)}{2,024} \times 100\% \\ &= 7,36\% \end{aligned}$$

3. Replikasi 3

$$\begin{aligned} \text{Kadar Air} &= \frac{\text{Berat ekstrak} - [(\text{Berat cawan} + \text{ekstrak}) - \text{Berat cawan}]}{\text{Berat ekstrak}} \times 100\% \\ &= \frac{2,058 - (132,787 - 130,882)}{2,058} \times 100\% \\ &= 7,43\% \end{aligned}$$

LAMPIRAN A

(Lanjutan)

D. Hasil Penetapan Kadar Abu Ekstrak Daun Binahong

1. Replikasi 1

$$\begin{aligned} \text{Kadar Abu} &= \frac{\{(\text{Berat kurs+Abu}) - \text{Berat kurs}\}}{\text{Berat ekstrak}} \times 100\% \\ &= \frac{24,656 - 24,384}{2,146} \times 100\% \\ &= 12,67\% \end{aligned}$$

2. Replikasi 2

$$\begin{aligned} \text{Kadar Abu} &= \frac{\{(\text{Berat kurs+Abu}) - \text{Berat kurs}\}}{\text{Berat ekstrak}} \times 100\% \\ &= \frac{24,564 - 23,305}{2,015} \times 100\% \\ &= 12,85\% \end{aligned}$$

3. Replikasi 3

$$\begin{aligned} \text{Kadar Abu} &= \frac{\{(\text{Berat kurs+Abu}) - \text{Berat kurs}\}}{\text{Berat ekstrak}} \times 100\% \\ &= \frac{23,725 - 23,447}{2,125} \times 100\% \\ &= 13,08\% \end{aligned}$$

LAMPIRAN B

TABEL HASIL PENGAMATAN JUMLAH FIBROBLAS

| | Kelompok | Rata-rata Jumlah Fibroblas (sel/5LP) |
|---------------|---------------|---|
| Kelompok 1 | K- | 33 |
| | K- | 49 |
| | K- | 58 |
| | K+ | 84 |
| | K+ | 91 |
| | K+ | 133 |
| | P20% | 157 |
| | P20% | 159 |
| | P20% | 161 |
| | P40% | 209 |
| | P40% | 254 |
| | P40% | 273 |
| | Kelompok 2 | K- |
| K- | | 76 |
| K- | | 76 |
| K+ | | 136 |
| K+ | | 142 |
| K+ | | 152 |
| P20% | | 172 |
| P20% | | 189 |
| P20% | | 190 |
| P40% | | 286 |
| P40% | | 353 |
| P40% | | 360 |

LAMPIRAN B

(Lanjutan)

Keterangan :

- K- : Kelompok tikus yang tidak diobati
- K+ : Kelompok tikus dengan pemberian bioplacenton
- P20% : Kelompok tikus dengan pemberian salep ekstrak daun binahong 20%
- P40% : Kelompok tikus dengan pemberian salep ekstrak daun binahong 40%

- Kelompok 1 : Kelompok tikus yang dikorbkan hari ke-3
- Kelompok 2 : Kelompok tikus yang dikorbkan hari ke-7

LAMPIRAN C

TABEL HASIL PENGAMATAN KETEBALAN KOLAGEN

| | Kelompok | Rata-rata Tebal Kolagen /5LP |
|---------------|---------------|------------------------------|
| Kelompok 1 | K- | 8,93 |
| | K- | 7,35 |
| | K- | 12,10 |
| | K+ | 7,44 |
| | K+ | 19,64 |
| | K+ | 12,56 |
| | P20% | 19,45 |
| | P20% | 15,44 |
| | P20% | 16,69 |
| | P40% | 24,37 |
| | P40% | 20,97 |
| | P40% | 23,12 |
| | Kelompok 2 | K- |
| K- | | 9,23 |
| K- | | 9,44 |
| K+ | | 14,44 |
| K+ | | 20,81 |
| K+ | | 16,44 |
| P20% | | 20,81 |
| P20% | | 16,88 |
| P20% | | 36,44 |
| P40% | | 19,97 |
| P40% | | 34,40 |
| P40% | | 26,57 |

Keterangan :

K- : Kelompok tikus yang tidak diobati

LAMPIRAN C

(Lanjutan)

- K+ : Kelompok tikus dengan pemberian bioplacenton
- P20% : Kelompok tikus dengan pemberian salep ekstrak daun binahong 20%
- P40% : Kelompok tikus dengan pemberian salep ekstrak daun binahong 40%
- Kelompok 1 : Kelompok tikus yang dikorbkan hari ke-3
- Kelompok 2 : Kelompok tikus yang dikorbkan hari ke-7

LAMPIRAN D

ANALISIS STATISTIK PERHITUNGAN JUMLAH FIBROBLAS

Hari Ke-3

Descriptives

JumlahFibroblasHariKe3

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|----|----------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| Tanpa Pengobatan | 3 | 46.6667 | 12.86228 | 7.31057 | 15.2118 | 78.1215 | 33.00 | 58.00 |
| Bioplacenton | 3 | 1.0267E2 | 26.50157 | 15.30069 | 36.8331 | 168.5002 | 84.00 | 133.00 |
| Salep Ekstrak Binahong Konsentrasi 20% | 3 | 1.5900E2 | 2.00000 | 1.15470 | 154.0317 | 163.9683 | 157.00 | 161.00 |
| Salep Ekstrak Daun Binahong Konsentrasi 40% | 3 | 2.4533E2 | 32.86842 | 18.97659 | 163.6836 | 326.9830 | 209.00 | 273.00 |
| Total | 12 | 1.3842E2 | 78.94009 | 22.78804 | 88.2605 | 188.5728 | 33.00 | 273.00 |

Test of Homogeneity of Variances

JumlahFibroblasHariKe3

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 4.011 | 3 | 8 | .052 |

ANOVA

JumlahFibroblasHariKe3

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 64652.917 | 3 | 21550.972 | 44.275 | .000 |
| Within Groups | 3894.000 | 8 | 486.750 | | |
| Total | 68546.917 | 11 | | | |

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

JumlahFibroblasHariKe3

Duncan

| Perlakuan | N | Subset for alpha = 0.05 | | | |
|---|---|-------------------------|----------|----------|----------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Tanpa Pengobatan | 3 | 46.6667 | | | |
| Bioplacenton | 3 | | 1.0267E2 | | |
| Salep Ekstrak Binahong Konsentrasi 20% | 3 | | | 1.5900E2 | |
| Salep Ekstrak Daun Binahong Konsentrasi 40% | 3 | | | | 2.4533E2 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

LAMPIRAN D

(Lanjutan)

Hari Ke-7

Descriptives

| JumlahFibroblasHariKe7 | | | | | | | | | |
|---|----|----------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|--|
| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum | |
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | | |
| Tanpa Perlakuan | 3 | 75.3333 | 1.15470 | .66667 | 72.4649 | 78.2018 | 74.00 | 76.00 | |
| Bioplacenton | 3 | 1.4333E2 | 8.08290 | 4.66667 | 123.2543 | 163.4124 | 136.00 | 152.00 | |
| Salep Ekstrak Daun Binahong Konsentrasi 20% | 3 | 1.8367E2 | 10.11599 | 5.84047 | 158.5371 | 208.7962 | 172.00 | 190.00 | |
| Salep Ekstrak Daun Binahong Konsentrasi 40% | 3 | 3.3300E2 | 40.85340 | 23.58672 | 231.5145 | 434.4855 | 286.00 | 360.00 | |
| Total | 12 | 1.8383E2 | 100.30212 | 28.95473 | 120.1044 | 247.5623 | 74.00 | 360.00 | |

Test of Homogeneity of Variances

| JumlahFibroblasHariKe7 | | | | |
|------------------------|-----|-----|------|--|
| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. | |
| 9.896 | 3 | 8 | .005 | |

ANOVA

| JumlahFibroblasHariKe7 | | | | | |
|------------------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
| Between Groups | 106989.667 | 3 | 35663.222 | 77.613 | .000 |
| Within Groups | 3676.000 | 8 | 459.500 | | |
| Total | 110665.667 | 11 | | | |

Post Hoc

Homogeneous

JumlahFibroblasHariKe7

| Duncan | | | | | |
|---|---|-------------------------|----------|----------|--|
| Perlakuan | N | Subset for alpha = 0.05 | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | |
| Tanpa Perlakuan | 3 | 75.3333 | | | |
| Bioplacenton | 3 | | 1.4333E2 | | |
| Salep Ekstrak Daun Binahong Konsentrasi 20% | 3 | | 1.8367E2 | | |
| Salep Ekstrak Daun Binahong Konsentrasi 40% | 3 | | | 3.3300E2 | |
| Sig. | | 1.000 | .050 | 1.000 | |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

LAMPIRAN E

ANALISIS STATISTIK PERHITUNGAN KETEBALAN KOLAGEN

Hari Ke-3

Descriptives

KetebalanKolagenHariKe3

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|----|---------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| Tanpa pengobatan | 3 | 7.9067 | .88737 | .51233 | 5.7023 | 10.1110 | 7.35 | 8.93 |
| Bioplacenton | 3 | 14.7667 | 4.22669 | 2.44028 | 4.2670 | 25.2664 | 12.10 | 19.64 |
| Salep Ekstrak Daun Binahong Konsentrasi 20% | 3 | 17.1933 | 2.05184 | 1.18463 | 12.0963 | 22.2904 | 15.44 | 19.45 |
| Salep Ekstrak Daun Binahong Konsentrasi 40% | 3 | 22.8200 | 1.71974 | .99289 | 18.5479 | 27.0921 | 20.97 | 24.37 |
| Total | 12 | 15.6717 | 5.99413 | 1.73036 | 11.8632 | 19.4802 | 7.35 | 24.37 |

Test of Homogeneity of Variances

KetebalanKolagenHariKe3

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 4.083 | 3 | 8 | .050 |

ANOVA

KetebalanKolagenHariKe3

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 343.585 | 3 | 114.528 | 17.743 | .001 |
| Within Groups | 51.640 | 8 | 6.455 | | |
| Total | 395.225 | 11 | | | |

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

KetebalanKolagenHariKe3

Duncan

| Perlakuan | N | Subset for alpha = 0.05 | | |
|---|---|-------------------------|---------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| Tanpa pengobatan | 3 | 7.9067 | | |
| Bioplacenton | 3 | | 14.7667 | |
| Salep Ekstrak Daun Binahong Konsentrasi 20% | 3 | | 17.1933 | |
| Salep Ekstrak Daun Binahong Konsentrasi 40% | 3 | | | 22.8200 |
| Sig. | | 1.000 | .276 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

LAMPIRAN E

(Lanjutan)

Hari Ke-7

Descriptives

KetebalanKolagenHariKe7

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|----|---------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| Tanpa pengobatan | 3 | 9.9733 | 1.11060 | .84121 | 7.2144 | 12.7322 | 9.23 | 11.25 |
| Bioplacenton | 3 | 17.2300 | 3.25765 | 1.88081 | 9.1375 | 25.3225 | 14.44 | 20.81 |
| Salep Ekstrak Daun Binahong Konsentrasi 20% | 3 | 24.7100 | 10.34678 | 5.97372 | -.9928 | 50.4128 | 16.88 | 36.44 |
| Salep Ekstral Daun Binahong Konsentrasi 40% | 3 | 26.9800 | 7.22373 | 4.17062 | 9.0353 | 44.9247 | 19.97 | 34.40 |
| Total | 12 | 19.7233 | 8.93707 | 2.57991 | 14.0450 | 25.4017 | 9.23 | 36.44 |

Test of Homogeneity of Variances

KetebalanKolagenHariKe7

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 3.393 | 3 | 8 | .074 |

ANOVA

KetebalanKolagenHariKe7

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 536.416 | 3 | 178.805 | 4.181 | .047 |
| Within Groups | 342.168 | 8 | 42.771 | | |
| Total | 878.584 | 11 | | | |

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

KetebalanKolagenHariKe7

Duncan

| Perlakuan | N | Subset for alpha = 0.05 | |
|---|---|-------------------------|---------|
| | | 1 | 2 |
| Tanpa pengobatan | 3 | 9.9733 | |
| Bioplacenton | 3 | 17.2300 | 17.2300 |
| Salep Ekstrak Daun Binahong Konsentrasi 20% | 3 | | 24.7100 |
| Salep Ekstral Daun Binahong Konsentrasi 40% | 3 | | 26.9800 |
| Sig. | | .211 | .118 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

LAMPIRAN F

SURAT DETERMINASI SIMPLISIA DAUN BINAHONG

(*Anredera cordifolia*)



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
PUSAT KONSERVASI TUMBUHAN KEBUN RAYA
(Center for Plant Conservation Botanic Gardens)

Jalan Ir. H. Juanda No. 13, P.O.BOX 309 Bogor 16003, Indonesia
Telepon (0251) 8322187 - 8321657 - 8322220 - 8311362, 8352519, Fax. (0251) 8322187, 8311362
Website: www.bogorbotanicgardens.org, krbogor.lipi.go.id, bogorbotanicgardens.lipi.go.id, Email: kribliipi@indosat.net.id



Nomor : B-3599 /IPH.3./KS/XII/2017
Sifat :
Lamp. : -
Perihal : Identifikasi tanaman

Bogor, 13 Desember 2017

Yth. Sumi Wijaya, S.Si., Ph.D., Apt
Dekan Fak. Farmasi
Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya
Surabaya

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi berupa batang dan daun yang dibawa ke Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya – LIPI oleh :

Nama : Antonella Yosafat Felisitas
N R P : 2443014244
Prodi : Farmasi

adalah benar dari jenis *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis, suku Basellaceae, binahong.

Demikian surat keterangan ini kami sampaikan untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.



Kepala,

Dr. Didik Widyatmoko, M.Sc.

LAMPIRAN G
SERTIFIKAT HEWAN COBA

Drh Rachmad Priyadi

Peternakan Tikus

Tlp : 085706511245 / 081325941001

Surat Keterangan

No : 07/XI/2017

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : **Drh. Rachmad Priyadi**

Menerangkan :

Jenis : **Tikus Rattus Norvegicus**

Strain : **Wistar**

Umur : **± 2 – 3 bulan**

Jenis Kelamin : **Jantan**

Berat : **125 – 150 gram**

Kondisi : **Sehat dan tidak terjangkit penyakit**

Jumlah : **60 ekor**

Ditujukan kepada :

Mahasiswa : **Dea Betriksia, Roswita Handayani Fatikasari Nugu,
Antonella Yosafat Felisitas , Maria Theresia H R .
Maria Eduarda Hendriques Caldas.
Fakultas Farmasi, Unika Widya Mandala Surabaya**

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya

Surabaya, 07 Nopember 2017


Drh. Rachmad Priyadi
031 - 31 361 226
081 325 931 001
(Drh. Rachmad Priyadi)

LAMPIRAN H
PREPARAT JARINGAN KULIT HEWAN COBA

