

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN SALEP EKSTRAK DAUN
BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) TERHADAP
KEPADATAN KOLAGEN TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
YANG MENGALAMI LUKA BAKAR**



Oleh
ADINDA PARAMITA
NIM 061211131061

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2016**

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN SALEP EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) TERHADAP KEPADATAN KOLAGEN TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG MENGALAMI LUKA BAKAR

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan


pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga


Oleh

ADINDA PARAMITA
NIM 061211131061

Menyetujui
Komisi Pembimbing.



(Prof. Dr. Sarhanu, MS., drh)
Pembimbing Utama



(Dr. Wiwik Misaco Yuniarti, drh., M.Kes.)
Pembimbing Serta

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul:

**PENGARUH PEMBERIAN SALEP EKSTRAK DAUN BINAHONG
(*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) TERHADAP KEPADATAN KOLAGEN
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG MENGALAMI LUKA BAKAR**

tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 3 Agustus 2016



Adinda Paramita

NIM. 061211131061

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal: 19 Juli 2016

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

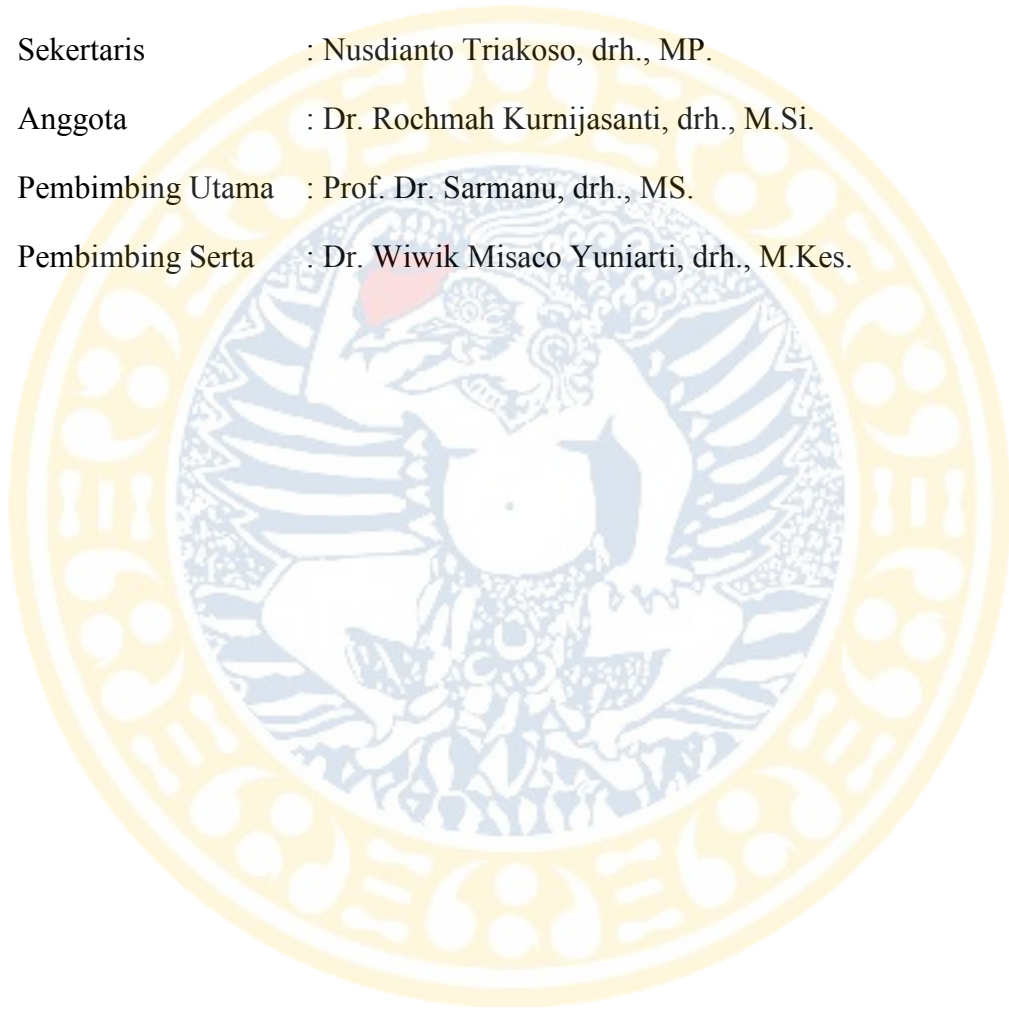
Ketua : Ira Sari Yudaniayanti, drh., MP.

Sekretaris : Nusdianto Triakoso, drh., MP.

Anggota : Dr. Rochmah Kurnijasanti, drh., M.Si.

Pembimbing Utama : Prof. Dr. Sarmanu, drh., MS.

Pembimbing Serta : Dr. Wiwik Misaco Yuniarti, drh., M.Kes.



Telah diuji pada

Tanggal: 3 Agustus 2016

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Ira Sari Yudaniyanti, drh., MP.

Anggota : Nurdianto Triakoso, drh., MP.

Dr. Rochmah Kurnijasanti, drh., M.Si.

Prof. Dr. Sarmanu, drh., MS.

Dr. Wiwik Misaco Yuniarti, drh., M.Kes.

Surabaya, 3 Agustus 2016

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Dr. Pudi Sianto, drh., M.Kes.

NIP. 195601051986011001

THE EFFECT OF BINAHONG LEAF EXTRACT OINTMENT (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) TO THE DENSITY OF COLLAGEN ON BURN WOUND IN RATS (*Rattus norvegicus*)

Adinda Paramita

ABSTRACT

Burn wound is a condition when the continuity tissue are damaged by the trauma of chemicals, electricity, or radiation. The process of wound healing can be accelerated by using traditional medicines, one of them is a plant called Binahong. This aim of this study was to determine the effect of binahong leaf extract ointment (BLEO) to collagen density on burn wound of rat. 24 rats were randomly divided into six groups: P0 (control –), P1 (burn wound with no treatment), P2 (control + : burn wound with Silver Sulfadiazine), P3 (burn wound with BLEO 2,5%), P4 (burn wound with BLEO 5%), and P5 (burn wound with BLEO 10%). Treatment had been given directly on the burn area topically for fourteen days. The result of nonparametric test *Kruskal-Wallis* is 0.001 show that significantly different ($p < 0.05$), and continues to *Mann-Whitney U* test. The collagen density of burn wound on group P0 and P4 are not significantly different ($p > 0.05$) but significantly different with group P1, P2, P3, and P5 ($p < 0.05$). Group P3 not significantly different with group P2 and P5 ($p < 0.05$), but both of them significantly different ($p > 0.05$). The compounds of BLEO is flavonoid, saponin, tannin and ascorbat acid. Flavonoid have the ability as an antioxidant that can reduce free radicals. Saponin can stimulated the migration of keratinocytes which are important for re-epithelialization process and can stimulate fibroblast for collagen synthesis to the wound area. Tannin serves as an astringent which can cause skin pores shrink, and to stop the exudates to cover the wound area. Ascorbat acid is important for activate prolil hydroxylase enzyme that support hydroxylation step for collagen formation. Research shows that increasing mean of collagen density is on BLEO treatment at group P4 which indicates that is the optimum dose. Giving BLEO 5% increase collagen density into score 3.

Key words: binahong leaf, wound healing, fibroblast, collagen

UCAPAN TERIMAKASIH

Segala puji dan syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi yang berjudul **Pengaruh Pemberian Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Kepadatan Kolagen Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Yang Mengalami Luka Bakar.**

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih kepada:

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes., Ph.D., atas kesempatan mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Prof. Dr. Sarmanu, drh., MS., selaku pembimbing pertama dan Dr. Wiwik Misaco Yuniarti, drh., M.Kes., selaku pembimbing serta, atas saran dan bimbingannya baik tenaga, waktu, pikiran, doa, kesabaran dan perhatian untuk penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini.

Untuk komisi penguji, Ira Sari Yudaniayanti, drh., MP., selaku ketua penguji, Nusdianto Triakoso, drh., MP., selaku sekretaris penguji, dan Dr. Rochmah Kurnijasanti, drh., M.Si., selaku anggota penguji.

Benjamin Christoffel Tehupuring, drh., M.Kes., Ph.D., selaku dosen wali yang telah memberikan banyak motivasi dibidang akademis.

Seluruh staf pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan ilmu yang diberikan kepada penulis selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Orang tua penulis, bapak Ir. Gde Wiryasa Praya Arya, MM., MMT., dan ibu Sri Handariretno, drh., yang selalu memberikan cinta dan dukungan, terimakasih

atas segala doa, cinta, perhatian, semangat, motivasi, yang tak ternilai oleh apapun. Terimakasih atas kasih sayang sepanjang masa kalian sehingga penulis mampu sampai ke titik ini.

Teman seperjuangan selama menempuh pendidikan yang tak henti-hentinya memotivasi penulis hingga di titik ini mampu menyelesaikan tulisan ini, Achmad Ridwan Lubis, Dwi Ratna Aristantya Ningrum, Maulana Falqon, Nurulia Mutoharo, Intan Permatasari Hermawan, Gama Prasa Devi, Yuniati Mutiara Dewi Sagala. Sahabat sejak SMA, Tara Kurniawati, Sukmaningtyas Purbaningrum, Atika Lis Widowati, Diana Purnamasari. Teman-teman rumah pohon, Meyana Maharani Jasmine, Boyke Pratama, Satria Wisnuaji. Teman-teman kelas A angkatan 2012, terima kasih untuk kalian semua yang selalu mendukung dan mendoakan saya. Angkatan 2012 dan seluruh teman-teman yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu. Terimakasih atas dukungan, doa, serta semangat yang tak terhingga.

Terima kasih kepada Nindi Elisa, teman sepenelitian yang membantu penulis saat penelitian berlangsung hingga saat penelitian selesai.

Terakhir penulis hendak menyapa setiap nama yang tidak dapat penulis cantumkan satu per satu, terima kasih atas doa yang senantiasa mengalir tanpa sepengetahuan penulis. Terima kasih sebanyak-banyaknya kepada orang yang turut bersuka cita atas keberhasilan penulis menyelesaikan skripsi ini.

Penulis sepenuhnya menyadari masih banyak terdapat kekurangan, mengingat terbatasnya pengetahuan dan kemampuan yang penulis miliki. Oleh karenanya, saran dan kritik yang bersifat membangun sangat penulis harapkan.

Akhirnya penulis hanya mampu berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat sebesar-besarnya bagi para pembaca.

Surabaya, 3 Agustus 2016

Penulis



DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|---------|
| HALAMAN PENGESAHAN | ii |
| HALAMAN PERNYATAAN | iii |
| HALAMAN IDENTITAS | iv |
| ABSTRACT | vi |
| UCAPAN TERIMAKASIH | vii |
| DAFTAR ISI | x |
| DAFTAR TABEL | xii |
| DAFTAR GAMBAR | xiii |
| SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG | xiv |
| BAB I PENDAHULUAN | |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 4 |
| 1.3 Landasan Teori | 4 |
| 1.4 Tujuan Penelitian | 5 |
| 1.5 Manfaat Penelitian | 5 |
| 1.6 Hipotesis | 6 |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA | |
| 2.1 Struktur anatomi dan fungsi kulit | 7 |
| 2.2 Luka bakar | 9 |
| 2.2.1 Klasifikasi luka bakar | 9 |
| 2.3 Penyembuhan luka | 10 |
| 2.4 Gangguan kesembuhan luka | 12 |
| 2.5 Kolagen | 13 |
| 2.5.1 Peranan kolagen dalam kesembuhan luka | 13 |
| 2.6 Sediaan topikal | 14 |
| 2.6.1 Salep | 14 |
| 2.7 Daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) | 15 |
| 2.8 Manfaat daun binahong | 16 |
| 2.9 Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) | 18 |
| BAB 3 MATERI DAN METODE PENELITIAN | |
| 3.1 Tempat dan waktu penelitian..... | 20 |
| 3.2 Alat dan bahan penelitian | 20 |

| | |
|---|----|
| 3.2.1 Hewan coba | 20 |
| 3.2.2 Alat penelitian | 21 |
| 3.2.3 Bahan penelitian | 21 |
| 3.3 Metode Penelitian | 22 |
| 3.3.1 Pembuatan ekstrak daun binahong | 22 |
| 3.3.2 Pembuatan sediaan salep ekstrak daun binahong | 22 |
| 3.3.3 Pembuatan luka bakar pada tikus | 23 |
| 3.3.4 Pengobatan luka bakar pada tikus | 23 |
| 3.3.5 <i>Euthanasia</i> pada tikus | 24 |
| 3.3.6 Pembuatan preparat histopatologi pewarnaan <i>haematoxylin eosin</i> .. | 24 |
| 3.3.7 Perhitungan kepadatan kolagen | 25 |
| 3.4 Variabel penelitian | 25 |
| 3.5 Definisi operasional variabel | 26 |
| 3.6 Rancangan penelitian | 26 |
| 3.7 Analisis data | 27 |
| 3.8 Kerangka penelitian | 28 |
| BAB 4 HASIL PENELITIAN | 29 |
| BAB 5 PEMBAHASAN | 34 |
| BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN | |
| 6.1 Kesimpulan | 40 |
| 6.2 Saran | 40 |
| DAFTAR PUSTAKA | 41 |
| RINGKASAN | 48 |
| LAMPIRAN | 50 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | | Halaman |
|--------------|--|----------------|
| 3.1 | Skor Penilaian Mikroskopis | 25 |
| 4.1 | Mean Kepadatan Kolagen Tikus Putih | 29 |



DAFTAR GAMBAR

| Gambar | | Halaman |
|---------------|---|----------------|
| 2.1 | Struktur anatomi kulit..... | 8 |
| 2.2 | Daun binahong | 16 |
| 2.3 | Tikus putih | 19 |
| 3.1 | Kerangka perlakuan | 28 |
| 4.1 | Gambaran histopatologi perlakuan P0 | 31 |
| 4.2 | Gambaran histopatologi perlakuan P1 | 31 |
| 4.3 | Gambaran histopatologi perlakuan P2 | 32 |
| 4.4 | Gambaran histopatologi perlakuan P3 | 32 |
| 4.4 | Gambaran histopatologi perlakuan P4 | 33 |
| 4.7 | Gambaran histopatologi perlakuan P5 | 33 |



SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

| | |
|-----------|--|
| WHO | : <i>World Organization Health</i> |
| RISKESDAS | : Riset Kesehatan Dasar |
| VEGF | : <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> |
| PDGF | : <i>Platellet Derived Growth Factor</i> |
| ml/kgBB | : Mililiter per kilogram beratbadan |
| SEDB | : Salep Ekstrak Daun Binahong |
| RAL | : Rancangan Acak Lengkap |
| SPSS | : <i>Statistical Packed for Social Science</i> |



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka bakar adalah kerusakan jaringan karena kontak dengan agen, termal, kimiawi, atau listrik (Wong, 2008). Luka bakar tidak hanya akan mengakibatkan kerusakan kulit, tetapi juga mempengaruhi seluruh sistem tubuh pasien. Pasien dengan luka bakar luas (mayor), tubuhnya tidak akan mampu lagi untuk mengkompensasi sehingga timbul berbagai macam komplikasi yang memerlukan penanganan khusus (Effendi, 1999).

Menurut data *World Health Organization* (WHO) diperkirakan terjadi 265.000 kematian pertahun akibat luka bakar pada manusia. Angka kejadian dan kematian akibat luka bakar 7 kali lebih tinggi pada daerah dengan pendapatan perkapita rendah sampai menengah dan hampir setengahnya terjadi di bagian Asia Tenggara (WHO, 2014). Menurut data Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS), kasus luka bakar di Indonesia ditemukan sebanyak sebesar 2,2% pada tahun 2007 (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Depkes RI, 2008).

Kasus luka bakar pada hewan terjadi di antara tahun 1990 dan 1999 di University of Missouri Veterinary Medical Teaching Hospital, 18 pasien dirawat karena luka bakar. Dalam laporan dari kota Columbia, 27 anjing dan 22 kucing dirawat karena paparan asap akibat kebakaran selama periode 11 tahun. Penyebab luka bakar pada hewan kecil di antaranya adalah terkena paparan asap kebakaran bangunan, terkena air atau minyak panas mendidih dan kontak langsung dengan benda panas misalnya pipa knalpot mobil. Kebakaran bangunan mendapat perhatian khusus karena lebih dari 50% kematian akibat luka bakar berhubungan

dengan cedera inhalasi (Slatter, 2003).

Proses penyembuhan luka, termasuk luka bakar, dapat dibagi dalam tiga fase yaitu inflamasi, proliferasi dan *remodeling* (Miladiyah, 2012). Salah satu komponen kunci pada fase dari penyembuhan luka adalah kolagen. Kolagen merupakan protein yang terbanyak pada jaringan tubuh, termasuk kulit. Kolagen mempunyai kemampuan antara lain dalam hemostasis, interaksi dengan trombosit, interaksi dengan fibronektin, meningkatkan eksudasi cairan, meningkatkan komponen seluler, meningkatkan faktor pertumbuhan dan mendorong proses fibroplasia dan terkadang pada proliferasi epidermis (Triyono, 2005).

Penanganan kasus luka bakar harus dilakukan sesegera mungkin untuk mencegah terjadinya komplikasi yang ringan sampai berat seperti syok hipovolemik dan sepsis. Namun dari segi pembiayaan, perawatan luka bakar memakan biaya yang relatif mahal. Semakin luas area luka bakar, maka akan memakan biaya yang tinggi pula (Syamsuhidayat, 2011).

Masyarakat Indonesia masih sering menggunakan obat-obatan herbal sebagai media penyembuhan berbagai macam penyakit untuk mengurangi biaya. Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) memiliki penyebaran yang cukup luas di Indonesia. Masyarakat Indonesia sering menggunakan tumbukan daun Binahong sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan luka. Tanaman ini juga dijadikan sebagai makanan di beberapa negara, seperti Vietnam, Taiwan, Cina dan Korea karena khasiatnya yang dipercaya dapat membantu penyembuhan dari suatu penyakit (Aini, 2014).

Bagian tanaman binahong yang sering dimanfaatkan sebagai obat salah satunya adalah bagian daun (Umar, 2012). Daun binahong banyak memiliki

manfaat antara lain sebagai antiinflamasi, antioksidan, antibakteri dan analgesik (Gupta, 2012). Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) juga dapat dipercaya dapat menyembuhkan penyakit 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 sebagai pembersih dan antiseptik yang berfungsi membunuh atau mencegah pertumbuhan dari mikroorganisme yang timbul pada luka sehingga luka tidak mengalami infeksi berat (Paju, 2013). Saponin juga 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).

Senyawa lain yang terdapat dalam daun binahong adalah asam oleanolat. Asam oleanolat 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).

Berdasarkan uraian di atas, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian salep ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap peningkatan kepadatan kolagen pada kulit tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang mengalami luka bakar.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah apakah pemberian salep ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dapat meningkatkan kepadatan kolagen pada kulit tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang mengalami luka bakar?

1.3 Landasan Teori

Proses penyembuhan luka secara alami terjadi segera setelah terjadinya luka (Mc Gavin dkk., 2007). Banyak faktor yang mempengaruhi kemampuan tubuh untuk menyembuhkan luka, misalnya umur, defisiensi oksigen, malnutrisi, dan ketidakseimbangan elektrolit. Supresi sistem imun dan defisiensi pembekuan darah juga dapat mengganggu penutupan permukaan luka (Tambayong, 2000).

Setelah terjadi luka, terjadi fase inflamasi yang bertujuan untuk menghilangkan jaringan nonvital dan mencegah infeksi bakteri invasif. Fase selanjutnya yaitu fase proliferasi di mana terjadi keseimbangan antara jaringan parut dan regenerasi jaringan. Pada fase yang terakhir, terjadi proses *remodeling* yang bertujuan untuk memaksimalkan kekuatan dan integritas struktural dari luka (Lorentz dkk., 2006).

Tanda-tanda kesembuhan luka salah satunya adalah ditandai dengan pembentukan kolagen. Kolagen merupakan zat protein berbentuk serabut yang merupakan bagian utama jaringan ikat yang diperlukan pada keadaan penyembuhan luka, pembentukan jaringan parut, serta pembentukan matriks tulang. Kolagen adalah komponen kunci pada fase proliferasi dari penyembuhan luka. Kolagen pertama kali dideteksi pada hari ketiga setelah luka dan meningkat sampai minggu ketiga (Triyono, 2005). Fragmen-fragmen kolagen melepaskan

kolagenase leukositik untuk menarik fibroblas ke daerah jejas (Rizka dkk., 2013).

Daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) mempunyai kandungan bioaktif seperti flavonoid. Senyawa flavonoid dalam daun ini sebagai antioksidan, antivirus, antibakteri, dan antikanker (Fowler dkk., 2009). Kandungan daun binahong lainnya adalah saponin. Senyawa saponin ini berpotensi membantu menyembuhkan luka dengan membentuk kolagen tipe I yang mempunyai peran dalam proses penyembuhan luka (Astuti dkk., 2011).

Penelitian yang dilakukan oleh Widya (2013), membuktikan bahwa flavonoid sebagai antioksidan dalam ekstrak daun binahong mungkin membantu dalam proses penyembuhan luka dengan meningkatkan pembentukan kolagen, menurunkan makrofag dan oedema jaringan serta meningkatkan jumlah fibroblas (Ambiga dkk., 2007).

1.4 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pemberian salep ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap peningkatan kepadatan kolagen pada kulit tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang mengalami luka bakar.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat ilmiah

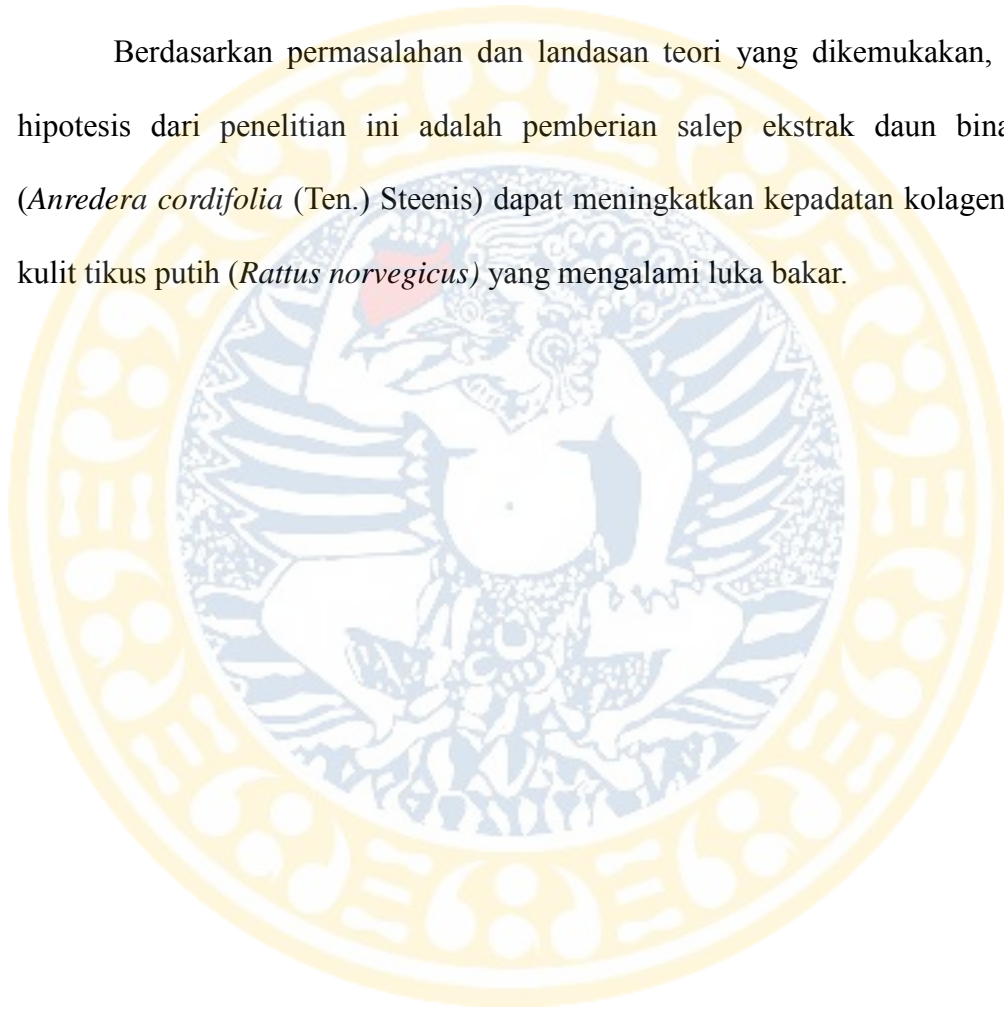
Dapat memberikan dasar teori lebih lanjut untuk pengembangan penelitian pengaruh pemberian salep ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap peningkatan kepadatan kolagen pada kulit tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang mengalami luka bakar.

1.5.2 Manfaat praktis

Salep ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dapat digunakan untuk meningkatkan kepadatan kolagen pada kulit tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang mengalami luka bakar.

1.6 Hipotesis

Berdasarkan permasalahan dan landasan teori yang dikemukakan, maka hipotesis dari penelitian ini adalah pemberian salep ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dapat meningkatkan kepadatan kolagen pada kulit tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang mengalami luka bakar.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Struktur Anatomi dan Fungsi Kulit

Kulit adalah organ terbesar yang melapisi permukaan terluar tubuh dan membatasi antara lingkungan luar dengan lingkungan dalam tubuh manusia. Kulit merupakan organ tubuh yang memiliki luas paling besar dengan jumlah proporsi sebesar 15-20% berat tubuh manusia. Kulit memiliki beberapa fungsi seperti melindungi kulit dari abrasi mekanik berupa gesekan dari luar tubuh, sebagai indra peraba, mengatur pengeluaran air, garam, dan zat sisa organik lainnya serta pembentukan vitamin D dalam tubuh (Aulia, 2014).

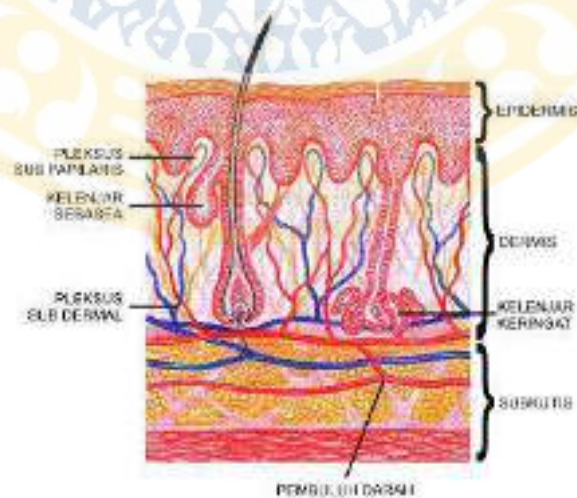
Kulit tersusun atas dua lapisan utama, yaitu epitel sebelah luar yang disebut epidermis, dan lapisan jaringan ikat bawahnya yang disebut korium atau dermis. Di bawah kulit terdapat jaringan ikat longgar yang biasa disebut jaringan subkutan atau hipodermis. Jaringan subkutan ini mempertautkan kulit dengan fascia dan otot kerangka di bawahnya (Hestianah dkk., 2012).

Epidermis adalah lapisan luar kulit yang terdiri dari epitel berlapis gepeng, sel melanosit, sel langerhans dan sel merkel. Epidermis tersusun atas lima lapisan tanduk yaitu stratum korneum yang terdiri dari lima belas sampai dua puluh sel-sel gepeng berkeratin tanpa inti. Kedua adalah stratum lusidum yang terdiri atas selapis tipis sel eosinofilik yang pipih dengan inti tidak tampak. Ketiga adalah stratum granulosum yang terdiri dari tiga sampai lima sel poligonal pipih yang intinya berada di tengah dan sitoplasma terisi oleh granula basofilik kasar yang dinamakan granula keratohialin (Hestianah dkk., 2012).

Stratum spinosum adalah lapisan yang memiliki lapisan poligonal dengan

inti lonjong. Pada lapisan ini terdapat susunan filamen yang dinamakan tonofibril, filamen tersebut memiliki fungsi untuk melindungi kulit terhadap efek abrasi (Aulia, 2014). Kelima adalah stratum basalis yang merupakan lapisan terdalam pada bagian epidermis. Lapisan ini terdiri atas sel selapis kuboid yang tersusun berderet di atas lamina basalis (Hestianah dkk., 2012).

Dermis tersusun dari jaringan ikat yang menunjang epidermis dan mengikat pada lapisan di bawahnya, yaitu hipodermis. Lapisan-lapisan yang menyusun dermis terdiri dari lapisan dengan batas tidak jelas yaitu stratum papillaris, dan lapisan jaringan ikat kolagen maupun elastis yang bersifat rapat, yang disebut stratum retikularis. Pembuluh darah dan akhiran saraf terdapat di dalam stratum papilaris. Jaringan di bawah dermis terdapat jaringan longgar yang disebut lapisan subkutis atau hipodermis. Hipodermis merupakan jaringan ikat longgar yang mengikat secara longgar dari organ-organ di bawahnya. Hipodermis memiliki banyak kandungan lemak yang bervariasi jumlahnya sesuai daerah tubuh dan gizi yang bersangkutan (Hestianah dkk., 2012). Susunan lapisan kulit disajikan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Anatomi Kulit (Perdanakusuma, 2007).

2.2 Luka Bakar

Luka bakar adalah suatu bentuk kerusakan atau kehilangan jaringan kulit yang disebabkan kontak dengan sumber panas seperti api, air panas, bahan kimia, listrik dan radiasi. Luka bakar merupakan suatu jenis trauma dengan morbiditas dan mortalitas tinggi yang memerlukan penatalaksanaan khusus sejak awal (fase syok) sampai fase lanjut (Moenadjat, 2003).

2.2.1 Klasifikasi luka bakar

Derajat dan kedalaman luka bakar dibagi menjadi tiga yaitu luka bakar derajat I yang hanya mengenai epidermis. Luka tampak sebagai eritema, kemerahan, keluhan rasa nyeri atau hipersensitivitas setempat misalnya tersengat sinar matahari. Luka bakar ini biasanya sembuh dalam 5-7 hari dan sembuh tanpa bekas (Syamsuhidayat, 2005).

Kedua adalah luka bakar derajat II yang kerusakan jaringan terjadi pada bagian epidermis dan juga dermis. Kulit akan terdapat bula, sedikit oedema dan terasa nyeri berat. Bula adalah sebuah lesi menonjol melingkar yang berisi cairan di atas dermis. Luka bakar derajat dua dibedakan menjadi dua yaitu derajat II dangkal (*superficial*) yang kerusakan organnya mengenai bagian epidermis dan dermis dan luka bakar derajat II dalam (*deep*) kerusakannya mengenai hampir seluruh bagian dermis. (Moenadjat, 2003).

Ketiga adalah luka bakar derajat III yang kerusakan atau kehilangan jaringan terjadi pada seluruh bagian kulit yaitu bagian epidermis, dermis dan jaringan hipodermis. Kulit mengalami kerusakan yang cukup luas. Gejala pada luka ini tidak memiliki bula ataupun rasa nyeri (Aulia, 2014).

2.3 Penyembuhan Luka

Setiap terjadi luka, mekanisme tubuh akan mengupayakan mengembalikan komponen jaringan yang rusak tersebut dengan membentuk struktur baru dan fungsional yang sama dengan keadaan sebelumnya. Proses penyembuhan tidak hanya terbatas pada proses regenerasi yang bersifat lokal, tetapi juga sangat dipengaruhi oleh faktor endogen seperti umur, nutrisi, imunologi, pemakaian obat-obatan, kondisi metabolik (Rahma, 2014).

Sifat penyembuhan luka pada dasarnya sama, bergantung dengan variasi pada lokasi, keparahan, dan luas cedera (Potter and Perry, 2006). Kemampuan sel dan jaringan melakukan regenerasi kembali ke struktur normal melalui pertumbuhan sel juga mempengaruhi penyembuhan luka (Wibawati, 2012).

Penyembuhan luka pada kulit dibagi menjadi tiga fase yaitu fase inflamasi yang dimulai ketika kulit mengalami paparan pertama kali dengan agen yang menyebabkan terjadi luka pada kulit. Pada fase ini terdapat dua tahapan yang akan terjadi, yaitu fase vaskular dan fase seluler. Pada fase vaskular akan dimulai dengan terjadinya vasokonstriksi pada pembuluh darah, fase ini terjadi untuk memperlambat aliran darah agar tidak sampai ke bagian kulit yang mengalami luka, sehingga nantinya akan terjadi pembekuan darah atau koagulasi. Pada fase selular, leukosit, neutrofil dan monosit akan menuju ke bagian kulit yang mengalami luka, yang sebelumnya pada luka tersebut sudah terjadi bekuan oleh fibrin (Kumar dkk., 2007).

Fase proliferasi terjadi setelah agen penyebab luka sudah dihilangkan dan tidak ada infeksi pada daerah luka. Selanjutnya pada fase ini akan terjadi pembentukan jaringan granulasi pada bagian luka. Pada pembentukan jaringan

granulasi akan terjadi peningkatan jumlah sel fibroblas dan pembentukan pembuluh darah baru. Sel fibroblas akan mengalami proliferasi karena adanya bantuan dari matriks ekstraseluler berupa fibronektin dan sitokin, kemudian sel-sel fibroblas yang telah berproliferasi akan menuju ke permukaan luka yang sebelumnya sudah terjadi pembekuan oleh benang-benang fibrin pada fase inflamasi (Kumar dkk., 2007).

Pada fase proliferasi, secara perlahan sel fibroblas yang terdapat pada permukaan luka juga akan menghasilkan serat kolagen baru. Serat kolagen yang memiliki bentuk tidak beraturan akibat kulit mengalami luka nantinya akan dihancurkan dan kemudian digantikan dengan serat kolagen yang baru. Tetapi jumlah kolagen yang dihasilkan tidak akan berlebihan, melainkan hanya akan dibutuhkan secukupnya, menyesuaikan dengan seberapa luas luka yang terbentuk. Serat kolagen yang terbentuk nantinya akan menutup bagian permukaan kulit yang mengalami luka yang diperkuat perlekatannya oleh bantuan fibronektin. Pada fase proliferasi juga akan terjadi pembentukan pembuluh darah baru yang terbentuk karena bantuan dari VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) (Aulia, 2014).

Fase *remodeling* merupakan tahap akhir pada saat proses penyembuhan luka. Setelah jaringan granulasi terbentuk pada fase proliferasi, nantinya jaringan granulasi tersebut akan berubah menjadi jaringan parut. Pada fase ini sel-sel epitel permukaan di bagian tepi dari luka secara perlahan akan melakukan regenerasi. Kemudian jaringan parut di bawah permukaan luka akan mengalami pematangan dan secara bersamaan sel-sel epitel yang rusak bisa kembali normal dan kulit yang mengalami luka dapat kembali sembuh (Li dkk., 2007).

2.4 Gangguan Kesembuhan Luka

Banyak faktor yang dapat memperlambat penyembuhan luka. Faktor-faktor dibagi menjadi dua yaitu faktor sistemik dan faktor lokal. Faktor sistemik yang dapat berpengaruh terhadap penyembuhan luka adalah status nutrisi, status penyakit, hormon, imun, usia, obat-obatan dan status psikologis. Sedangkan faktor lokal yang dapat berpengaruh terhadap penyembuhan luka adalah hidrasi luka, infeksi luka, benda asing, stress, tekanan, dan oksigenasi (Indraswary, 2013).

Hidrasi luka adalah kondisi kelembaban pada luka yang seimbang yang sangat mendukung penyembuhan luka. Luka yang terlalu kering atau terlalu basah kurang mendukung penyembuhan luka. Luka yang terlalu kering menyebabkan luka membentuk fibrin yang mengeras, terbentuk keropeng atau nekrosis kering. Luka yang terlalu basah menyebabkan luka cenderung rusak dan merusak sekitar area luka (Indraswary, 2013).

Faktor hormonal juga turut berperan dalam proses penyembuhan luka. Hormon estrogen mempunyai efek terhadap proses regenerasi, produksi matriks ekstraseluler, inhibisi protease, fungsi epidermis dan inflamasi. Pada penelitian ini dipilih tikus jantan karena tikus jantan cenderung lebih tidak dipengaruhi oleh hormon reproduksi. Tikus jantan tidak memiliki hormon estrogen serta kondisi hormonal pada tikus jantan relatif stabil dibandingkan dengan tikus betina. Tingkat stress tikus betina lebih tinggi dibandingkan tikus jantan, sehingga stress akut dapat menyebabkan penurunan kadar estrogen pada tikus betina yang berpengaruh terhadap kesembuhan luka (Restiyani dkk., 2015).

2.5 Kolagen

Kolagen adalah protein alami penyusun jaringan ikat tubuh yang merupakan 25% sampai 35% seluruh protein tubuh. Kolagen merupakan protein yang paling umum dan merupakan kerangka ekstraseluler untuk semua organisme multiselular (Myllyharju and Kivirikko, 2004). Kolagen paling banyak ditemukan pada jaringan fibrous seperti tendon, ligamen dan kulit. Deposisi kolagen meningkatkan kekuatan jaringan baru luka (Gurtner, 2007). Kolagen memegang peranan yang sangat penting pada proses penyembuhan luka, karena dapat menjadi salah satu indikator keberhasilan proses penyembuhan luka. Kolagen mempunyai kemampuan antara lain dalam hemostasis, interaksi dengan trombosit, interaksi dengan fibronectin, meningkatkan eksudasi cairan, meningkatkan komponen seluler, meningkatkan faktor pertumbuhan dan mendorong proses fibroplasia dan terkadang pada proliferasi epidermis (Triyono, 2005).

2.5.1 Peranan kolagen dalam kesembuhan luka

Penyembuhan luka merupakan proses yang kompleks dan berkesinambungan. Hemostasis atau penghentian perdarahan adalah proses pertama dalam proses penyembuhan luka. Trombosit dan faktor-faktor pembekuan merupakan faktor hemostatik intravaskuler yang utama. Kolagen merupakan agen hemostatik yang sangat efisien, sebab trombosit melekat pada kolagen, membengkak dan melepaskan substansi yang memulai proses hemostasis (Novriansyah, 2008). Trombosit tidak hanya mengawali proses hemostasis, tetapi juga melepaskan sejumlah substansi biologi aktif termasuk molekul matrik ekstraseluler, seperti fibronectin, fibrinogen, dan beberapa faktor pertumbuhan seperti *platelet derived growth factor* (PDGF) (Triyono, 2005).

Fibroblas merupakan komponen yang paling banyak pada jaringan granulasi. Sintesis dan deposit kolagen merupakan saat yang penting pada fase proliferasi dan penyembuhan luka secara umum. Kolagen disekresi ke ruang ekstraseluler dalam bentuk prokolagen. Bentuk ini kemudian membelah diri pada segmen terminal dan disebut tropokolagen. Tropokolagen dapat bergabung dengan molekul tropokolagen lainnya membentuk filamen kolagen. Filamen-filamen ini kemudian bergabung membentuk fibril (Triyono, 2005).

Fibril-fibril kolagen ini selanjutnya bergabung membentuk serabut-serabut kolagen. Bentuk filamen, fibril, dan serabut terjadi di dalam matrik glikosaminoglikan, asam hialuronidase, chondroitin sulfat, dermatan sulfat dan heparin sulfat yang dihasilkan oleh fibroblas. Sintesa kolagen dimulai hari ketiga setelah injuri dan berlangsung secara cepat sekitar minggu kedua sampai minggu keempat. Sintesis kolagen di kontrol oleh kolagenase dan faktor-faktor lain yang merusak kolagen sebagai kolagen yang baru (Triyono, 2005).

2.6 Sediaan topikal

Kata topikal berasal dari bahasa Yunani *topikos* yang artinya berkaitan dengan daerah permukaan tertentu. Dalam literatur lain disebutkan kata topikal berasal dari kata topos yang berarti lokasi atau tempat. Secara luas obat topikal di definisikan sebagai obat yang dipakai di tempat lesi (Yanhendri, 2012).

2.6.1 Salep

Salep merupakan sediaan setengah padat yang mudah dioleskan dan digunakan sebagai obat luar. Salep adalah bentuk sediaan lunak tidak bergerak dan masuk sediaan semi padat biasanya mengandung bahan obat untuk pemakaian pada kulit atau pada membran mukosa (Anief, 2002). Sediaan salep mempunyai beberapa

kelebihan seperti sebagai pelindung untuk mencegah kontak permukaan kulit dengan rangsang kulit, stabil dalam penggunaan dan penyimpanan, sebagai efek antiinflamasi dalam inflamasi akut yang dapat menyejukkan dan sebagai efek proteksi terhadap iritasi mekanik, panas dan kimia (Isrofah, dkk., 2015).

2.7 Daun Binahong (*Anredera cordifolia*)

Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dikenal di Cina dengan nama *Dheng SanChi*, di Eropa dinamai *heartleaf madeiravine* dan di Amerika Selatan dikenal dengan nama *madeira-vine*. Seluruh bagian tanaman ini berkhasiat, mulai dari akar, batang dan daunnya (Sukandar, 2011). Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dari famili Basellaceae merupakan salah satu tanaman obat yang tumbuh sangat baik sejak lama, telah dibudidayakan sebagai anggur hias di daerah tropis dunia. Tanaman Binahong asli dari Brazil dan nama umumnya adalah anggur Madeira atau Mignonette (Wagner dkk., 1999).

Menurut Vivian dkk., (2007) tanaman binahong (*A. cordifolia* (Ten) Steenis) dapat diklasifikasikan sebagai:

| | |
|--------------|-------------------|
| Kingdom | : Plantae |
| Subkingdom | : Tracheobionta |
| Superdivisio | : Spermatophyta |
| Divisio | : Magnoliophyta |
| Kelas | : Magnoliopsida |
| Subkelas | : Caryophyllidae |
| Ordo | : Caryophyllales |
| Famili | : Basellaceae |
| Genus | : <i>Anredera</i> |

Spesies : *Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis

Tanaman binahong (*A.cordifolia* (Ten.) Steenis pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Daun binahong (Sukandar dkk., 2011)

Anredera cordifolia (Tenore) Steenis atau dengan nama popular di Indonesia adalah binahong, merupakan jenis yang merambat. Memiliki batang yang ramping diliputi bulu dan tumbuh melilit dengan panjang sekitar 30m. Pada setiap akarnya terdapat umbi dengan diameter sekitar 20cm. Daunnya berbentuk hati, dengan bagian *apeks* yang tumpul. Daerah lamina berwarna hijau muda dan bagian permukaan atas berwarna hijau tua, berkilau, basah, dengan panjang 1-15cm dan lebar 0,8-11cm. Bunga menyerupai ekor domba, panjang dan terkulai sekitar 6 cm, bergugusan dengan 2-4 cabang sederhana. Diameter bunga sekitar 3-5 mm dengan warna *cream white* dan *greenish white*, harum dan berumur pendek. Daun mahkota berwarna putih, melipat, lobusnya berbentuk oval atau elips, dengan panjang 1-3 mm. Putik dan benang sari berwarna putih. Putik lebih pendek memiliki 3 cabang (Vivian dkk., 2007).

2.8 Manfaat Daun Binahong

Binahong telah dikenalkan ke berbagai area sebagai tanaman hias. Selain itu umbi dan daunnya dapat dimakan secara mentah atau dimasak. Meskipun tidak

menarik baik dari tekstur dan rasanya, namun tidak ada laporan mengenai potensial beracun dari tanaman ini. Beberapa daerah memiliki kebiasaan mengkonsumsi daun binahong karena efeknya sebagai laksatif.

Hampir seluruh bagian tanaman binahong dapat digunakan untuk terapi herbal (Miladiyah, 2012). Namun, masyarakat lebih sering menggunakan daun binahong untuk langsung dimanfaatkan. Daun binahong dapat digunakan untuk menyembuhkan diabetes, pembengkakan hati, radang usus dan rematik (Fawzi dkk., 2010). Menurut Manoi (2009), daun binahong juga dapat dipercaya untuk menyembuhkan wasir, penyakit jantung, tifus, *stroke*, pemulihan pasca operasi, menyembuhkan luka dalam dan luka khitanan, keputihan, hepatomegali dan asam urat.

Pada kesembuhan luka, tanaman ini dapat dikatakan manjur karena kandungan senyawa yang ada didalamnya yaitu flavonoid, saponin, terpenoid, alkaloid, dan tanin (Aulia, 2013).

Jenis flavonoid yang terkandung di dalam ekstrak binahong adalah flavonol (Selawa, 2013). Dari hasil studi klinik dan eksperimen flavonoid dapat meningkatkan vaskularisasi dan menurunkan oedema. Pada penelitian terbaru membuktikan bahwa flavonoid mempunyai efek antiinflamasi dan antioksidan. Kandungan flavonoid juga diyakini mempunyai manfaat dalam proses penyembuhan luka (Acar dkk., 2002).

Saponin dapat ditemukan pada bagian daun, batang, akar anaman binahong. Saponin dapat diklasifikasikan menjadi triterpenoid, steroid dan alkaloid. Saponin dapat berfungsi sebagai antibakteri, antiviral, antitumor, penurunan kolesterol dan dapat menstimulasi pembentukan kolagen yang

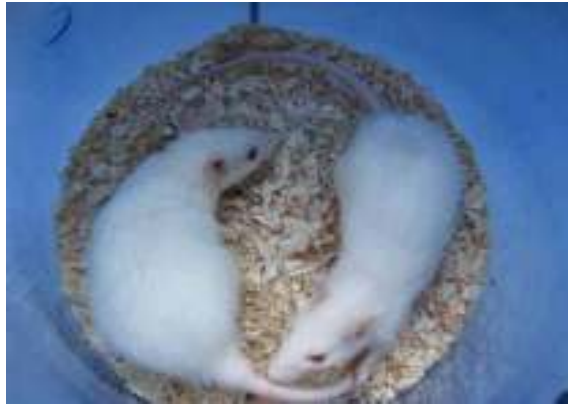
memiliki peran penting dalam penyembuhan luka. Saponin juga berperan sebagai hormon steroid yang berperan sebagai zat analgesik dan antiinflamasi (Astuti dkk., 2013).

2.9 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Terdapat literatur tentang penggunaan hewan model percobaan dalam studi luka bakar adalah kelinci, babi, anjing, tikus, dan mencit (Pereira dkk., 2012). Menurut Abdullahi (2014), salah satu hewan laboratorium yang digunakan untuk penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*). Seperti manusia, kulit tikus sebagian besar terdiri dari lapisan epidermis dan dermis. Namun, susunan kulit tikus tidak sesempurna kulit manusia karena tikus mempunyai morfologi kulit yang unik.

Klasifikasi Tikus putih yaitu (Ballenger, 2000):

| | |
|----------|----------------------------|
| Kingdom | : Animalia |
| Phylum | : Chordata |
| Class | : Mammalia |
| Order | : Rodensia |
| Suborder | : Sciurugnathi |
| Family | : Muridae |
| Genus | : Rattus |
| Spesies | : <i>Rattus norvegicus</i> |



Gambar 2.3 *Rattus norvegicus* (Alexandra, 2011).

Warna umum *R. norvegicus* yaitu coklat atau abu-abu kehitaman dengan rambut tersebar diseluruh tubuh, selain itu ada juga yang berwarna abu-abu pucat atau coklat keabu-abuan, abu-abu putih, putih hitam atau dua warna, namun tikus laboratium yang umum digunakan merupakan warna putih galur wistar dari *R. norvegicus* (Matilda, 2009).

Tikus memiliki sepasang gigi seri berbentuk pahat yang tidak berhenti tumbuh pada setiap rahangnya, sehingga untuk mempertahankan ukurannya terpaksa mengerat apa saja. Ukuran tubuh tikus putih (*R. norvegicus*) yang lebih besar dari mencit membuat tikus putih lebih disukai untuk berbagai penelitian. Karakter fisik lainnya yaitu memiliki mata yang kecil, telinga tidak berambut, dan ekor bersisik yang lebih pendek dari pada panjang tubuh dan kepalanya (Maust, 2002).

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di empat tempat yaitu Laboratorium Farmakologi Universitas Airlangga Surabaya untuk pembuatan ekstrak daun binahong, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya untuk pembuatan salep ekstrak daun binahong, Kandang Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya untuk perlakuan hewan percobaan dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya untuk pembuatan preparat histopatologi kulit tikus. Waktu pelaksanaan penelitian ini dilakukan bulan Maret sampai Juni 2016.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Hewan coba

Penelitian ini menggunakan hewan coba yaitu tikus (*Rattus norvegicus*) jantan sebanyak 25 ekor berumur 3-4 bulan dengan berat badan kurang lebih 150-200 gram yang diperoleh dari Departemen Ilmu Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Tikus jantan dipilih karena tikus jantan tidak perlu mensinkronisasi hormonal yang berpengaruh pada penyembuhan luka. Tikus dipelihara dalam kotak plastik berukuran 20 x 30 cm. Sisi atas kotak ditutup dengan kawat kasa agar tidak lepas, namun udara tetap bersirkulasi, bagian bawah diberi sekam untuk menjaga suhu tetap optimal.

3.2.2 Alat penelitian

Penimbangan berat badan tikus dan daun binahong menggunakan timbangan digital. Alat untuk pemeliharaan tikus yaitu kandang tikus dan tempat minum. Pencukuran bulu pada punggung tikus menggunakan pencukur bulu. Pembuatan luka bakar menggunakan plat besi 2.5 cm x 2.5 cm dengan ketebalan 1 mm. Alat untuk anestesi tikus menggunakan *disposable syringe* 1 ml *with tuberculin needle* (OneMed Health Care), dan toples kosong. Pembuatan ekstraksi dan pembuatan salep menggunakan oven, *water bath*, evaporator, batang pengaduk, kertas saring, gelas ukur, mortir, stamper, pot salep. Pengobatan luka bakar secara topikal menggunakan *cotton bud* bersih. Pengambilan jaringan kulit menggunakan sarung tangan, gunting, kapas, pinset, arteri *clamp*, *scalpel* nomor 3, *blade* nomor 10. Alat untuk membuat dan membaca preparat histopatologi yaitu mikrotom, *object glass*, *cover glass*, mikroskop.

3.2.3 Bahan penelitian

Bahan untuk pemeliharaan tikus yaitu pakan jadi berupa *pellet* merk “Hi-Pro-Vita 594” dan air minum. Pengobatan luka bakar dengan menggunakan Silver Sulfadiazine. Bahan untuk pembuatan ekstrak dan salep yaitu daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) yang diperoleh dari Lamongan, etanol 96%, *adepts lanae* dan *vaseline album*. Bahan untuk anestesi yaitu kombinasi *Ketamin*® (PT. Guardian Pharmatama) dan *Diazepam* (100mg/ml : 5 mg/ml)/kgBB, alkohol 70%, kapas, tisu. Bahan untuk *euthanasia* tikus menggunakan eter. Bahan untuk pembuatan preparat histopatologi menggunakan pewarna *Haematoxyllin-Eosin*, alkohol (70%, 80%, 95%, dan 96%), xylol (I, II, dm III), paraffin (I dan II), dan formalin10%.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Pembuatan sediaan ekstrak daun binahong

Menurut Paju (2013), daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis yang telah diperoleh, dicuci bersih, ditiriskan, dirajang lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan dilanjutkan pengeringan di dalam oven dengan suhu 40°C hingga kering.

Sampel yang telah halus direndam di dalam pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10 disesuaikan dengan Farmakope Indonesia selama lima hari di dalam gelas ukur dengan sesekali diaduk. Setelah lima hari, debris pertama dan filtrat pertama dipisahkan menggunakan kertas saring. Debris pertama kemudian direndam kembali menggunakan etanol 96% selama dua hari dengan sesekali diaduk. Selanjutnya debris kedua dan filtrat kedua dipisahkan menggunakan kertas saring.

Filtrat pertama dan filtrat kedua digabungkan dan disaring kembali untuk memastikan tidak ada ampas (debris) yang ikut dan untuk memperoleh total maserat daun binahong. Filtrat lalu dievaporasi menggunakan alat vakum evaporator dengan suhu 60°C sehingga diperoleh ekstrak hampir kental dan dilanjutkan menggunakan *water bath* dengan suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental.

3.3.2 Pembuatan sediaan salep ekstrak daun binahong

Setelah didapatkan ekstrak kental, dilakukan pembuatan salep dengan basis salep yaitu *adepts lanae* dan *vaselin album*. Pembuatan salep menggunakan mortir dan stamper yang sudah di sterilkan. *Adepts lanae* dimasukkan terlebih dahulu kedalam mortir kemudian aduk secara perlahan sampai rata menggunakan stamper. *Vaselin album* dimasukkan ke dalam mortir, diaduk secara perlahan dengan kecepatan konstan sehingga campuran *adepts lanae* dan *vaselin album* tercampur dengan rata. Ekstrak daun binahong ditambahkan sesuai konsentrasi yang dibutuhkan dan diaduk

hingga homogen (Paju, 2013).

3.3.3 Pembuatan luka bakar pada tikus

Tikus putih dianestesi menggunakan kombinasi obat ketamin dan diazepam dengan dosis 0,3 ml/kgBB secara intramuskular (Lampiran 1), kemudian punggung tikus putih dicukur seluas 3 cm x 3 cm. Alkohol 70% diulas menggunakan kapas pada daerah punggung tikus yang telah dicukur. Setelah tikus teranestesi, proses selanjutnya adalah pembuatan luka bakar. Plat besi berukuran 2,5 cm x 2,5 cm (Pavlouskis dkk., 2007) direndam di dalam air panas dengan suhu 100°C selama 5 menit. Luka bakar dibuat di daerah punggung tikus dekat *vertebrae thoracalis* dengan cara menempelkan plat besi pada bagian punggung tikus selama 10 detik (Aulia, 2012).

3.3.4 Pengobatan luka bakar pada tikus

Tikus putih jantan sebanyak 24 ekor dikelompokkan secara acak dalam enam kelompok dan masing-masing kelompok terdapat empat ulangan. Jenis perlakuan pada penelitian ini adalah

- P0 (Kontrol -) : tikus putih sehat tanpa luka bakar
- P1 : tikus putih dengan luka bakar tanpa pengobatan
- P2 (Kontrol +) : tikus putih dengan luka bakar, pengobatan Silver Sulfadiazine
- P3 : tikus putih dengan luka bakar, pengobatan SEDB 2,5%
- P4 : tikus putih dengan luka bakar, pengobatan SEDB 5%

P5 : tikus putih dengan luka bakar, pengobatan SEDB
10%

. Perlakuan pengobatan dilakukan secara topikal dengan mengoleskan sediaan salep ekstrak daun binahong (SEDB) dan Silver Sulfadiazine menggunakan *cotton bud* bersih. Perlakuan pengobatan dilakukan sebanyak tiga kali sehari dengan interval empat jam selama 14 hari (Rismana, 2013).

3.3.5 *Euthanasia* pada tikus

Tikus putih di *euthanasia* dengan menggunakan eter. *Euthanasia* adalah tindakan mempercepat kematian dan memperpendek kehidupan. Eter merupakan cairan tidak berwarna, mudah menguap dan mengiritasi saluran nafas. Eter pada kadar tinggi akan meningkatkan hambatan neuromuskular. Kematian hewan terjadi karena paralisa otot respirasi (Suwanto, 2009). Tikus dimasukkan ke dalam toples berisi *tissue* yang telah diberi cairan eter. Diamkan selama 5-10 menit sampai tikus menunjukkan tidak adanya reaksi atau mati. Selanjutnya eksisi kulit tikus putih seluas 3 cm x 3 cm pada area luka bakar sebelumnya dan dilanjutkan pada proses pembuatan preparat histopatologi.

3.3.6 Pembuatan preparat histopatologi pewarnaan *Haematoxylin-Eosin*

Pembuatan preparat histopatologi pewarnaan *Haematoxylin-Eosin* dilakukan dengan menggunakan cara paraffin. Pembuatan preparat paraffin dibagi menjadi delapan proses (Hestianah dkk., 2012) yaitu pengambilan spesimen, fiksasi, dehidrasi, penjernihan (*clearing*), pengeblokan, pemotongan (*sectioning*), pengecatan (*staining*) dan penutupan (*mounting*). Prosedur rinci pembuatan preparat histopatologi dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.3.7 Perhitungan kepadatan kolagen

Kepadatan kolagen diinterpretasikan secara semikuantitatif dengan melihat kepadatannya. Parameter skoring histopatologi menurut Novriansyah (2008) untuk kepadatan kolagen berdasarkan perhitungan 1 lapang pandang, pada obyek pembesaran 100 kali :

Tabel 3.1 Skor penilaian mikroskopis (Novriansyah, 2008)

| Skor | Deskripsi |
|------|---|
| +0 | Tidak ditemukan adanya serabut kolagen pada daerah luka |
| +1 | Kepadatan serabut kolagen pada daerah luka rendah |
| +2 | Kepadatan serabut kolagen pada daerah luka sedang |
| +3 | Kepadatan serabut kolagen pada daerah luka rapat |
| +4 | Kepadatan kolagen pada daerah luka sangat rapat |

Keterangan : hasil skor tinggi menunjukkan hasil yang lebih baik pada pemeriksaan mikroskopis.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel bebas : ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) dengan konsentrasi 2,5% , 5 % dan 10% dalam bentuk “salep”.

Variabel tergantung : kepadatan kolagen secara mikroskopis.

Variabel terkontrol : strain, jenis kelamin, umur, berat badan tikus putih (*Rattus norvegicus*), tatalaksana pemeliharaan, dan pembuatan hewan model.

3.5 Definisi Operasional Variabel

Ekstrak daun binahong adalah daun binahong yang sudah menjadi serbuk halus, direndam dalam pelarut entanol 96%, disaring, dan dievaporasi untuk memperoleh ekstrak kental (Paju, 2013).

Salep ekstrak daun binahong (SEDB) adalah basis salep yang terbentuk dari *adepts lanæ* dan *vaseline album* dicampur dengan ekstrak kental dan diaduk hingga homogen (Paju, 2013).

Kepadatan kolagen adalah serabut berwarna merah dengan pewarnaan *Haematoxylin-Eosin*, diamati menggunakan mikroskop perbesaran 400 kali pada satu lapangan pandang, lokasi pengamatan kolagen adalah di daerah bekas luka bakar. Selanjutnya kepadatan kolagen diinterpretasikan secara semikuantitatif dengan melihat kepadatannya (Budianto, 2015).

Luka bakar derajat II adalah kerusakan yang terjadi pada bagian epidermis dan dermis. Kulit akan terdapat bula, eritema, oedema, dan terasa nyeri karena ujung-ujung saraf sensorik teriritasi. Luka bakar ini dapat dibedakan menjadi dua yaitu derajat II dangkal yang kerusakannya meliputi epidermis dan dermis serta derajat II dalam yang kerusakannya mengenai hampir seluruh bagian dermis (Rahma, 2012).

3.6 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Tikus putih sebanyak 24 ekor dibagi secara acak ke dalam 6 kelompok dengan 4 ulangan. Untuk menentukan ulangan dalam penelitian ini berdasarkan rumus:

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

$$(6-1)(n-1) \geq 15$$

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

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

$$n-1 \geq 3$$

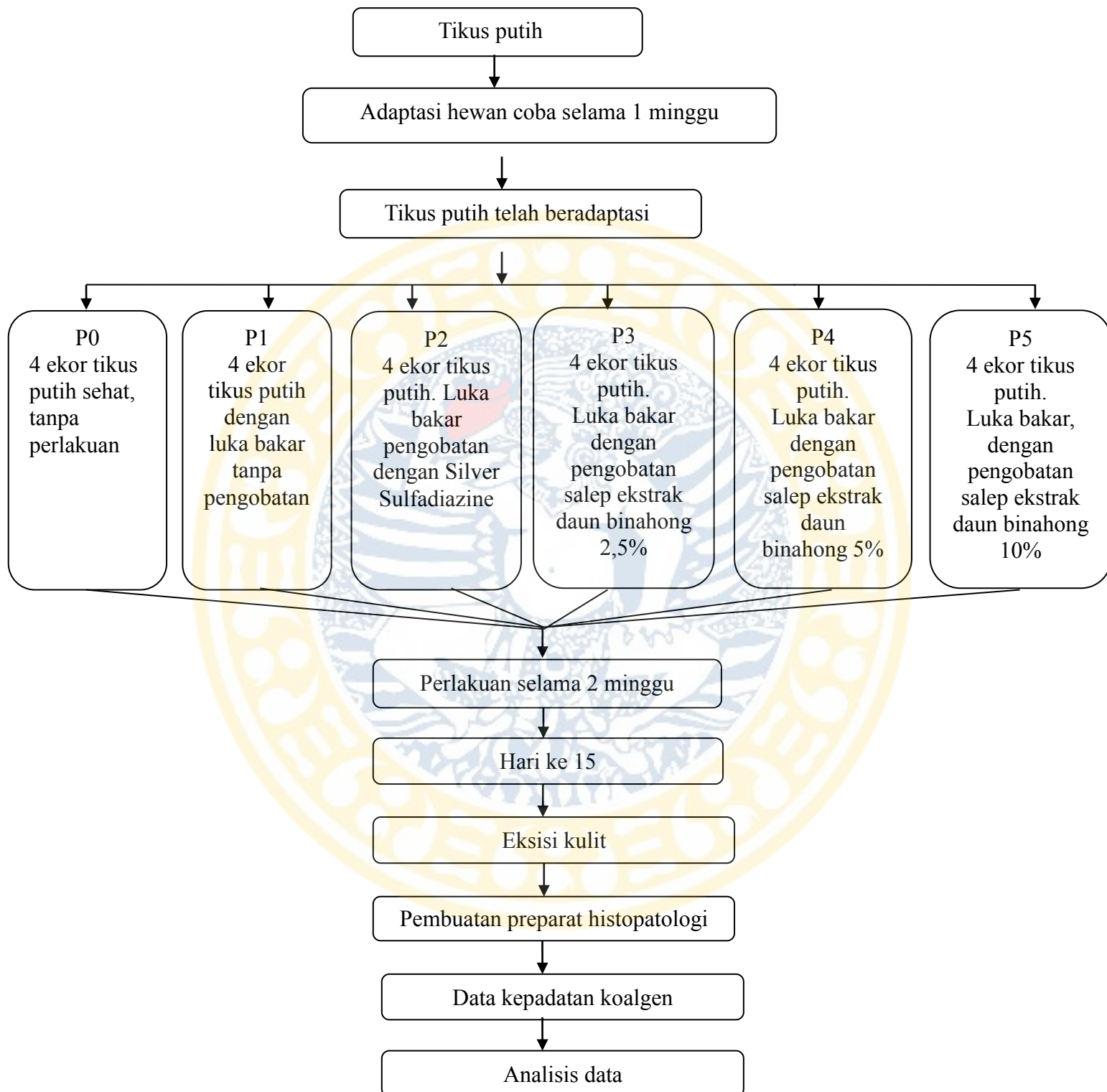
$$n \geq 4$$

Huruf t melambangkan jumlah kelompok dan n adalah banyak ulangan setiap kelompok (Kusriningrum, 2010).

3.7 Analisis Data

Data perubahan histopatologi kesembuhan luka bakar kulit tikus putih berdasarkan skor kepadatan kolagen dianalisis menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dilanjutkan dengan uji beda *Mann-Whitney-U* apabila terdapat perbedaan nyata dengan derajat kemaknaan $p < 0,05$. Analisis data dilakukan dengan program komputer *Statistical Packed for Social Science (SPSS) for windows* (Novriansyah, 2008).

3.8 Kerangka Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Penelitian

BAB 4 HASIL PENELITIAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang terbagi dalam 6 perlakuan P0 (Kontrol -), P1 (tanpa obat), P2 (Kontrol +), P3 (SEDB 2,5%), P4 (SEDB 5%) dan P5 (SEDB 10%) dapat diketahui bahwa secara makroskopis dan mikroskopis pada gambaran histopatologi kulit tikus putih (*Rattus norvegicus*) terjadi perubahan.

Hasil uji statistik nonparametrik *Kruskal-Wallis* skor kepadatan kolagen luka bakar tikus putih adalah 0,001 yang menunjukkan terdapat perbedaan nyata pada seluruh kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Perbedaan setiap kelompok dilanjutkan dengan uji beda *Mann-Whitney U* yang menghasilkan P0 dan P4 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), tetapi berbeda secara nyata ($p < 0,05$) dengan P1, P2, P3 dan P5, sementara P3 tidak berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan P2 dan P5, tetapi keduanya berbeda secara nyata ($p > 0,05$). Mean setiap kelompok perlakuan berbeda yaitu P0 ($3,00 \pm 0,000$), P1 ($0,00 \pm 0,000$), P2 ($1,75 \pm 0,500$), P3 ($1,50 \pm 0,577$), P4 ($2,75 \pm 0,500$) dan P5 ($1,25 \pm 0,500$). Mean skor kepadatan kolagen hasil pengamatan terhadap seluruh ulangan pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Mean Kepadatan Kolagen Kulit Tikus Putih Pada Setiap Perlakuan

| Perlakuan | Mean \pm SD |
|----------------|-----------------------|
| P0 (kontrol -) | $3,00^d \pm 0,000$ |
| P1 | $0,00^a \pm 0,000$ |
| P2 (kontrol +) | $1,75^c \pm 0,500$ |
| P3 | $1,50^{bc} \pm 0,577$ |
| P4 | $2,75^d \pm 0,500$ |
| P5 | $1,25^b \pm 0,500$ |

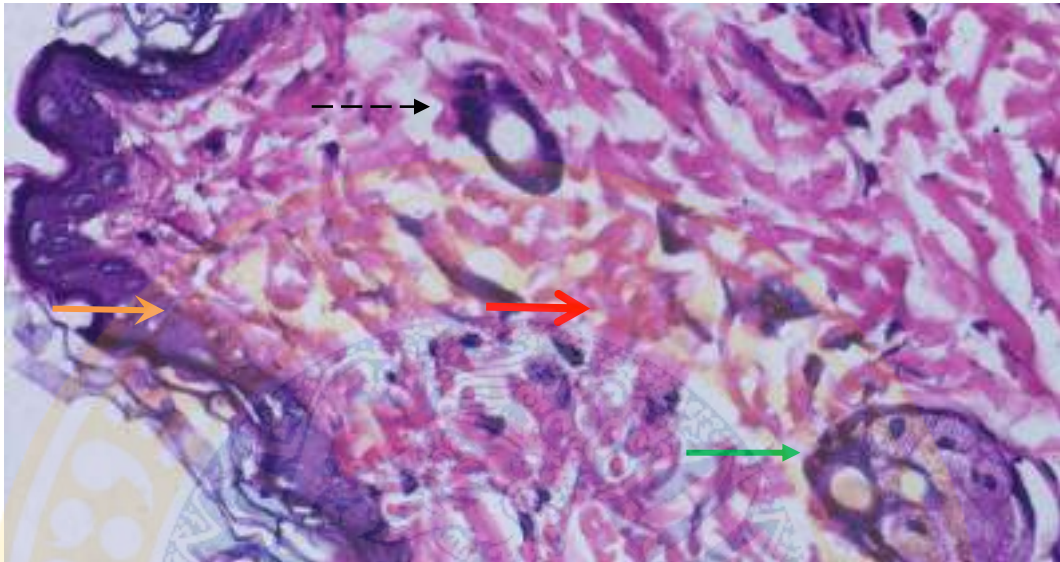
Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Hasil pengamatan secara makroskopik, gambaran luka bakar kulit tikus putih yang diberikan paparan luka bakar selama 10 detik dengan plat besi terlihat berwarna putih pucat dan terdapat oedema pada hari pertama. Luka bakar kemudian diberikan salep ekstrak daun binahong dengan konsentrasi 2,5%, 5%, 10%, krim Silver Sulfadiazine (kontrol +) dan luka bakar tanpa obat selama 14 hari. Pada hari ke-7, terlihat luka mengering dan tumbuhnya keropeng pada permukaan luka. Pada hari ke-15, pada perlakuan P2 dan P3 tepi luka tampak mengecil, pada perlakuan P4 luas luka mengecil dan tumbuh jaringan kulit baru, sedangkan pada perlakuan P1 dan P5 permukaan kulit tampak berwarna merah kecoklatan (Lampiran 6).

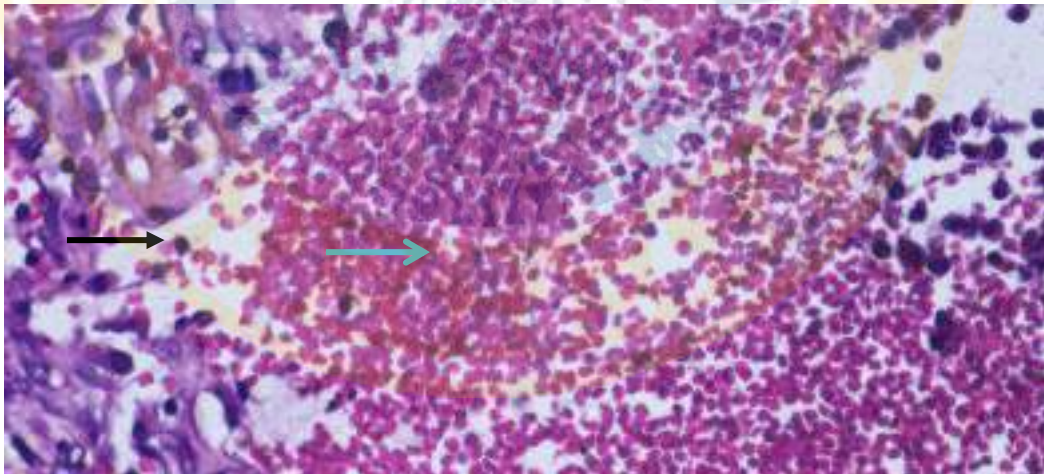
Penelitian ini juga dilakukan identifikasi luka bakar secara mikroskopik. Hasil pengamatan preparat histopatologi kulit luka bakar tikus putih menunjukkan perbedaan kepadatan kolagen antar perlakuan. Pada perlakuan P0 epidermis terlihat masih utuh, terdapat bentukan kelenjar keringat, bentukan folikel rambut yang terletak di area dermis, kolagen relatif masih normal dan memiliki skor kepadatan kolagen +3. Gambaran perlakuan P1 epidermis terdapat infiltrasi sel radang limfosit, terdapat infiltrasi eritrosit yang sangat banyak, dan memiliki skor kepadatan kolagen +0.

Gambaran perlakuan P2 terdapat bentukan vakuola lemak, infiltrasi sel radang limfosit mulai berkurang, dan memiliki skor kepadatan kolagen +2. Gambaran perlakuan P3 terdapat infiltrasi sel radang limfosit, sedikit eritrosit, terdapat debris dan memiliki skor kepadatan kolagen +1. Gambaran perlakuan P4 terdapat bentukan kelenjar keringat, infiltrasi sel radang limfosit lebih sedikit, terlihat sel-sel epitel mulai berkembang dan memiliki skor kepadatan kolagen +3,

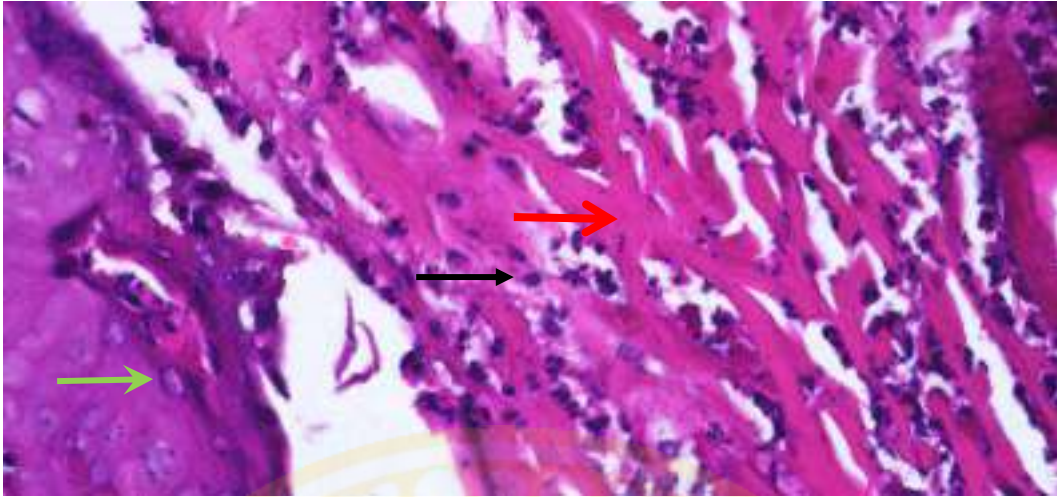
Gambaran perlakuan P5 terdapat infiltrasi sel radang limfosit, terdapat debris, dan memiliki skor kepadatan kolagen +1. Gambaran histopatologi ulangan pada setiap perlakuan:



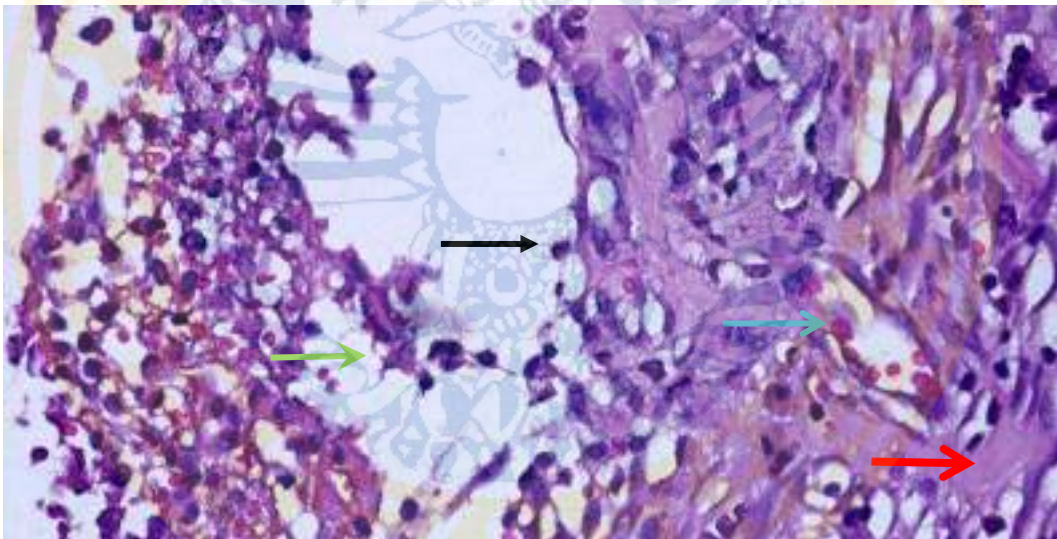
Gambar 4.1. Gambaran histopatologi perlakuan P0 (kontrol -) yang di tunjukkan oleh epidermis (→), folikel rambut (- - - →), vakuola lemak (→), dan kolagen (→) yang memiliki skor +3. (Pewarnaan HE).



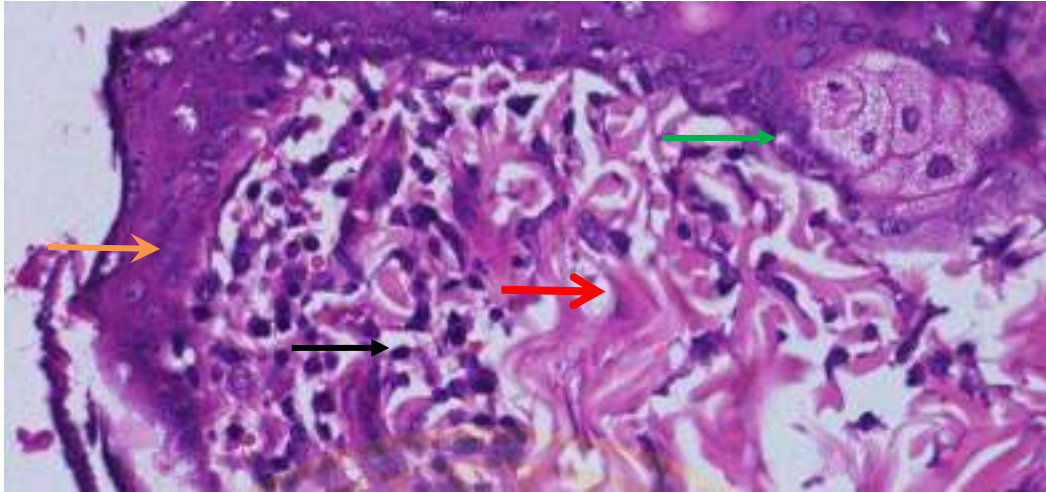
Gambar 4.2. Gambaran histopatologi perlakuan P1 (tanpa obat) yang ditunjukkan oleh infiltrasi eritrosit (→), sel radang limfosit (→), dan kolagen yang memiliki skor +0. (Pewarnaan HE).



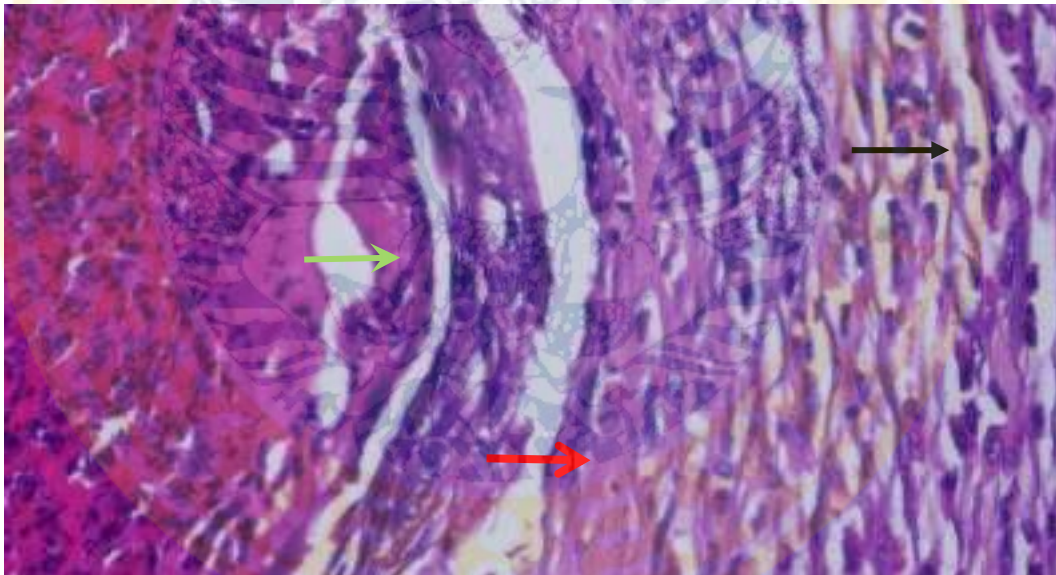
Gambar 4.3. Gambaran histopatologi perlakuan P2 (kontrol +) yang ditunjukkan oleh debris (→), sel radang limfosit (→) dan kolagen (→) yang memiliki skor +2. (Pewarnaan HE).



Gambar 4.4. Gambaran histopatologi perlakuan P3 (SEDB 2,5%) yang ditunjukkan oleh debris (→), eritrosit (→), sel radang limfosit (→) dan kolagen (→) yang memiliki skor +1. (Pewarnaan HE).



Gambar 4.5. Gambaran histopatologi perlakuan kelompok P4 (SEDDB 5%) yang ditunjukkan oleh epidermis (→), sel radang limfosit (→), vakuola lemak (→) dan kolagen (→) yang memiliki skor +3. (Pewarnaan HE).



Gambar 4.6. Gambar histopatologi perlakuan P5 (SEDDB 10%) yang ditunjukkan oleh debris (→), sel radang limfosit (→) dan kolagen (→) yang memiliki skor +1. (Pewarnaan HE).

BAB 5 PEMBAHASAN

Luka bakar atau *combustio* adalah luka yang disebabkan oleh kontak langsung dengan benda bersuhu tinggi seperti api, air panas, listrik, bahan kimia, radiasi dan dapat menyebabkan komplikasi di antaranya syok, infeksi, ketidakseimbangan elektrolit dan masalah distress pernafasan. Selain itu dapat menyebabkan distress emosional dan psikologi yang berat dikarenakan cacat dan kematian (Fuadi dkk., 2015).

Penyembuhan luka bakar mengalami proses seperti halnya proses penyembuhan luka pada umumnya yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase remodeling (Hidayat, 2013). Fase proliferasi merupakan proses kegiatan seluler yang penting dalam memperbaiki dan menyembuhkan luka. Terdapat tiga proses utama dalam fase ini, antara lain re-epitalisasi dan migrasi dan proliferasi fibroblas. Fibroblas akan aktif bergerak dari jaringan sekitar luka ke dalam daerah luka, kemudian akan berproliferasi serta mengeluarkan beberapa substansi seperti kolagen. Fase ini dimulai pada hari ke 3 sampai hari ke 14 (Rahma, 2014).

Kolagen memegang peranan yang sangat penting pada setiap tahap proses penyembuhan luka. Kolagen mempunyai kemampuan antara lain homeostasis, interaksi dengan trombosit, interaksi dengan fibronektin, meningkatkan eksudasi cairan, meningkatkan komponen seluler, meningkatkan faktor pertumbuhan dan mendorong proses fibroplasia dan terkadang pada proliferasi epidermis. Manfaat kolagen dalam bidang medis adalah mempercepat tumbuhnya jaringan baru (Triyono, 2005).

Kepadatan kolagen perlakuan P1 (tanpa obat) pada penelitian ini memiliki skor yang paling rendah diantara P0 (kontrol -), P2 (kontrol +), P3 (SEDB 2,5%), P4 (SEDB 5%) dan P5 (SEDB 10%). Hasil tersebut dapat terjadi karena P1 (tanpa obat) merupakan tikus dengan luka bakar tanpa diberikan obat atau bahan atau zat berkhasiat sehingga masa inflamasi menjadi lebih lama yang mengakibatkan penyembuhan luka terganggu (Pongsipulung, 2012) dan menyebabkan stimulasi kolagen rendah (Novriansyah, 2012).

Kepadatan kolagen P2 (kontrol +) memiliki skor yang lebih tinggi dibandingkan dengan P3 (SEDB 2,5%) dan P5 (SEDB 10%). Hasil tersebut dapat terjadi karena pada perlakuan P2 (kontrol +) diberi krim Silver Sulfadiazine yang merupakan *gold standard* terapi topikal pada luka bakar (Isrofah, 2015). Krim ini mampu merangsang sel-sel seperti makrofag untuk mengasilkan *growth factor* dan sitokin dalam proses penyembuhan luka, sehingga Silver Sulfadiazine mempunyai efek positif pada proliferasi fibroblas yang merupakan penghasil kolagen dan fibronektin (Esfahani, 2012).

Kepadatan kolagen P3 (SEDB 2,5%) memiliki skor yang lebih tinggi dibandingkan dengan P5 (SEDB 10%). Hasil tersebut menggambarkan bahwa salep ekstrak daun binahong dengan konsentrasi 2,5% dapat memberikan efek penyembuhan yang lebih cepat pada peningkatan kolagen walaupun zat aktif yang terkandung sedikit (Paju, 2012). Hal ini juga dipengaruhi oleh oksigenasi yang merupakan salah satu faktor terpenting yang berpengaruh pada penyembuhan luka (Arisanty, 2013).

Kelembaban merupakan sifat permeabel bagi oksigen dan uap air serta bersifat oklusif terhadap bakteri dan air sehingga penyembuhan luka tidak

terganggu. Oksigen merupakan nutrisi yang penting bagi metabolisme sel. Pada perlakuan P3 (SEDB 2,5%) memiliki kadar kelembaban yang lebih tinggi diantara P4 (SEDB 5%) dan P5 (SEDB 10%). Kadar kelembaban yang cukup tinggi mampu menyebabkan oksigen dalam jaringan luka juga tinggi sehingga proses proliferasi fibroblas meningkat dan akan menstimulasi pembentukan kolagen (Novriansyah, 2008), namun keadaan tersebut tidak didukung oleh konsentrasi kandungan senyawa pada perlakuan P3 (SEDB 2,5%). Menurut Douglas (2002) konsentrasi ekstrak tanaman yang terlalu rendah hanya mengandung saponin dalam jumlah sedikit. Dengan demikian penyembuhan luka pun menjadi tidak optimal akibat kurangnya jumlah saponin dalam menstimulasi kolagen (Indraswary, 2014).

Pada perlakuan P5 (SEDB 10%) kadar kelembabannya lebih rendah dibandingkan dengan P4 (SEDB 5%) dan P3 (SEDB 10%). Kelembaban yang rendah akan mengakibatkan tekanan oksigen dalam jaringan luka menurun sehingga mempengaruhi fungsi neutrofil, makrofag dan fibroblas dan menyebabkan proses sintesis kolagen akan terhambat (Novriansyah, 2008).

Selain faktor kelembaban, menurut penelitian Nidjvelt (2001) menyebutkan bahwa kadar flavonoid akan mengalami penurunan pada konsentrasi tinggi. Hal tersebut disebabkan oleh peningkatan kepekatan dari larutan yang mengakibatkan penurunan aktivitas antioksidannya. Tingkat kepekatan larutan yang terlalu tinggi dapat menghambat saponin untuk menembus mukosa membran (Indraswary, 2014) dan menurut Pratiwi (2009), konsentrasi saponin yang terlalu tinggi juga menyebabkan peningkatan permeabilitas membran yang dapat berakibat kematian sel.

Kepadatan kolagen P4 (SEDB 5%) dan P0 (kontrol -) memiliki skor yang sama. Hasil tersebut menunjukkan bahwa salep ekstrak daun binahong dengan konsentrasi 5% dapat meningkatkan kepadatan kolagen pada tahap yang sama dengan kulit sehat. Penelitian ini telah membuktikan bahwa salep ekstrak daun binahong dengan konsentrasi 5% merupakan dosis optimum.

Hasil ini berkaitan mengenai adanya metabolit-metabolit sekunder tanaman binahong yang berkhasiat sebagai obat. Metabolit sekunder yang ada di dalam tanaman binahong antara lain flavonoid, saponin, tanin dan asam askorbat (Nayak dkk., 2005). Saponin dapat meningkatkan permeabilitas membran yang menyebabkan terjadinya hemolisis sel, apabila saponin berinteraksi dengan sel bakteri, bakteri tersebut akan lisis. Proliferasi monosit ditingkatkan oleh saponin yang dapat meningkatkan jumlah makrofag dan mensekresi *growth factor* dalam menghasilkan fibroblas dan mensintesis kolagen ke daerah luka. Selain itu, saponin juga dapat mempercepat proses migrasi keratinosit yang berperan penting dalam proses re-epitalisasi (Ardiana dkk., 2015).

Kandungan lain yang terdapat dalam daun binahong adalah flavonoid, tanin, asam askorbat. Flavonoid mempunyai kemampuan sebagai antioksidan yang mampu mengurangi atau mengubah radikal bebas. Radikal bebas dapat menghambat terjadinya proliferasi sel, menghambat reaksi inflamasi, serta menghambat kontraksi dari jaringan kolagen yang terbentuk, yang keseluruhannya dapat menyebabkan terhambatnya proses penyembuhan luka (Paju, 2013). Antioksidan akan berikatan dengan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan membran sel sehingga sel tidak bisa berfungsi secara sempurna. Dengan adanya ikatan ini, maka kerusakan membran sel dapat berkurang sehingga

fase proliferasi dapat terjadi (Ardiana dkk., 2015).

Kandungan flavonoid pada daun binahong dapat berfungsi sebagai penghancur mikroba terutama dari golongan bakteri gram negatif. Mekanisme kerja flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Nuria, 2009).

Tanin dalam daun binahong berfungsi sebagai astringen yang dapat menyebabkan pori-pori kulit mengecil, menghentikan eksudat dan perdarahan yang ringan sehingga mampu menutupi luka dan mencegah pendarahan yang biasa timbul pada luka. Tanin dan saponin berperan dalam migrasi dan proliferasi fibroblas pada luka sehingga kontraksi luka akan lebih cepat (Izzati, 2015).

Kandungan asam askorbat atau vitamin C penting untuk mengaktifkan enzim prolil hidroksilase yang menunjang tahap hidroksilasi dalam pembentukan kolagen, dimana segera setelah luka, paparan kolagen fibriler ke darah akan menyebabkan agregasi, aktivasi trombosit dan melepaskan faktor-faktor kemotaksis yang memulai proses penyembuhan luka. Mula-mula bekuan darah mengisi luka dan anyaman fibrin terbentuk. Tunas kapiler dan fibroblas dengan cepat berproliferasi ke bekuan darah. Tunas kapiler mengeluarkan enzim litik untuk memecahkan fibrin dan membentuk anyaman. Fibroblas yang berproliferasi menyertai pembuluh darah dan mulai menimbun kolagen. Pada hari ke-3 sampai hari ke-5 dalam fase proliferasi, muncul jaringan khusus yang mencirikan terjadinya penyembuhan, yang disebut jaringan granulasi. Jaringan granulasi kemudian akan mengumpulkan matriks jaringan ikat secara progresif dan

menghasilkan fibrosis padat yang dapat melakukan *remodeling* lebih lanjut sesuai perjalanan waktu (Ariani, 2013).



BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian salep ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) 5% dapat meningkatkan kepadatan kolagen tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang mengalami luka bakar.

6.2 Saran

Saran yang dapat disampaikan dari penelitian ini adalah :

1. Diharapkan pada penelitian selanjutnya sediaan yang dipakai adalah sediaan gel atau krim.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut senyawa aktif yang spesifik pada daun binahong yang dapat membantu proses kesembuhan luka.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullahi, A., Amini-Nik S., Jeschke M.G. 2014. Animal Models In Burn Research. US National Library of Medicine National Institutes Of Health.
- Abramov, Y., Golden, B., Sullivan, M. 2007. Histologic Characterization Of Vaginal Vs Abdominal Surgical Wound Healing in a Rabbit Model. Wound Repair Regen.
- Acar, T., Tcyildiz, R., Vahapoglu, H., Karakay, A.S., Aydin, R. 2002. Efficasnsy of Micronized Flavonoid Fraction on Healing in Thermally Injured Rat. Amal of Burns and Fire Disasters. Vol.XV:1.
- Aini, S.Q. 2014. Pengaruh Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) terhadap Pembentukan Jaringan Granulasi pada Luka Bakar Tikus Sprague Dawley (Studi Pendahuluan Lama Paparan Luka Bakar 30 Detik dengan Plat Besi). [Skripsi]. Program Studi Pendidikan Dokter. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Anief, M. 2002. Formulasi Obat Topikal dengan Dasar Penyakit Kulit. Gajah Mada Univerity Press. Yogyakarta.
- Alexandra, I. 2011. Experimental Use of Animals in Research Spa. Balneo Research Journal. Vol.2:65.
- Aulia, A.F. 2014. Pengaruh Pemberian Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*)(Tenore) Steenis) terhadap Pembentukan Jaringan Granulasi pada Luka Bakar Tikus *Sprague dawley* (Studi Pendahuluan Lama Paparan Luka Bakar 10 Detik dengan Plat Besi). [Skripsi]. Program Studi Pendidikan Dokter. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Ambiga., Narayanan., Gowri, D., Sukumar., Madhavan. 2007. Evaluation of Wound Healing Activity of Flavonoids from *Ipomoea Carnea* Jac. Ancient Science of Life. Vol.XXVI: 45-51.
- Ardiana T., Kusuma, A.R.P., Firdausy, M.D. 2015. Efektivitas Pemberian Gel Binahong (*Anredera cordifolia*) 5% Terhadap Jumlah Sel Fibroblas Pada Soket Pasca Pencabutan Gigi Marmut (*Cavia cobaya*). Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung. Semarang.
- Ariani, E.E. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daging Buah Sirsak (*Anonna muricata* L) Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*

dan *Staphylococcus aureus* Beserta Bioautografinya. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah. Surakarta.

- Arisanty, I.P. 2013. Manajemen Perawatan Luka. Penerbit Buku Kedokteran. EGC.
- Astuti, S.M., Sakinah, M., Andayani, R., Risch, A. 2011. Determination of Saponin Compound from *Anredera cordifolia* (Ten) Steenis Plant (Binahong) to Potential Treatment for Several Diseases. *Journal of Agricultural Science*. Vol.3(4): 224-232.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Depkes RI. Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS 2007). Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Ballenger, L. 2000. *Rattus Norvegicus* Norway Rat. Education Research Initiative. Press. Yogyakarta. University of Michigan.
- Budianto, Y.D. 2015. [Skripsi]. Pengaruh Sari Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Kepadatan Kolagen Pada Luka Insisi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Depkes RI. 1995. Farmakope Indonesia. Edisi V. Jakarta.
- Djamil, R., Wahyudi, P.S., Wahono, S., Hanafi. 2012. Antioxidant Activity Of Flavonoid from *Anredera Cordifolia* (Ten) Steenis Leaves. *Journal of Pharmacy*.
- Douglas, K.A., Soejarto, D. 2002. Discovery Of Terpenoid and Phenolic Sweeteners from Plants. *Pure Appl. Cham*; 74(7):1169-79.
- Effendy, 1999. Perawatan Pasien Luka Bakar. Penerbit Buku Kedokteran EGC Press. Jakarta: 4-31.
- Esfahani. 2012. The Healing Effect of *Amebia Euchroma* in Second Degree Burn Vol.14(2). 70-74.
- Fuadi, I.M., Elfiah, U., Misnawi. 2015. Jumlah Fibroblas pada Luka Bakar Derajat II pada Tikus dengan Pemberian Gel Ekstrak Etanol Biji Kakao dan Silver Sulfadiazine. Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Vol.3(2).
- Fowler, L.Z., Mattheos, A., Koffas. 2009. Biosynthesis and Biotechnological Production of Flavanones Current State and Perspectives. *App Microbial Biotechnol*. 83:799-808.

- Gartner, L.P., Hiatt, J.L. 2001. Color Textbook of Histology. 2nd ed. China: Saunders. 75-77,325-333.
- Gupta, N., Jain, U.K. 2010. Prominent Wound Healing Properties of Indigenous Medicines. Journal of National Pharmaceutical. Vol.1:2-10.
- Gurtner, G.C. 2007. Wound Healing :Normal and Abnormal. In: Thorn C.H., Beasley, R.W., Aston, S.J., Barlett, S.J., Gurtner, G.C, and Spear, S.L. Editor. Grabb and Smith's Plastic surgery. 6th ed. Philadelphia. Lippincott William and Wilkin. 15-22.
- Guyton, C.A., Hall, E.J. 2007. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. EGC. Jakarta. 480-481.
- Hestianah, E.P., Anwar, C., Kuncorojakti, S.,Yustinasari, L.R. 2012. Buku Ajar Histologi Veteriner. Airlangga University Press (AUP). 63-63
- Hidayat. 2013. Peran Topikal Ekstrak Gel Aloe Vera pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat Dua Dalam. Universitas Airlangga Surabaya.
- Isrofah, Sagiran, Afandi, M. 2015. Efektifitas Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten) Steenis) Terhadap Proses Penyembuhan Luka Bakar Derajat 2 Termal pada Tikus Putih (*Rattus Novergicus*). Universitas Muhammadiyah. Yogyakarta.
- Indraswary, R. 2014. Efek konsentrasi Ekstrak Buah Adas (*Foeniculum vulgare Mill.*) Topikal Pada Epitelisasi Penyembuhan Luka Gingiva Labial Tikus Sprague Dawley In Vivo. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung. Semarang.
- Izzati, U.Z. 2015. Efektivitas Penyembuhan Luka Bakar Salep Ekstrak Etanol Daun Senggani (*Melastoma malabathricum L*) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar. Universitas Tanjungpura. Pontianak.
- Katili, A.S. 2009. Struktur dan Fungsi Protein Kolagen. Jurnal Pelangi Ilmu. Vol:2.
- Krug, E. Burn Prevention and Care. 2008. Geneva. Switzerland. World Health Organization. 2-3.
- Kumar, V., Abbas A., Fausto N., Robbind., Cotran's. 2007. Pathologic Basis of Disease. 8th Ed. Elsevier. Philadelphia.
- Kusumawati, D. 2004. Bersahabatlah dengan Hewan Coba. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. UGM press. Yogyakarta.

- Lorentz, H.P., Longaker, M.T. 2006. Wound Healing Repair Biology and Wound and Scar Treatment In: Mathes, S.J., and Hentz, V.R. Plastic Surgery Philadelphia. Saunders Elsevier. 209-34.
- Manoi, F. 2009. Binahong (*Anredera cordifolia*) sebagai Obat. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*. 15(1):3-4.
- Matilda, P. 2009. Pengaruh Pemberian Infusa Buah Pare (*Momordica charantia* L.) terhadap Kesembuhan Luka Insisi pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Maust, M. 2002. Introduced Species Summary Project Norway Rat (*Rattus Norvegicus*).//http://www.columbia.edu/itc/cerc/danoffburg/invasion_bio/in_v_spp_summ/rattus_nrvegicus.html. [5 Januari 2016].
- Miladiyah, I., dan Prabowo, B.R. 2012. Ethanolic Extract of (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Leaves Improved Wound Healing in Guinea Pig. *Universitas Medan*. Vol.31(1):5.
- Moenadjat, Y. 2003. Luka Bakar: Masalah dan Tatalaksana. Edisi Keempat. Balai Penerbit FKUI. Jakarta.
- Moenadjat, Y. 2009. Luka bakar. Edisi Kedua. Balai Penerbit FKUI. Jakarta.
- Myllyharju, J., Kivirikko, K.I. 2004. Collagens, Modifying Enzymes and Their Mutations in Human, Flies and Worms. *Trends Genet*. 20:33.
- Nayak, B.S., Vinutha, B., Geetha, B., Sudha, B. 2005. Experimental Evaluation of *Pentas lanceolata* for Wound Healing Activity in Rats.
- Nijveldt, R.J., Van, N.E., Van, H.E., Boelens, P.G., Van, N.K., Van, L. 2001. Flavonoids:A Review Of Probable Mechanisms Of Action And Potential Application. *Am. J. Clin. Nutr*.
- Novriansyah, R. 2008. Perbedaan Kepadatan Kolagen disekitar Luka Insisi Tikus Wistar yang Dibalut Kasa Konvensional dan Penutup Oklusif Hidrokoloid selama 2 dan 14 Hari. [Tesis]. Program Pasca Sarjana Magister Ilmu Biomedik dan PPDS I Ilmu Bedah Univeritas Diponegoro. Semarang.
- Nur, D.M. 2010. Perbedaan Kadar Vitamin C pada Daun Binahong Segar dan Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis). Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Nuria, M.C. Faizatun, A. Sumantri. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.

- Paju, 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*. Vol.2.(1):53. Manado.
- Pratiwi, R.Y. 2009. Ekstrak Adas Dan Serat Kolagen. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Pavlovskis, OR., Yaffe L.J., Wretlind, N., Hedstrom R.C., Galloway D.R. 2007. *Experimental Pseudomonas aeruginosa Burn Infections*. 210.
- Persada, A.N. 2014. Perbandingan Tingkat Kesembuhan Luka Bakar Derajat II antara Pemberian Topikal Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Tumbuk dan Hidrogel pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague Dawley. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. 2.
- Perdanakusuma, D.S. 2007. Anatomi Fisiologi Kulit dan Penyembuhan Luka. Plastic Surgery Department. Airlangga University School of Medicine. Surabaya. 3.
- Perdana, I. 2011. Efek Pemberian Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap Penurunan Derajat Eritema Luka Bakar Derajat II pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar. *Jurnal Ilmiah Berkala Universitas Kadiri*. Edisi Oktober. 22.
- Pereira, D., Helena, M., Ribeiro, M., Filho, N., Correia, M. 2012. Development of Animal Model for Studying Deep Second Degree Thermal Burns. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2012.
- Pongsipulung, R.G. 2012. Formulasi dan Pengujian Salep Ekstrak Bonggol Pisang Ambon (*Musa paradisiacal var. saoiantum* (L.)) terhadap Luka Terbuka pada Kulit Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*). Vol.1(2).
- Pramita, L.W. 2009. Efek Penyembuhan Luka Bakar Gel Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle*) pada Kulit Punggung Kelinci. [Skripsi]. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Rahma, F.N. 2014. Pengaruh Pemberian Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) terhadap Re-epitalisasi pada Luka Bakar Tikus Sprague dawley. [Skripsi]. Program Studi Pendidikan Dokter. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Restiyani, D.A., Yuniarni, U., Hazar, S. 2015. Uji Aktivitas Anti Inflamasi Dari Ekstrak Etanol Herba Kemangi (*Ocimum Americanum* L.) Terhadap Tikus Jantan Wistar. Prodi Farmasi. Universitas Islam Bandung.

- Rismana, E. 2013. Efektivitas Khasiat Pengobatan Luka Bakar Sediaan Gel Mengandung Fraksi Ekstrak Pegagan berdasarkan Analisis Hidroksiprolin dan Histopatologi pada Kulit Kelinci. Buku Penelitian Kesehatan. Vol.41: 48.
- Rizka, A. 2013. Kepadatan Kolagen Tipe 1 pada Luka Operasi Tikus Wistar yang Mengalami Anemia karena Perdarahan Akut. Vol. 2(1):2-3.
- Selawa, W., Runtuwene, M.R.J., Citraningtyas, G. 2013. Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (ten.) Steenis). Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT. Manado. 18-22.
- Setiana, A. 2011. Pembentukan Senyawa *Alkaloid* dan *Terpenoid*. Makalah. Program Studi Pendidikan Biologi. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Muhammadiyah Sukabumi.
- Slatter, D. 2003. Textbook of Small Animal Surgery Volume 1. Saunders. The Curtis Center. Independence Square West. Philadelphia. 356.
- Sukandar, E.Y., Qowiyah, A., dan Larasari L. 2011. Effect of Methanol Extract Hearleaf Madeiravine (*Anredera cordifolia* (ten.) Steenis) Leaves on Blood Sugar in Diabetes Mellitus Model Mice. Universitas Garut. Vol.1(4):3.
- Suwarto. 2009. Euthanasia Dan Perkembangannya Dalam Kitab Undang-Undang Hukum Pidana. Jurnal Hukum Pro Justitia. Universitas Sumatera Utara. Vol.27(2).
- Syamsuhidajat R., Wim D.J. 2005. Buku Ajar Ilmu Bedah. Penerbit Buku Kedokteran. EGC. Jakarta.
- Tambayong, J. 2000. Patofisiologi untuk Keperawatan. EGC. Jakarta.
- Theresianty, V. I. 2013. Pengaruh Pemberian Topikal Ekstrak Kulit Delima pada Penyembuhan Luka Split Thickness Kulit Tikus. Karya Akhir. Fakultas Kedokteran. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Triyono, B. 2005. Perbedaan Tampilan Kolagen di Sekitar Luka Insisi pada Tikus Wistar yang diberi Infiltrasi Penghilang Nyeri Levobupivakain dan yang tidak diberi Levobupivakain. [Tesis]. Program Magister Biomedik dan PPDS I. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Umar, A. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Kesembuhan Infeksi *Staphylococcus aureus* pada Mencit. Analisis Kesehatan Sains. Vol. 1(2):70.

- Viviansmith, G., Lawson B.E., Turnbull A., Downey P.O. 2007. *The Biology of Australian weeds* 46. *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. *Plant Protection Quarterly*. Vol.22(1)..
- Wibawati, P. A. 2012. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper betle* Var. *Rubrum*) terhadap Waktu Kesembuhan Luka Insisi yang diinfeksi *Staphylococcus aureus* pada Tikus Putih. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya
- Wong., Donna, L. 2008. *Buku Ajar Keperawatan Pediatri*. Edisi 6. Jakarta.
- Yanhendri. 2012. *Berbagai Bentuk Sediaan Topikal dalam Dermatologi*. Bagian Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Padang. Indonesia.
- Zulfitri A.M.I., Khoswanto, C., Istiati, S. 2012. The Effect of Extract Binahong Leaf Gel (*Anredera cordifolia*) to Improve Guinea Pigs (*Cavia cobaya*) Fibroblast Cell and Capillaries Number Over Wound Healing Process after Tooth extraction. *Journal Media Oral Biology Dental Journal*. Vol. 4(2).

RINGKASAN

ADINDA PARAMITA. Pengaruh pemberian salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap kepadatan kolagen Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang mengalami luka bakar di bawah bimbingan Prof. Dr. Sarmanu, MS., drh dan Dr. Wiwik Misaco Yuniarti, drh., M.Kes.

Luka bakar adalah kerusakan jaringan karena kontak dengan agen, termal, kimiawi, atau listrik (Wong, 2008). Pengobatan luka bakar relatif membutuhkan biaya yang sangat mahal. Pertimbangan terhadap zat kimia sintetik yang mempunyai efek samping yang membahayakan bagi organ vital, menyebabkan obat yang berasal dari herbal alami menjadi menarik perhatian.

Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) merupakan salah satu tanaman obat yang diketahui secara empiris memiliki khasiat untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit seperti diabetes, tifus, stroke, wasir, reumatik, pemulihan pasca operasi, menyembuhkan segala luka-luka (Manoi, 2009). Sediaan berbentuk salep dipilih karena mudah dioleskan, susah dicuci dengan air sehingga mampu melindungi kulit lebih lama (Yanhendri dkk., 2012).

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh salep ekstrak daun binahong terhadap kepadatan kolagen pada luka bakar tikus putih. Hewan coba yang digunakan adalah dua puluh ekor tikus putih jantan dengan berat 150-200 gram dan umur kurang lebih tiga bulan. Tikus putih ini dibagi menjadi enam perlakuan yaitu perlakuan P0 (kontrol -) merupakan tikus sehat yang tidak diberi perlakuan, perlakuan (P1) diberi luka bakar dan tidak diberi pengobatan, perlakuan P2 (kontrol +) diberi Silver Sulfadiazine tiga kali sehari selama 14 hari, dan perlakuan P3 , P4 dan P5 diberi salep ekstrak daun binahong (SEDB) 2,5%,

5%, dan 10% sebanyak tiga kali sehari selama 14 hari. Masing-masing perlakuan terdiri dari 4 ekor tikus. Pengamatan akan dilakukan setelah empat belas hari dilakukan terapi dengan salep ekstrak daun binahong (SEDB).

Hasil diperoleh menunjukkan kepadatan kolagen luka bakar tikus putih antara kelompok P0 dan P4 tidak berbeda nyata ($p>0,05$) tetapi berbeda secara nyata dengan P1, P2, P3 dan P5 ($p<0,05$), sementara P3 tidak berbeda nyata ($p<0,05$) dengan P2 dan P5, tetapi keduanya berbeda nyata ($p>0,05$).

Salep ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) dapat digunakan sebagai obat penyembuh luka bakar karena kemampuan yaitu flavonoid, saponin, tanin dan asam askorbat yang berfungsi sebagai antiseptik, antioksidan, antibiotik, dan memacu pertumbuhan kolagen pada proses kesembuhan luka.

Hasil penelitian ini terlihat bahwa salep ekstrak daun binahong (SEDB) yang diberikan secara topikal dengan konsentrasi 2,5% dalam meningkatkan kepadatan kolagen hampir menyamai Silver Sulfadiazine dan menghasilkan kepadatan kolagen lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi 10%. Kesimpulan penelitian ini bahwa salep ekstrak daun binahong (SEDB) 5% dapat meningkatkan kepadatan kolagen pada luka bakar tikus putih dan merupakan dosis optimum. Berdasarkan hasil penelitian dan kesimpulan, dapat disarankan bagi penelitian selanjutnya dilakukan analisa senyawa aktif yang spesifik pada daun binahong yang dapat membantu proses kesembuhan luka serta pada penelitian selanjutnya diharapkan memakai sediaan gel atau krim karena mempunyai daya lekat yang tinggi pada kulit agar penyerapan obat dapat lebih maksimal.

Lampiran 1. Prosedur Luka Bakar Pada Punggung Tikus

1. Anestesi pada tikus secara intramuskular
 - a. Persiapan alat dan obat kombinasi yaitu ketamin dan diazepam untuk anestesi sesuai dengan dosis yang dibutuhkan.
 - Tersedia ketamin 100 mg/kgBB dan diazepam 5 mg/kgBB. Perbandingan kombinasi obat 1 : 1 = 1 ml/kgBB : 1 ml/kgBB. Kombinasi obat 2 ml/kgBB, jadi untuk anestesi tikus putih 2 ml/kgBB x 0,15 kg
 - b. Pemberian dosis Ketamin dan Diazepam = 0,3 ml/kgBB
 - c. Ujung ekor tikus diangkat dengan tangan kanan, diletakkan pada suatu tempat yang permukaannya tidak licin (misal ram kawat penutup kandang), sehingga ketika ditarik, tikus akan mencengkram kawat tersebut.
 - d. Kepala sampai tengkuk tikus ditutup dengan kain penutup menggunakan tangan kiri, ekor tikus tetap dipegang dengan tangan kanan.
 - e. Kombinasi obat anestesi disuntikan intramuskular pada paha posterior dengan jarum suntik no. 24, efek obat terlihat 2-4 menit.
2. Dilakukan pencukuran pada punggung tikus yang sebelumnya sudah dibasahi dengan air sabun (untuk mempermudah pencukuran) seluas 4 cm x 4 cm.
3. Pada daerah yang sudah dicukur dilakukan penempelan plat besi yang sebelumnya sudah direndam didalam air panas. Lakukan penempelan plat besi selama 10 detik sampai terjadi luka bakar derajat II.

Lampiran 2. Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi

Prosedur pembuatan preparat histopatologi dibagi menjadi delapan tahap (Hestianah dkk., 2012) :

1. Pengambilan bahan /spesimen

- a. Sampel untuk pemeriksaan histopatologi harus dalam keadaan segar, artinya jaringan diambil secepat mungkin setelah hewan mati. Keterlambatan pengambilan jaringan, terlebih dalam suhu ruangan yang panas, mengakibatkan jaringan cepat menjadi busuk.
- b. Apabila di dalam kelompok hewan yang mati masih ada hewan lain yang sedang sakit, maka dianjurkan untuk mengambil sampel dari hewan tersebut. Pada jaringan yang mengalami perubahan maka diambil jaringan pada perbatasan antara jaringan yang sakit (mengalami perubahan) dengan jaringan yang sehat.
- c. Ukuran jaringan yang diambil sekitar 1 cm³. Jaringan tersebut harus segera di fiksasi. Potongan jaringan yang terlalu besar mengakibatkan jaringan yang terletak didalamnya tidak terfiksasi dengan sempurna, sehingga dapat membusuk.
- d. Jika jaringan berupa tulang, maka perlu dilunakkan terlebih dahulu dalam larutan dekalsifikasi dengan perbandingan antara jaringan dan larutan 1 : 20 dengan waktu perendaman selama 24 jam.

2. Fiksasi

Larutan yang dipakai dalam fiksasi adalah larutan formalin 10%, larutan bouin, larutan zenker, larutan carnoy, larutan susa. Tujuan dilakukannya

fiksasi yaitu :

- a. Menghentikan perubahan post mortem
- b. Mengeraskan bahan supaya memudahkan pemotongan
- c. Membunuh kuman
- d. Meningkatkan perbedaan indeks refraksi komponen jaringan
- e. Meningkatkan afinitas protoplasma terhadap bahan cat tertentu

3. Dehidrasi

Dehidrasi bertujuan menarik air yang ada didalam jaringan. Proses dehidrasi dengan beberapa larutan dilakukan bertahap dengan putaran waktu sebagai berikut : etanol 70% (2 jam), etanol 80% (2 jam), etanol 90% (2 jam), etanol absolut (2 jam), xylol (2 jam), parafin cair (2 jam).

4. Penjernihan/ *clearing*

Setelah proses dehidrasi dilakukan, kemudia dilanjutkan dengan penghilangan udara dari jaringan dengan menggunakan mesin vakum yang didalamnya terdapat tabung untuk menyimpan keranjang yang diisi parafin cair dengan temperatur ($59^0 - 60^0C$) di vakum selama 30 menit. Keranjang diangkat tissue cassette dikeluarkan dan disimpan pada temperatur 60^0C untuk sementara waktu sebelum pencetakan dilakukan dengan parafin cair.

5. Pengeblokan

Cetakan dari bahan *stainles steel* dihangatkan di atas api bunsen, lalu ke dalam setiap cetakan dimasukkan jaringan sambil diatur dan sedikit ditekan. Sementara itu ditempat lain telah disiapkan parafin cair dalam tempat khusus, sehingga dicapai suhu 60^0C . Parafin cair tersebut dituangkan ke dalam

jaringan sampai seluruh jaringan terendam parafin. Parafin dibiarkan membeku diatas mesin pendingin. Selanjutnya blok parafin dilepas dari cetakan dan disimpan di freezer (-20°C) sebelum dilakukan pemotongan.

6. Pemotongan/ *Sectioning*

Blok parafin yang mengandung jaringan, kemudian dipotong dengan menggunakan mesin mikrotom dengan ketebalan berkisar 3 – 4 mikro meter. Potongan tersebut diletakkan secara hati-hati diatas permukaan air didalam waterbath bersuhu 46°C . Pada kesempatan ini bentuk irisan dirapikan, kemudian diletakkan di atas kaca obyek yang telah diolesi *ewith*, yang berfungsi sebagai bahan perekat. Kaca obyek dengan jaringan di atasnya disusun di dalam rak khusus dan dimasukkan kedalam inkubator bersuhu 60°C sampai preparat siap untuk diwarnai.

7. Pengecatan/ *Staining*

Preparat yang akan diwarnai diletakkan pada rak khusus dan dicelupkan secara berurutan ke dalam larutan dengan waktu sebagai berikut

- a. Xylol 3 menit
- b. Etanol absolut 3 menit
- c. Etanol 90% 3 menit
- d. Etanol 80% 3 menit
- e. Bilas dengan air mengalir selama 1 menit
- f. Larutan hematoksilin 6-7 menit
- g. Bilas dengan air mengalir 1 menit

- h. Larutan pembiru 1 menit
- i. Bilas 1 menit
- j. Larutan eosin 1 – 5 menit
- k. Bilas dengan air mengalir 1 menit
- l. Etanol 80% 10 celupan
- m. Etanol 90% 10 celupan
- n. Etanol absolut 10 celupan
- o. Etanol absolut 1 menit
- p. Xylol 3 menit

Preparat diangkat satu persatu dari larutan xylol dalam keadaan basah, diberi satu tetes cairan perekat (DPX).

8. Penutupan / *Mounting*

Jaringan di kaca obyek yang telah diwarnai, ditetesi entellan®, kemudian ditutup dengan *cover glass*. *Microslides* ini disimpan dalam tempat yang kering.

Lampiran 3. Prosedur Perhitungan Pembuatan Salep Ekstrak Daun Binahong

Formula standart dasar salep yang digunakan menurut Agoes Goeswin (2006)

ialah:

| | | |
|----|----------------|------|
| R/ | Adeps lanae | 15g |
| | Vaseline album | 85g |
| | m.f salep | 100g |

Sediaan salep yang akan digunakan pada penelitian ini memiliki masing-masing konsentrasi ekstrak daun binahong yaitu 2,5%, 5%, 10% yang dibuat sebanyak 30g.

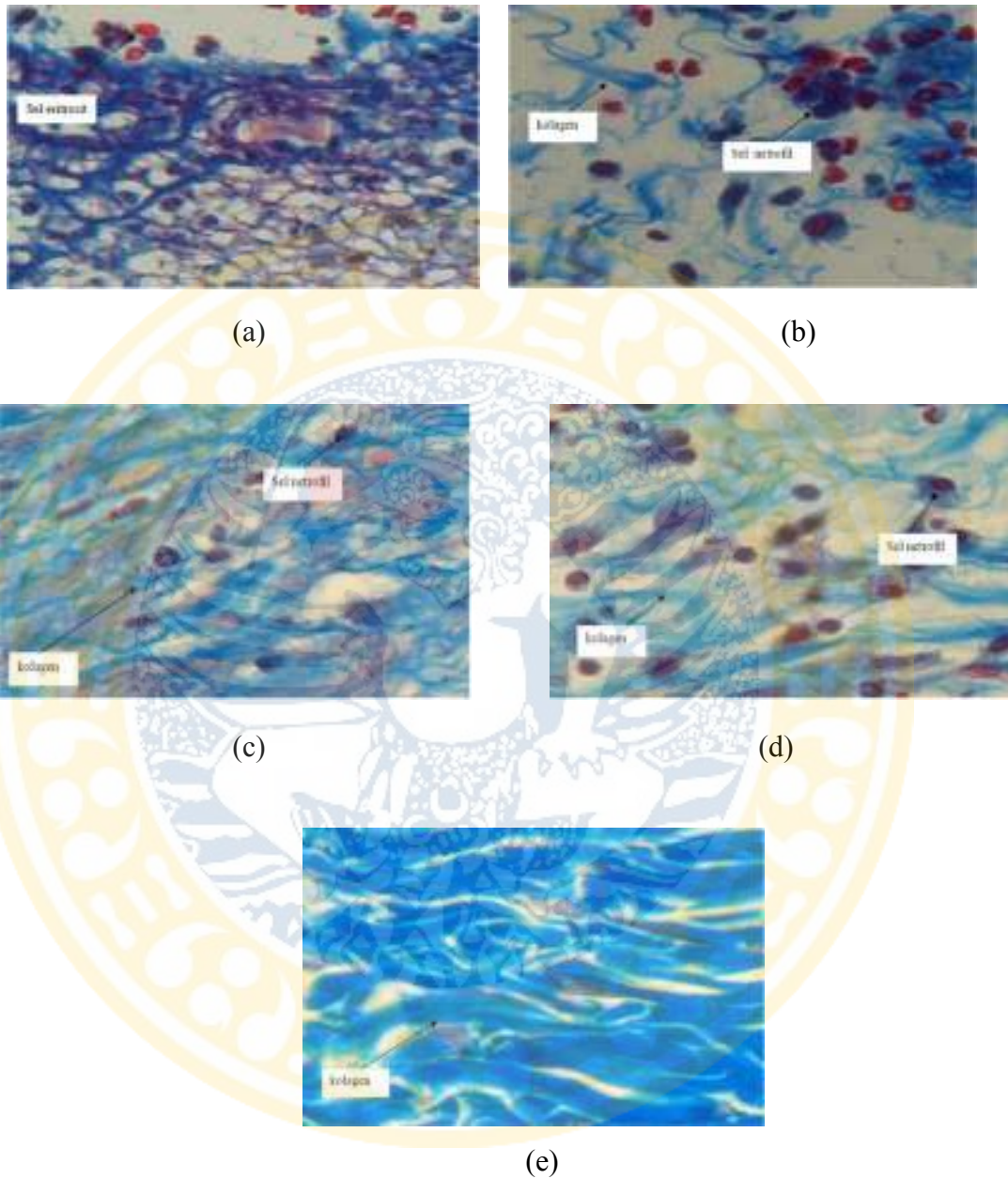
a. Formulasi salep ekstrak daun binahong 2,5%

| | | |
|----|-----------------------|--|
| R/ | Ekstrak daun binahong | 0,75g |
| | Adeps lanae | 4,5g |
| | Vaseline album | 24,75g |
| | m.f salep | 30g |
| - | Ekstrak daun binahong | $= 2,5\% : 100 \times 30$ $= 0,75g$ |
| - | Adeps lanae | $= 15 : 100 \times 30$ $= 4,5g$ |
| - | Vaseline album | $= 30 - (0,75 + 4,5)$ $= 24,75g$ |

b. Formulasi salep ekstrak daun binahong 5%

| | | |
|----|-----------------------|------|
| R/ | Ekstrak daun binahong | 1,5g |
| | Adeps lanae | 4,5g |

Lampiran 3. Parameter skoring histopatologi menurut Novriansyah (2008)



Keterangan:

- (a). +0 = Tidak ditemukan adanya serabut kolagen pada daerah luka
- (b). +1 = Kepadatan serabut kolagen pada daerah luka rendah.
- (c). +2 = Kepadatan serabut kolagen pada daerah luka sedang.
- (d). +3 = Kepadatan serabut kolagen pada daerah luka rapat.
- (e). +4 = Kepadatan serabut kolagen pada daerah luka sangat rapat.

Lampiran 4. Skor Kepadatan Kolagen Luka Bakar Tikus Putih

| Pengulangan | Perlakuan | | | | | |
|-------------|-----------|----|----|----|----|----|
| | P0 | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 |
| 1 | 3 | 0 | 2 | 2 | 3 | 2 |
| 2 | 3 | 0 | 2 | 2 | 3 | 1 |
| 3 | 3 | 0 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| 4 | 3 | 0 | 2 | 1 | 3 | 1 |

Lampiran 5. Uji Statistik Nonparametrik *Kruskal-Wallis* dan Uji Beda *Mann-Whitney-U*.

Case Summaries^a

| | | Kepadatan Kolagen | |
|-----------|----------------|----------------------|------|
| Perlakuan | P0 | 1 | 3 |
| | | 2 | 3 |
| | | 3 | 3 |
| | | 4 | 3 |
| | | N | 4 |
| | Total | Mean | 3.00 |
| | | Median | 3.00 |
| | | Std. Deviation | .000 |
| | P1 | 1 | 0 |
| | | 2 | 0 |
| | | 3 | 0 |
| | | 4 | 0 |
| | | N | 4 |
| Total | Mean | .00 | |
| | Median | .00 | |
| | Std. Deviation | .000 | |
| P2 | 1 | 2 | |
| | 2 | 2 | |
| | 3 | 1 | |
| | 4 | 2 | |
| | N | 4 | |
| Total | Mean | 1.75 | |
| | Median | 2.00 | |
| | Std. Deviation | .500 | |
| P3 | 1 | 2 | |
| | 2 | 2 | |
| | 3 | 1 | |
| | 4 | 1 | |
| | N | 4 | |
| Total | Mean | 1.50 | |
| | Median | 1.50 | |
| | Std. Deviation | .577 | |
| P4 | 1 | 3 | |
| | 2 | 3 | |
| | 3 | 2 | |
| | 4 | 3 | |
| | N | 4 | |
| Total | Mean | 2.75 | |
| | Median | 3.00 | |
| | Std. Deviation | .500 | |
| P5 | 1 | 2 | |
| | 2 | 1 | |

| | | | |
|-------|-------|----------------|-------|
| | 3 | | 1 |
| | 4 | | 1 |
| | | N | 4 |
| | Total | Mean | 1.25 |
| | | Median | 1.00 |
| | | Std. Deviation | .500 |
| | N | | 24 |
| Total | | Mean | 1.71 |
| | | Median | 2.00 |
| | | Std. Deviation | 1.083 |

a. Limited to first 100 cases.

Kruskal-Wallis Test

| Ranks | | | | |
|------------------|-----------|----|-----------|--|
| | Perlakuan | N | Mean Rank | |
| KepadatanKolagen | P0 | 4 | 21.00 | |
| | P1 | 4 | 2.50 | |
| | P2 | 4 | 12.38 | |
| | P3 | 4 | 10.75 | |
| | P4 | 4 | 19.25 | |
| | P5 | 4 | 9.13 | |
| | Total | 24 | | |

Test Statistics^{a,b}

| | KepadatanKolage n |
|-------------|----------------------|
| Chi-Square | 19.944 |
| df | 5 |
| Asymp. Sig. | .001 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan

Mann-Whitney Test

| Ranks | | | | |
|-------------------|-----------|---|-----------|--------------|
| | Perlakuan | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
| Kepadatan Kolagen | P1 | 4 | 2.50 | 10.00 |
| | P5 | 4 | 6.50 | 26.00 |
| | Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | Kepadatan Kolagen |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | .000 |
| Wilcoxon W | 10.000 |
| Z | -2.530 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .011 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .029 ^b |

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

| | Perlakuan | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------------------|-----------|---|-----------|--------------|
| Kepadatan Kolagen | P1 | 4 | 2.50 | 10.00 |
| | P3 | 4 | 6.50 | 26.00 |
| | Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | Kepadatan Kolagen |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | .000 |
| Wilcoxon W | 10.000 |
| Z | -2.494 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .013 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .029 ^b |

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

| | Perlakuan | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------------------|-----------|---|-----------|--------------|
| Kepadatan Kolagen | P1 | 4 | 2.50 | 10.00 |
| | P2 | 4 | 6.50 | 26.00 |
| | Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | Kepadatan Kolagen |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | .000 |
| Wilcoxon W | 10.000 |
| Z | -2.530 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .011 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .029 ^b |

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

| | Perlakuan | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------------------|-----------|---|-----------|--------------|
| Kepadatan Kolagen | P1 | 4 | 2.50 | 10.00 |
| | P4 | 4 | 6.50 | 26.00 |
| | Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | Kepadatan Kolagen |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | .000 |
| Wilcoxon W | 10.000 |
| Z | -2.530 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .011 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .029 ^b |

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

| | Perlakuan | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------------------|-----------|---|-----------|--------------|
| Kepadatan Kolagen | P0 | 4 | 6.50 | 26.00 |
| | P1 | 4 | 2.50 | 10.00 |
| | Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | Kepadatan Kolagen |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | .000 |
| Wilcoxon W | 10.000 |
| Z | -2.646 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .008 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .029 ^b |

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

| | Perlakuan | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------------------|-----------|---|-----------|--------------|
| Kepadatan Kolagen | P3 | 4 | 5.00 | 20.00 |
| | P5 | 4 | 4.00 | 16.00 |
| | Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | Kepadatan Kolagen |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 6.000 |
| Wilcoxon W | 16.000 |
| Z | -.683 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .495 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .686 ^b |

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

| | Perlakuan | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------------------|-----------|---|-----------|--------------|
| Kepadatan Kolagen | P2 | 4 | 5.50 | 22.00 |
| | P5 | 4 | 3.50 | 14.00 |
| | Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | Kepadatan Kolagen |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 4.000 |
| Wilcoxon W | 14.000 |
| Z | -1.323 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .186 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .343 ^b |

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

| | Perlakuan | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------------------|-----------|---|-----------|--------------|
| Kepadatan Kolagen | P4 | 4 | 6.38 | 25.50 |
| | P5 | 4 | 2.63 | 10.50 |
| | Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | Kepadatan Kolagen |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | .500 |
| Wilcoxon W | 10.500 |
| Z | -2.291 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .022 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .029 ^b |

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

| | Perlakuan | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------------------|-----------|---|-----------|--------------|
| Kepadatan Kolagen | P0 | 4 | 6.50 | 26.00 |
| | P5 | 4 | 2.50 | 10.00 |
| | Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | Kepadatan Kolagen |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | .000 |
| Wilcoxon W | 10.000 |
| Z | -2.530 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .011 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .029 ^b |

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

| | Perlakuan | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------------------|-----------|---|-----------|--------------|
| Kepadatan Kolagen | P2 | 4 | 5.00 | 20.00 |
| | P3 | 4 | 4.00 | 16.00 |
| | Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | Kepadatan Kolagen |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 6.000 |
| Wilcoxon W | 16.000 |
| Z | -.683 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .495 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .686 ^b |

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

| | Perlakuan | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------------------|-----------|---|-----------|--------------|
| Kepadatan Kolagen | P3 | 4 | 2.75 | 11.00 |
| | P4 | 4 | 6.25 | 25.00 |
| | Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | Kepadatan Kolagen |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 1.000 |
| Wilcoxon W | 11.000 |
| Z | -2.139 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .032 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .057 ^b |

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

| | Perlakuan | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------------------|-----------|---|-----------|--------------|
| Kepadatan Kolagen | P0 | 4 | 5.00 | 20.00 |
| | P4 | 4 | 4.00 | 16.00 |
| | Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | Kepadatan Kolagen |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 6.000 |
| Wilcoxon W | 16.000 |
| Z | -1.000 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .317 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .686 ^b |

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

| | Perlakuan | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------------------|-----------|---|-----------|--------------|
| Kepadatan Kolagen | P2 | 4 | 2.88 | 11.50 |
| | P4 | 4 | 6.13 | 24.50 |
| | Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | Kepadatan Kolagen |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 1.500 |
| Wilcoxon W | 11.500 |
| Z | -2.055 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .040 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .057 ^b |

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

| | Perlakuan | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------------------|-----------|---|-----------|--------------|
| Kepadatan Kolagen | P0 | 4 | 6.50 | 26.00 |
| | P2 | 4 | 2.50 | 10.00 |
| | Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | Kepadatan Kolagen |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | .000 |
| Wilcoxon W | 10.000 |
| Z | -2.530 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .011 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .029 ^b |

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

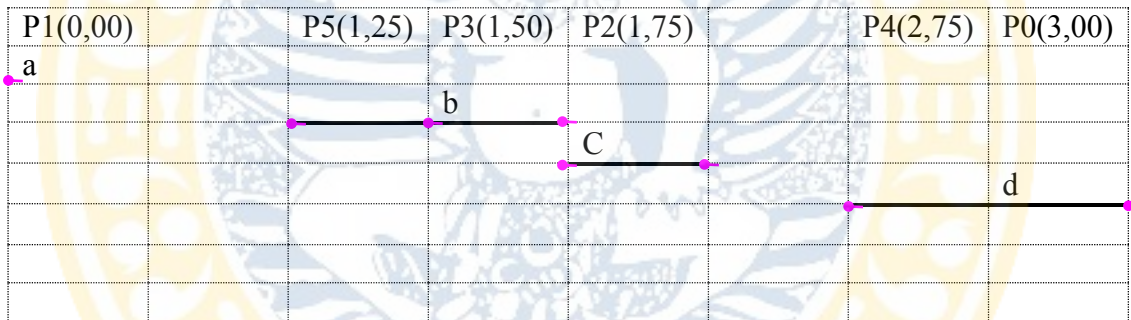
Ranks

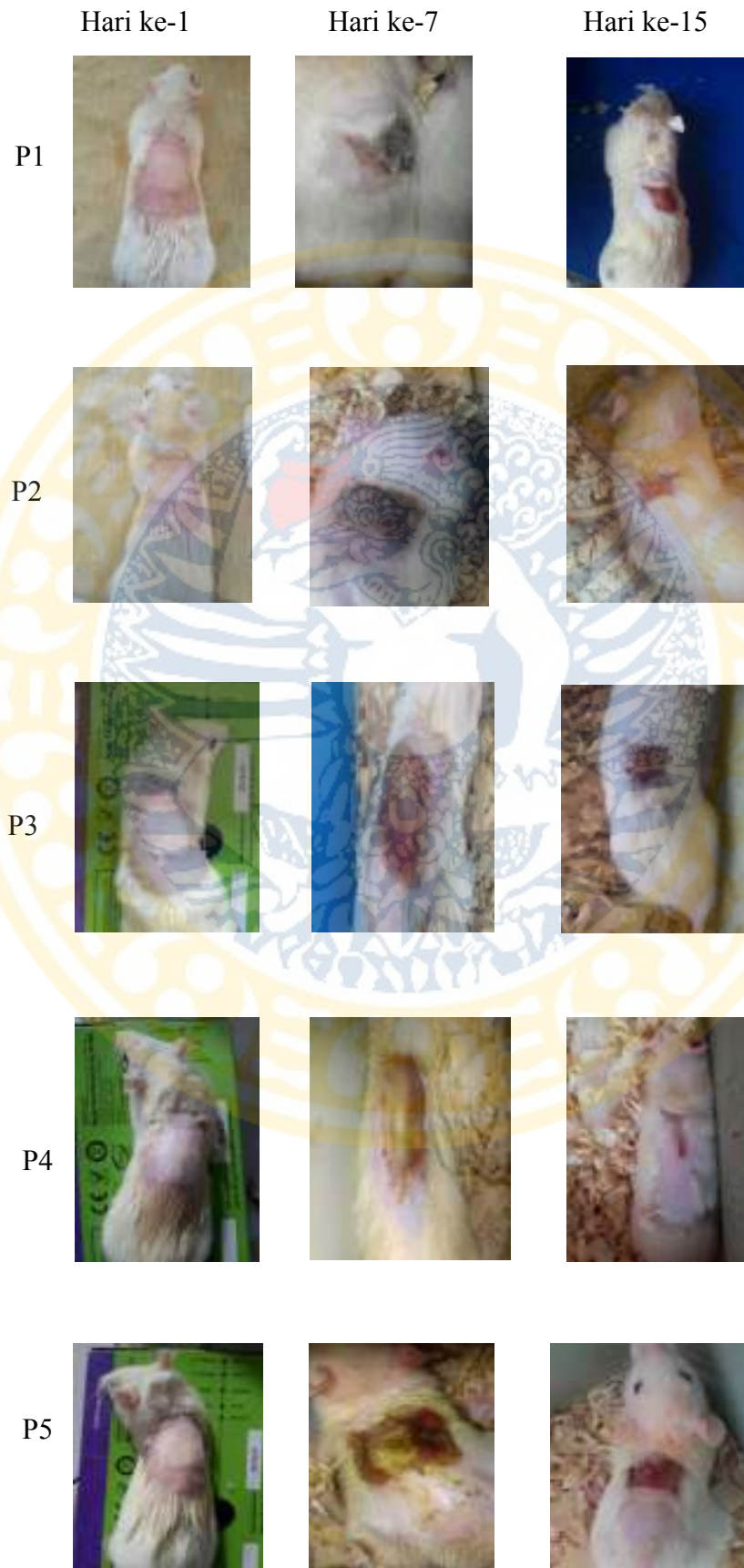
| | Perlakuan | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------------------|-----------|---|-----------|--------------|
| Kepadatan Kolagen | P0 | 4 | 6.50 | 26.00 |
| | P3 | 4 | 2.50 | 10.00 |
| | Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | Kepadatan Kolagen |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | .000 |
| Wilcoxon W | 10.000 |
| Z | -2.494 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .013 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .029 ^b |

a. Grouping Variable: Perlakuan
 b. Not corrected for ties.



Lampiran 6. Gambaran Makroskopis Luka Bakar Kulit Tikus Putih

Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian

Daun Binahong

Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*)

Ekstrak Daun Binahong



Timbangan



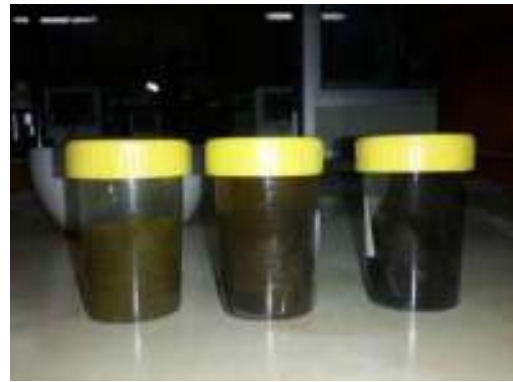
Mortir



Cawan porselen



Vaseline album dan Adeps lanae



Salep ekstrak daun binahong 2,5%, 5%, dan 10%



Silver Sulfadiazine



- a. Spuid 1 ml
- b. Foam pencukur rambut
- c. Blade ukuran 10
- d. Gillette
- e. *scalpel*
- f. Gunting
- g. Pinset sirugis



Perlakuan