

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Diabetes mellitus (DM) merupakan kelompok penyakit gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia yang disebabkan karena kelainan dalam proses sekresi insulin, kinerja insulin, ataupun keduanya. Hiperglikemia kronis akibat DM dapat menyebabkan kerusakan jangka panjang, disfungsi, dan kegagalan dari berbagai organ terutama mata, ginjal, saraf, jantung, dan pembuluh darah (*American Diabetes Association, 2018*). Hiperglikemia adalah kondisi ketika kadar glukosa dalam darah meningkat dan melebihi batas normal (Kementerian Kesehatan RI, 2014). Seseorang didiagnosa menderita DM apabila memiliki kadar glukosa darah puasa  $\geq 126$  mg/dL dan atau kadar glukosa darah acak  $\geq 200$  mg/dL (*International Diabetes Federation, 2017*). Penyakit DM diklasifikasikan menjadi empat tipe, yaitu DM tipe 1, DM tipe 2, DM gestasional, dan DM tipe lainnya (*American Diabetes Association, 2018*).

Diabetes mellitus tipe 1 atau disebut juga dengan diabetes bergantung- insulin (*insulin-dependent diabetes*) terjadi ketika terdapat kelainan pada reaksi autoimun, yaitu ketika sel  $\beta$  pankreas diserang oleh sistem kekebalan tubuh sehingga seseorang kehilangan kemampuan untuk menghasilkan insulin yang menyebabkan defisiensi insulin. Diabetes mellitus tipe 2 atau disebut juga dengan diabetes tak bergantung insulin (*non-insulin-dependent diabetes*) ditandai dengan ketidakmampuan sel-sel target untuk merespon secara normal terhadap insulin yang dihasilkan. Insulin dihasilkan secara normal, namun terdapat kegagalan sel-

sel target dalam pengambilan glukosa dari darah sehingga menyebabkan kadar glukosa darah tetap tinggi (Campbell *et al.*, 2008). Diabetes mellitus gestasional disebabkan karena adanya intoleransi glukosa yang menyebabkan hiperglikemia dengan tingkat yang bervariasi pada masa kehamilan. Diabetes mellitus tipe lain disebabkan antara lain karena terdapat kecacatan genetik pada aksi insulin, endokrinopati, pengaruh obat-obatan atau bahan kimia, dan sindrom genetik lainnya yang terkait dengan diabetes (*American Diabetes Association*, 2018).

Berdasarkan data dari *International Diabetes Federation* (2017), anak-anak dan orang dewasa yang menderita DM meningkat setiap tahun. Pada tahun 2015, terdapat sekitar 415 juta jiwa di seluruh dunia yang menderita penyakit DM. Jumlah ini mengalami kenaikan hingga 4 kali lipat dari tahun 1980 yang berjumlah 108 juta jiwa. Diperkirakan pada tahun 2040 jumlah ini akan mengalami kenaikan hingga 55% menjadi 642 juta jiwa. Hampir 80% penduduk dunia yang menderita DM berasal dari negara yang berpenghasilan menengah dan rendah, sedangkan di negara yang berpenghasilan tinggi, penduduknya yang menderita DM diperkirakan sekitar 87% hingga 91% menderita DM tipe 2, 7% hingga 12% menderita DM tipe 1, dan 1% hingga 3% menderita DM tipe lain. Di tahun 2017, Indonesia menempati peringkat ke-6 untuk prevalensi penderita DM terbanyak di seluruh dunia dengan umur penderita sekitar 20-79 tahun dengan estimasi penderita sebanyak 10,3 juta jiwa (*International Diabetes Federation*, 2017). Penyakit DM dengan komplikasi merupakan penyebab kematian tertinggi dengan urutan ketiga di Indonesia (*World Health Organization*, 2016).

Kondisi hiperglikemia berhubungan dengan peningkatan *reactive oxygen species* (ROS), yang memicu peningkatan stres oksidatif (Son, 2012). *Reactive oxygen species* adalah kumpulan molekul heterogen, yaitu diantaranya termasuk radikal bebas seperti hidroksil (OH), superoksida ( $O_2^-$ ), peroksil ( $RO_2$ ), dan hidroperoksil ( $HRO_2^-$ ) dan non-radikal spesies seperti hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) dan asam klorida (HCl). Stres oksidatif terjadi ketika jumlah ROS melebihi jumlah antioksidan penetralisir, seperti *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) dan *glutathione* (GSH). Hiperglikemia dapat memicu akumulasi ROS pada jaringan atau sel dengan jalur metabolisme yang berbeda, diantaranya: (1) peningkatan fluks glukosa melalui jalur poliol; (2) peningkatan pembentukan AGEs (*advanced glycation end product*) dan aktivasi reseptor AGEs; (3) aktivasi isoform protein kinase C (PKC)  $\beta$ ,  $\delta$ , dan  $\alpha$ ; (4) meningkatkan keaktifan jalur heksosamin; dan (5) menurunkan pertahanan antioksidan. Tidak adanya adaptasi yang sesuai oleh jaringan pertahanan antioksidan endogen, akumulasi ROS memicu aktivasi jalur persinyalan intraseluler yang peka terhadap stres, dan kondisi ini memicu kerusakan sel dan menyebabkan perkembangan komplikasi diabetes (Fiorentino *et al.*, 2013).

Komplikasi DM diantaranya adalah ulkus atau luka. Luka merupakan suatu keadaan yang ditandai dengan rusaknya berbagai jaringan tubuh seperti jaringan epitel, jaringan ikat, dan jaringan otot yang diikuti dengan rusaknya jaringan syaraf dan robeknya pembuluh darah yang mengakibatkan pendarahan. Bila keadaan itu dibiarkan maka akan mengganggu homeostatis tubuh. Untuk menghindari kerusakan yang lebih lanjut, maka tubuh memiliki mekanisme

khusus untuk penyembuhan luka (Amalia, 2015). Secara umum fase penyembuhan luka terdiri dari fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodeling (Gonzalez *et al.*, 2016).

Berbagai sel yang berperan dalam proses penyembuhan luka diantaranya adalah neutrofil, monosit, makrofag, fibroblas, sel B, sel T, sel mast, dan sel endothelial (Babaei *et al.*, 2013). Sel tersebut secara aktif terlibat dalam produksi dan regulasi berbagai sitokin dan faktor pertumbuhan (Patel *et al.*, 2019). Monosit yang kemudian berubah menjadi makrofag adalah produsen utama sitokin pro-inflamasi seperti IL-1 $\beta$  (*Interleukin-1 $\beta$* ), TNF- $\alpha$  (*Tumor necrosis factor- $\alpha$* ), IL-6 (*Interleukin-6*) dan faktor pertumbuhan seperti VEGF (*Vascular endothelial growth factor*), IGF-1 (*Insulin-like growth factor-1*) dan TGF- $\beta$  (*Transforming growth factor- $\beta$* ) dalam kondisi diabetes maupun non-diabetes. Makrofag adalah kontributor penting dalam penyembuhan luka. Neutrofil, keratinosit, fibroblas, sel mast dan sel endotel juga merupakan produsen signifikan sitokin seperti TNF- $\alpha$  dan IL-10 serta faktor pertumbuhan seperti VEGF, IGF-1 dan TGF- $\beta$  (Babaei *et al.*, 2013).

Diabetes mellitus menunda proses penyembuhan luka karena kondisi hiperglikemia dapat meningkatkan ROS dan memicu stres oksidatif sehingga mengganggu setiap fase penyembuhan luka yaitu fase haemostasis, fase peradangan, fase proliferasi dan fase remodeling, yang memiliki efek negatif jangka panjang untuk kualitas hidup, yaitu morbiditas dan mortalitas (Patel *et al.*, 2019). Hiperglikemia dan stres oksidatif mengubah kode epigenic yang mengakibatkan perubahan dalam polarisasi dan modulasi makrofag.

Ketidakmampuan dalam polarisasi makrofag adalah salah satu alasan utama proses penyembuhan luka tertunda (Mallik *et al.*, 2018). Produksi sitokin pro-inflamasi yang berkelanjutan dapat menyebabkan gangguan respon angiogenik dan komplikasi mikrovaskuler (Alavi *et al.*, 2014), mengganggu fungsi makrofag dan neutrofil (Okizaki *et al.*, 2015), mengganggu migrasi dan proliferasi keratinosit dan fibroblas, serta mengganggu pada proses produksi faktor pertumbuhan. Tingginya kadar sitokin pro-inflamasi seperti IL-6 dan TNF- $\alpha$  pada diabetes menyebabkan terganggunya reaksi kaskade inflamasi, hiperinflamasi, dan resistensi insulin (Patel *et al.*, 2019). Penurunan faktor pertumbuhan akan menurunkan proliferasi dan migrasi sel fibrosit dan fibroblas. Jika jumlah fibrosit dan fibroblas turun, maka sintesis kolagen juga menurun. Selain itu, kondisi hiperglikemia juga memicu aktifnya jalur PKC yang dapat menghambat ekspresi *endothelial Nitric Oxide Synthase* (eNOS) dan meningkatkan ekspresi *Nuclear Factor- Kappa B* (NF-kB) (Fiorentino *et al.*, 2013). Penurunan ekspresi eNOS menghambat migrasi keratinosit sehingga menghambat proses re-epitelisasi. Penurunan ekspresi eNOS juga menurunkan sekresi VEGF (*vascular endothelial growth factors*) sehingga proses angiogenesis terganggu. Kondisi tersebut yang dapat memicu kerusakan jaringan sehingga menyebabkan gangren (Brem and Canic, 2007).

Alginat merupakan hidrokoloid yang diekstraksi dari Phaeophyceae (*alga coklat*) (Anggadiredja *et al.*, 2006). Alginat memiliki daya serap yang kuat, menyerap banyak eksudat dengan cepat, bentuk gel yang menciptakan lingkungan yang lembab yang ideal untuk merangsang penyembuhan luka (Hampton, 2004).

Alginat mengandung kalsium yang tinggi sehingga dapat membantu dalam proses pembekuan darah (Collins *et al.*, 2002). Yu *et al.*, (2016) telah membuktikan bahwa penutupan luka dengan menggunakan alginat dapat meningkatkan proses angiogenesis dan re-epitelisasi. Penutupan luka dengan menggunakan alginat mampu menyerap kelebihan cairan luka, menjaga lingkungan yang lembab secara fisiologis, serta meminimalkan infeksi bakteri di area luka (Aderibigbe and Buyana, 2018).

Tanaman okra (*Abelmoschus esculentus*, Linn) merupakan salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif, karena memiliki beragam sifat obat seperti aktivitas antidiabetes, antioksidan, antibakteri, dan anti-inflamasi (Nesa *et al.*, 2014). Bahan aktif yang terkandung dalam buah okra diantaranya adalah saponin, tannin, flavonoid, dan alkaloid (Bello *et al.*, 2015). Kandungan saponin berfungsi sebagai antibakteri dan dapat menstimulasi angiogenesis. Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa flavonoid memiliki aktivitas anti-inflamasi dan moderator sintesis kolagen (Kumar *et al.*, 2013). Flavonoid juga dapat memodulasi *oxidative burst* pada neutrofil yang dapat mengakibatkan penurunan ROS, sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan luka (Soemarie, 2016). Kandungan flavonoid pada tanaman okra berkisar 18-22% dari total fenolik. Flavonoid diketahui bisa digunakan untuk mengobati diabetes mellitus. Senyawa yang dihasilkan oleh flavonoid yang berperan sebagai antioksidan adalah *quercetin* (Ahmed and Kumar, 2016). Banyak penelitian yang menunjukkan bahwa *quercetin* dan senyawa analognya mampu menurunkan hiperglikemia dan hiperlipidemi serta menurunkan resistensi insulin (Dai *et al.*,

2013). Selain itu, *quercetin* dan senyawa analognya mampu memperbaiki kemampuan antioksidan pada mencit *diet-induced obesed* pada mencit diabetik melalui peningkatan Adenosin 5'-monofosfat (AMP) yang diaktivasi *Protein Kinase Signaling* dan menghambat aktivitas  $\alpha$ -glukosidase (Panda *et al.*, 2007). *Quercetin* sebagai polifenol yang ditemukan dalam buah okra memiliki fungsi biologis dalam peradangan dan fungsi kekebalan tubuh. *Quercetin* memiliki potensi anti-inflamasi pada berbagai jenis sel dan memicu penyembuhan luka dengan memodulasi VEGF (*vascular endothelial growth factors*) dan TGF- $\beta$ 1 (*transforming growth factor- $\beta$ 1*) (Yin *et al.*, 2018).

Buah manggis (*Garcinia mangostana*, Linn) adalah salah satu buah yang terdapat di wilayah tropis yang sebagian besar ditemukan di Asia Tenggara, termasuk Indonesia. Kulit buah manggis telah banyak digunakan sebagai pengobatan alternatif untuk infeksi, luka, dan diabetes. *Xanthones* adalah salah satu metabolit buah manggis yang diekstrak dari kulit buah manggis. Terdapat sekitar 68 jenis *xanthones* berbeda yang telah diidentifikasi di berbagai bagian tanaman, yang 50 diantaranya ditemukan dalam konsentrasi yang lebih tinggi di kulit buah manggis (Sombolayuk *et al.*, 2019). Senyawa *xanthones* yang paling melimpah dalam kulit buah manggis adalah  $\alpha$ -dan  $\gamma$ -*mangostin* (Mohan *et al.*, 2018). Beberapa penelitian telah mengungkapkan bahwa ekstrak kulit buah manggis menunjukkan aktivitas antimikroba, sifat antioksidan, anti-inflamasi, dan analgesik (Tatiya *et al.*, 2016). Penelitian terbaru menunjukkan efek dari berbagai konsentrasi pembentukan gel dari ekstrak kulit buah manggis efektif untuk penyembuhan luka bakar pada tikus (Sugihartini and Wiradhika, 2017).

Moongkarndi *et al.* (2004) dan Weecharangsan *et al.* (2006) mengatakan bahwa ekstrak kulit buah manggis berpotensi sebagai antioksidan yang dapat melawan radikal bebas yang diperankan oleh  $\alpha$ -mangostin. Kulit buah manggis yang mengandung senyawa xanthone memiliki fungsi antioksidan tinggi yang dapat dimanfaatkan untuk melindungi dan mengurangi kerusakan sel terutama yang diakibatkan oleh radikal bebas (Soediby, 2008).

Nilai IC<sub>50</sub> didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) sebanyak 50% (Ridho *et al.*, 2013). Menurut Molyneux (2004 dalam Tristantini *et al.*, 2016), kekuatan antioksidan dikelompokkan menjadi sangat kuat (nilai IC<sub>50</sub><50 µg/mL), kuat (nilai IC<sub>50</sub> 50-100 µg/mL), sedang (nilai IC<sub>50</sub> 100-150 µg/mL), dan lemah (nilai IC<sub>50</sub> 150-200 µg/mL). Samosir *et al.* (2012) menyatakan bahwa besarnya kekuatan antioksidan tersebut erat hubungannya dengan kandungan metabolit sekunder yang berpotensi menjadi antioksidan, semakin banyak metabolit sekunder yang berpotensi menjadi antioksidan yang terkandung maka semakin kuat pula aktivitas antioksidannya.

Berdasarkan latar belakang diatas, belum ada penelitian yang menjelaskan tentang pengaruh kombinasi alginat yang diisolasi dari *Sargassum duplicatum* dengan ekstrak buah okra dan kombinasi alginat dari *S. duplicatum* dengan ekstrak kulit buah manggis yang diberikan secara topikal terhadap penyembuhan luka terbuka pada penderita DM. Oleh karena itu, dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian secara topikal kombinasi ekstrak alginat dari *S. duplicatum* dengan ekstrak buah okra dan ekstrak kulit buah manggis terhadap penyembuhan



luka pada mencit diabetik. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan penjelasan mengenai aktivitas antioksidan dari ekstrak buah okra dan ekstrak kulit buah manggis berdasarkan nilai  $IC_{50}$ , dan memberikan penjelasan secara ilmiah mengenai pengaruh pemberian kombinasi alginat dari *S. duplicatum* dengan ekstrak buah okra dan ekstrak kulit buah manggis yang berpotensi untuk membantu pengobatan luka terbuka pada penderita DM.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimanakah aktivitas antioksidan ekstrak buah okra dan ekstrak kulit buah manggis berdasarkan nilai  $IC_{50}$ ?
2. Apakah pengaruh pemberian secara topikal kombinasi alginat dari *S. duplicatum* dengan ekstrak buah okra terhadap lebar luka, jumlah neutrofil, jumlah makrofag, jumlah fibroblas, jumlah fibrosit, dan densitas kolagen pada proses penyembuhan luka terbuka mencit diabetik?
3. Apakah pengaruh pemberian secara topikal kombinasi alginat dari *S. duplicatum* dengan ekstrak kulit buah manggis terhadap lebar luka, jumlah neutrofil, jumlah makrofag, jumlah fibroblas, jumlah fibrosit, dan densitas kolagen pada proses penyembuhan luka terbuka mencit diabetik?

## 1.3 Asumsi Penelitian

Kondisi DM ditandai dengan hiperglikemia. Hiperglikemia akibat DM dapat meningkatkan ROS pada sel atau jaringan melalui berbagai jalur dan memicu stres oksidatif sehingga mengganggu setiap fase penyembuhan luka yaitu fase

haemostasis, fase peradangan, fase proliferasi dan fase remodeling. Hiperglikemia dan stres oksidatif mengubah kode epigenic yang mengakibatkan perubahan dalam polarisasi dan modulasi neutrofil dan makrofag untuk menghasilkan sitokin dan faktor pertumbuhan, sehingga dapat menghambat proses proliferasi dan migrasi dari fibroblas, fibrosit, dan keratinosit. Terhambatnya proliferasi dan migrasi fibroblas dan fibrosit menyebabkan sintesis kolagen menurun, dan terhambatnya proliferasi dan migrasi keratinosit menyebabkan proses re-epitelisasi menjadi terganggu. Hal tersebut dapat menghambat proses penyembuhan luka pada mencit diabetik. Pemberian kombinasi alginat dari *S. duplicatum* dengan ekstrak buah okra dan kombinasi alginat dengan ekstrak kulit buah manggis diasumsikan sebagai antibakteri, anti-inflamasi, dan antioksidan yang dapat mengurangi produksi ROS. Sehingga dapat membantu proses penyembuhan luka terbuka pada penderita DM dengan menurunkan lebar luka, jumlah neutrofil dan jumlah makrofag di area luka, serta meningkatkan proliferasi dan migrasi fibroblas dan fibrosit serta sintesis kolagen.

## **1.4 Hipotesis Penelitian**

### **1.4.1 Hipotesis kerja**

Pemberian secara topikal kombinasi alginat dari *S. duplicatum* dengan ekstrak buah okra dan ekstrak kulit buah manggis memiliki pengaruh terhadap proses penyembuhan luka terbuka mencit diabetik, jika pemberian kombinasi alginat dari *S. duplicatum* dengan ekstrak buah okra dan ekstrak kulit buah manggis dapat menurunkan lebar luka, jumlah neutrofil, dan jumlah makrofag

serta meningkatkan jumlah fibroblas, jumlah fibrosit, dan densitas kolagen pada sayatan kulit mencit diabetik.

#### 1.4.2 Hipotesis statistik

Berdasarkan rumusan masalah di atas, hipotesis yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

H<sub>01</sub>: Pemberian secara topikal kombinasi alginat dari *S. duplicatum* dengan ekstrak buah okra dan ekstrak kulit buah manggis tidak berpengaruh terhadap lebar luka pada proses penyembuhan luka terbuka mencit diabetik.

H<sub>a1</sub>: Pemberian secara topikal kombinasi alginat dari *S. duplicatum* dengan ekstrak buah okra dan ekstrak kulit buah manggis berpengaruh terhadap lebar luka pada proses penyembuhan luka terbuka mencit diabetik.

H<sub>02</sub>: Pemberian secara topikal kombinasi alginat dari *S. duplicatum* dengan ekstrak buah okra dan ekstrak kulit buah manggis tidak berpengaruh terhadap jumlah neutrofil pada proses penyembuhan luka terbuka mencit diabetik.

H<sub>a2</sub>: Pemberian secara topikal kombinasi alginat dari *S. duplicatum* dengan ekstrak buah okra dan ekstrak kulit buah manggis berpengaruh terhadap jumlah neutrofil pada proses penyembuhan luka terbuka mencit diabetik.

H<sub>03</sub>: Pemberian secara topikal kombinasi alginat dari *S. duplicatum*

dengan ekstrak buah okra dan ekstrak kulit buah manggis tidak berpengaruh terhadap jumlah makrofag pada proses penyembuhan luka terbuka mencit diabetik.

H<sub>a3</sub>: Pemberian secara topikal kombinasi alginat dari *S. duplicatum* dengan ekstrak buah okra dan ekstrak kulit buah manggis berpengaruh terhadap jumlah makrofag pada proses penyembuhan luka terbuka mencit diabetik.

H<sub>04</sub>: Pemberian secara topikal kombinasi alginat dari *S. duplicatum* dengan ekstrak buah okra dan ekstrak kulit buah manggis tidak berpengaruh terhadap jumlah fibroblas pada proses penyembuhan luka terbuka mencit diabetik.

H<sub>a4</sub>: Pemberian secara topikal kombinasi alginat dari *S. duplicatum* dengan ekstrak buah okra dan ekstrak kulit buah manggis berpengaruh terhadap jumlah fibroblas pada proses penyembuhan luka terbuka mencit diabetik.

H<sub>05</sub>: Pemberian secara topikal kombinasi alginat dari *S. duplicatum* dengan ekstrak buah okra dan ekstrak kulit buah manggis tidak berpengaruh terhadap jumlah fibrosit pada proses penyembuhan luka terbuka mencit diabetik.

H<sub>a5</sub>: Pemberian secara topikal kombinasi alginat dari *S. duplicatum* dengan ekstrak buah okra dan ekstrak kulit buah manggis berpengaruh terhadap jumlah fibrosit pada proses penyembuhan luka terbuka mencit diabetik.

H<sub>06</sub>: Pemberian secara topikal kombinasi alginat dari *S. duplicatum* dengan ekstrak buah okra dan ekstrak kulit buah manggis tidak berpengaruh terhadap densitas kolagen pada proses penyembuhan luka terbuka mencit diabetik.

H<sub>a6</sub>: Pemberian secara topikal kombinasi alginat dari *S. duplicatum* dengan ekstrak buah okra dan ekstrak kulit buah manggis berpengaruh terhadap densitas kolagen pada proses penyembuhan luka terbuka mencit diabetik.

### 1.5 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak buah okra dan ekstrak kulit buah manggis berdasarkan nilai IC<sub>50</sub>.
2. Mengetahui pengaruh pemberian secara topikal kombinasi alginat dari *S. duplicatum* dengan ekstrak buah okra terhadap lebar luka, jumlah neutrofil, jumlah makrofag, jumlah fibroblas, jumlah fibrosit, dan densitas kolagen pada proses penyembuhan luka terbuka mencit diabetik.
3. Mengetahui pengaruh pemberian secara topikal kombinasi alginat dari *S. duplicatum* dengan ekstrak kulit buah manggis terhadap lebar luka, jumlah neutrofil, jumlah makrofag, jumlah fibroblas, jumlah fibrosit, dan densitas kolagen pada proses penyembuhan luka terbuka mencit diabetik?

### **1.6 Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi terkait pengaruh pemberian kombinasi alginat dari *S. duplicatum* dengan ekstrak buah okra dan ekstrak kulit buah manggis yang diberikan secara topikal terhadap proses penyembuhan luka terbuka pada mencit diabetik, sehingga dapat dijadikan sebagai bahan obat antidiabetik yang dapat membantu dalam proses penyembuhan luka terbuka pada penderita diabetes mellitus, serta menjadi data pembandingan dengan hasil penelitian yang lainnya tentang uji aktivitas kombinasi alginat dari *S. duplicatum* dengan ekstrak buah okra dan ekstrak kulit buah manggis.