

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS SALEP EKSTRAK DAUN SEMBUNG
RAMBAT (*Mikania micrantha* Kunth) TERHADAP
PENYEMBUHAN LUKA BUATAN KULIT TIKUS
DIABETES INDUKSIAN *STREPTOZOTOSIN***

**OLEH :
DINA AULIA RAHMI
NIM : 1905024**



**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN INDAH MEDAN
MEDAN
2024**

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN INDAH MEDAN

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Nama : Dina Aulia Rahmi
NIM : 1905024
Program Studi : Sarjana Farmasi
Jenjang Pendidikan : Strata Satu (S-1)
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Salep Ekstrak Daun Sembung Rambat
(*Mikania micrantha* Kunth) Terhadap Penyembuhan
Luka Buatan Kulit Tikus Diabetes Induksian
Streptozotosin.

Pembimbing I



(apt. Drs. M. Gunawan, M.Si)
NIDN. 0003056711

Pembimbing II



(Andilala, S.Kep., Ners., M.K.M)
NIDN. 0129017901

Penguji



(Dr. apt. Hj. Cut Fatimah, M. Si.)
NIDK. 9990275012

DI UJI PADA TANGGAL :

YUDISIUM :

Panitia Ujian

Ketua



(Andilala, S. Kep., Ners., M. K.M.)
NIDN. 0129017901

Sekretaris



(Dr. apt. Hj. Cut Fatimah, M.Si.)
NIDK. 9990275012

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dina Aulia Rahmi
NIM : 1905024
Program Studi : Sarjana Farmasi
Jenjang Pendidikan : Strata Satu (S-1)
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Salep Ekstrak Daun Sembung Rambat
(*Mikania micrantha* Kunth) Terhadap Penyembuhan
Luka Buatan Kulit Tikus Diabetes Induksian
Streptozotosin.

Menyatakan bahwa skripsi yang saya buat ini adalah untuk memenuhi persyaratan kekelulusan di program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Indah Medan. Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, bukan duplikasi dari karya orang lain yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan yang lain atau yang pernah dimuat di suatu publikasi ilmiah, kecuali dalam bentuk kutipan yang telah disebutkan sumbernya dalam pustaka.

Selanjutnya apabila di kemudian hari ada pengaduan dari pihak lain, bukan menjadi tanggung jawab Dosen pembimbing, Penguji dan/atau pihak Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Indah Medan, tetapi menjadi tanggung jawab sendiri. Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya dan tanpa paksaan dari siapapun.

Medan, 17 Desember 2024

Yang menyatakan



Dina Aulia Rahmi

UJI AKTIVITAS SALEP EKSTRAK DAUN SEMBUNG RAMBAT (*Mikania micrantha* Kunth) TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA BUATAN KULIT TIKUS DIABETES INDUKSIAN *STREPTOZOTOSIN*

DINA AULIA RAHMI
NIM : 1905024

ABSTRAK

Tumbuhan sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) termasuk ke dalam salah satu gulma yang ada di Indonesia. Secara tradisional masyarakat telah menggunakan dan telah terbukti secara empiris bahwa tumbuhan sembung rambat sebagai obat luka, misalnya luka pada penderita diabetes, maka kemungkinan besar dapat dikembangkan menjadi suatu obat alternatif penyembuhan luka. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui sediaan salep yang mengandung ekstrak etanol daun sembung rambat dapat menyembuhkan luka buatan pada kulit tikus jantan yang telah diinduksi diabetes dengan *streptozotosin*.

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental memakai bahan uji daun sembung rambat dibuat menjadi simplisia, lalu diekstraksi secara perkolasi menggunakan pelarut etanol 80% dan diuji skrining fitokimia, pembuatan sediaan salep dari ekstrak dengan berbagai konsentrasi, diuji mutu fisik sediaan meliputi uji homogenitas, stabilitas, pH, iritasi, kesukaan. Kemudian diuji penyembuhan luka buatan pada tikus jantan diabetes yang diinduksikan dengan *streptozotosin*.

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa daun sembung rambat, simplisia, dan ekstrak etanolnya mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan glikosida. Sediaan salep ekstrak etanol daun sembung rambat konsentrasi 2,5%, 5%, 7,5%, homogen, stabil sampai minggu ke-4, pH sekitar 6,16, tidak terjadi iritasi pada kulit sukarelawan. Mempunyai efektivitas penyembuhan luka buatan pada tikus diabetes yang diinduksikan dengan *streptozotosin*. Pada hari ke-19 persentase kesembuhan luka tidak berbeda nyata antara pemberian salep EEDSr 7,5% dan gentamisin, hari ke-21 tidak berbeda nyata antara pemberian EEDSr 5%, EEDSr 7,5%, dan gentamisin. Maka disimpulkan pemberian EEDSr 5% memberikan hasil yang paling baik, karena pada hari ke 21 tidak berbeda nyata dengan 7,5% dan gentamisin.

Kata kunci: diabetes, salep hidrofil, sembung rambat, *streptozotosin*, tikus putih.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Salep Ekstrak Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth) Terhadap Penyembuhan Luka Buatan Kulit Tikus Diabetes Induksian *Streptozotosin*”.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat kelulusan pada Program Studi Sarjana Farmasi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Indah Medan. Diharapkan skripsi ini dapat menambah pengetahuan penulis dan bagi semua orang yang membaca tulisan ini.

Penulis menyadari tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak sangat tidak mungkin penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini. Untuk itu dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada kedua orang tua penulis, Ayahanda Hasanuddin (Alm.) dan Ibunda Rohana Lubis (Almh.) beserta saudara sekandung penulis yaitu abang Bakti, Doli dan kakak Ardianti serta kakak ipar Lina (Almh.) dan kak Winda, serta keponakan tersayang Alfi, Aqila, Afifah, Arhan, Akhtar, Aurora, dan Alifa yang tiada henti-hentinya mendoakan dan memberikan semangat, kasih sayang serta dukungan baik dari segi materi maupun non-materi, serta atas kesabarannya yang luar biasa dalam setiap langkah hidup penulis. Penulis berharap dapat menjadi anak yang dibanggakan.

Pada kesempatan ini penulis juga mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak H. Abdul Haris Syarif Hasibuan, SE., selaku Pembina Yayasan Indah Medan dan bapak dr. Riski Ramadhan Hasibuan, SH., SE., MKM., selaku Ketua Yayasan Indah Medan yang telah memberikan fasilitas kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan pendidikan di Program studi Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Indah Medan
2. Bapak Andilala, S.Kep., Ners., M.K.M., selaku Ketua STIKes Indah Medan dan sekaligus pembimbing II yang telah banyak membimbing dan memberikan masukan kepada penulis.
3. Ibu Dr. apt. Hj. Cut Fatimah, M.Si., selaku Ketua Progam studi S1 Farmasi STIKes Indah Medan, yang telah banyak memberikan masukan serta bimbingan sehingga penelitian ini berlangsung dengan sangat baik.
4. Bapak apt. Drs. M. Gunawan, M.Si., selaku pembimbing I yang telah banyak membimbing dan memberikan masukan kepada penulis sehingga belansung dengan sangat baik.
5. Bapak/ibu Dosen serta Staf pegawai di Prodi S1 Farmasi STIKes Indah Medan yang telah mendidik dan membantu penulis sampai sekarang ini.
6. Terima kasih juga kepada semua sahabat penulis terutama teman seperjuangan yaitu Alicya, Alfrit, Bella, Secil dan yang terkasih Lee Donghyuck serta seluruh teman seangkatan tanpa menyebutkan satu per satu.
7. Terima kasih juga kepada pihak RSIA MAHARANI yang ikut mendukung keberhasilan dari skripsi ini, yaitu Pak bagus, kak Dina, kak Marta, kak Ainun dan kak Ayu.

8. Terima kasih juga kepada pihak-pihak yang lain yang banyak memberikan saran dan masukan yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Penulis mendo'akan semoga kebaikan yang diberikan oleh pihak yang disebutkan di atas mendapat balasan dari Allah SWT. Diberikan umur panjang dan kesehatan selalu. Semoga seluruh bimbingan dan bantuan yang telah diberikan kepada penulis dapat menjadi amal ibadah mendapat pahala dari Allah SWT. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu dengan segala kerendahan hati, penulis menerima kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan skripsi.

Diharapkan semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat untuk kita semua demi pengembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang Farmasi.

Medan, 17 Desember 2024

Dina Aulia Rahmi

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL	
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI.....	i
SURAT PERNYATAAN	ii
ABSTRAK.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Hipotesis Penelitian	4
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	5
1.6 Kerangka Pikir Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Uraian Tentang Tumbuhan Sembung Rambut	7
2.1.1 Morfologi tumbuhan sembung rambut	8
2.1.2 Kandungan kimia sembung rambut	8
2.1.3 Sistematika tumbuhan sembung rambut	9
2.2 Simplisia	9
2.2.1 Proses pembuatan simplisia	10
2.2.2 Persyaratan simplisia	11
2.3 Senyawa Metabolit Sekunder	12
2.3.1 Alkaloid	13
2.3.2 Flavonoid	14
2.3.3 Triterpenoid/Steroid.....	16
2.3.4 Tanin	17
2.3.5 Glikosida.....	19

2.3.6 Saponin	20
2.4 Ekstraksi	22
2.5 Uraian Tentang Luka	23
2.5.1 Penyebab terjadinya luka	24
2.5.2 Mekanisme penyembuhan luka	24
2.5.3 Jenis-jenis luka.....	25
2.6 Uraian Diabetes.....	27
2.7 <i>Streptozotosin</i> (STZ).....	28
2.8 Uraian Tentang Salep	29
2.8.1 Penggolongan salep	31
2.9 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	32
BAB III METODE PENELITIAN	33
3.1 Rancangan Penelitian.....	33
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	33
3.3 Alat dan Bahan Penelitian.....	33
3.2.1 Alat penelitian.....	33
3.3.2 Bahan penelitian	34
3.4 Hewan Percobaan.....	34
3.5 Pembuatan Pereaksi	34
3.5.1 Asam klorida 2 N	34
3.5.2 Asam sulfat 2 N	34
3.5.3 Asam nitrat 0,5 N.....	35
3.5.4 Besi (III) klorida 1% b/v	35
3.5.5 Timbal (II) asetat 0,4 M.....	35
3.5.6 Pereaksi Mayer	35
3.5.7 Pereaksi Molish	35
3.5.8 Pereaksi Bauchardat.....	35
3.5.9 Pereaksi Dragendorff.....	35
3.6 Pengolahan Sampel Daun Sembung Rambut.....	36
3.6.1 Identifikasi tumbuhan sembung rambut.....	36
3.6.2 Pembuatan simplisia sembung rambut.....	36
3.6.3 Penetapan kadar air simplisia daun sembung rambut	37

3.7 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sembung Rambat.....	38
3.8 Skrining Fitokimia	39
3.8.1 Pemeriksaan alkaloida	39
3.8.2 Pemeriksaan flavonoid.....	40
3.8.3 Pemeriksaan glikosida	40
3.8.4 Pemeriksaan tanin	41
3.8.5 Pemeriksaan saponin.....	42
3.8.6 Pemeriksaan steroida/triterpenoida.....	42
3.9 Pembuatan Sediaan Salep	42
3.9.1 Pembuatan dasar salep hidrofil	42
3.9.2 Cara pembuatan dasar salep hidrofil.....	43
3.9.3 Pembuatan sediaan salep ekstrak daun sembung rambat.....	43
3.9.4 Cara pembuatan sediaan salep	43
3.9.5 Uji fisik sediaan salep yang dibuat	44
3.9.5.1 Uji homogenitas sediaan.....	44
3.9.5.2 Uji stabilitas sediaan	44
3.9.5.3 Uji nilai pH sediaan	44
3.9.5.4 Uji iritasi sediaan pada kulit sukarelawan	45
3.10 Uji Efektivitas Penyembuhan Luka	45
3.10.1 Cara perhitungan buffer sitrat	45
3.10.2 Cara perhitungan <i>streptozotosin</i>	45
3.10.3 Induksi diabetes hewan uji.....	46
3.10.4 Orientasi perhitungan kadar gula darah (diabetes)	46
3.10.5 Pengukuran penyembuhan luka pada hewan uji.....	47
3.11 Perhitungan Persentase Penyembuhan.....	48
3.12 Perhitungan Statistik terhadap hasil yang diperoleh.....	49
3.12.1 Menghitung simpangan baku (standar deviasi)	49
3.12.2 Uji ANAVA dan BNT	50
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	52
4.1 Identifikasi/Determinasi Tumbuhan	52
4.2 Hasil Pemeriksaan Kadar Air Simplisia	52
4.3 Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sembung Rambat	52

4.4 Hasil Skrining Fitokimia.....	53
4.5 Hasil Uji Evaluasi Sediaan Salep.....	54
4.5.1 Hasil uji homogenitas	54
4.5.2 Hasil uji pH.....	55
4.5.3 Hasil pengamatan stabilitas sediaan	56
4.5.4 Hasil uji iritasi.....	56
4.6 Hasil Uji Efektivitas Penyembuhan Luka Buatan	57
4.7 Hasil Uji ANAVA dan BNT.....	62
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	66
5.1 Kesimpulan	66
5.2 Saran.....	66
DAFTAR PUSTAKA	67

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1.1 Kerangka pikir penelitian	6
Gambar 2.1 Tumbuhan sembung rambut	7
Gambar 2.2 Daun sembung rambut	8
Gambar 2.3 Contoh struktur alkaloid nonheterosiklik	14
Gambar 2.4 Contoh struktur alkaloid heterosiklik	14
Gambar 2.5 Struktur inti flavonoid.....	15
Gambar 2.6 Struktur inti isoflavon	15
Gambar 2.7 Struktur satu unit isopren.....	16
Gambar 2.8 Struktur dasar triterpen	16
Gambar 2.9 Struktur dasar steroid	16
Gambar 2.10 Contoh struktur tanin	18
Gambar 2.11 Contoh struktur glikosida	20
Gambar 2.12 Contoh struktur saponin.....	21
Gambar 2.13 <i>Streptozotosin</i> (STZ).....	28
Gambar 2.14 Tikus putih.....	32
Gambar 4.1 Grafik penurunan diameter luka.....	59
Gambar 4.2 Grafik persentase penyembuhan luka.....	60

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Penggolongan tanin	17
Tabel 3.1 Formulasi sediaan salep daun sembung rambat	43
Tabel 3.2 Data rata-rata kadar gula darah tikus sebelum diinduksi	46
Tabel 3.3 Data rata-rata kadar gula darah tikus setelah diinduksi.....	47
Tabel 4.1 Hasil skrining fitokimia.....	53
Tabel 4.2 Hasil uji homogenitas sediaan salep.....	55
Tabel 4.3 Hasil pengukuran pH sediaan salep	55
Tabel 4.4 Hasil pengamatan terhadap kestabilan sediaan	56
Tabel 4.5 Hasil pengamatan uji iritasi terhadap kulit sukarelawan.....	57
Tabel 4.6 Hasil pengukuran diameter luka hewan percobaan.....	58
Tabel 4.7 Hasil persen kesembuhan luka hewan percobaan	59
Tabel 4.8 Hasil uji analisa variansi (ANAVA)	62
Tabel 4.9 Hasil perhitungan uji (BNT)	63

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi sampel daun sembung rambat.....	70
Lampiran 2. Hasil surat etik pada tikus (<i>Rattus norvegicus</i>).....	71
Lampiran 3. Tumbuhan segar, simplisia dan ekstrak sembung rambat.....	72
Lampiran 4. Bagan alir pembuatan simplisia dan ekstrak etanol	73
Lampiran 5. Bagan alir penetapan kadar air dari daun sembung rambat	74
Lampiran 6. Perhitungan penetapan kadar air	75
Lampiran 7. Bagan alir pembuatan salep	76
Lampiran 8. Bagan alir pembuatan luka pada tikus	77
Lampiran 9. Hasil skrining fitokimia daun sembung rambat	78
Lampiran 10. Gambar sediaan salep ekstrak etanol daun sembung rambat.....	80
Lampiran 11. Gambar uji iritasi pada sukarelawan	81
Lampiran 12. Gambar penimbangan berat badan tikus percobaan.....	82
Lampiran 13. Perhitungan dosis <i>streptozotosin</i> pada tikus	83
Lampiran 14. Pengecekan kadar gula darah sebelum dan sesudah diinduksi .	87
Lampiran 15. Gambar perkembangan luka dengan dasar salep	88
Lampiran 16. Gambar perkembangan luka dengan salep EEDSr 2,5%.....	89
Lampiran 17. Gambar perkembangan luka dengan salep EEDSr 5%.....	90
Lampiran 18. Gambar perkembangan luka dengan salep EEDSr 7,5%.....	91
Lampiran 19. Gambar perkembangan luka dengan salep gentamisin 1%.....	92
Lampiran 20. Data diameter luka dan persentase kesembuhan luka.....	93
Lampiran 21. Rekapitulasi hasil penurunan diameter luka	100
Lampiran 22. Rekapitulasi hasil perhitungan persentase kesembuhan luka....	101
Lampiran 23. Contoh perhitungan statistik persentase dari salep EEDSr 5% hari ke-4	102
Lampiran 24. Contoh perhitungan persen kesembuhan luka dari salep EEDSr 5% hari ke-4	104
Lampiran 25. Uji ANAVA dan BNT kesembuhan luka buatan pada hari ke-2	106
Lampiran 26. Uji ANAVA dan BNT kesembuhan luka buatan pada hari ke-3	108

Lampiran 27. Uji ANAVA dan BNT kesembuhan luka buatan pada hari ke-17	111
Lampiran 28. Uji ANAVA dan BNT kesembuhan luka buatan pada hari ke-18	114
Lampiran 29. Uji ANAVA dan BNT kesembuhan luka buatan pada hari ke-19	117
Lampiran 30. Uji ANAVA dan BNT kesembuhan luka buatan pada hari ke-21	120

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pengobatan secara tradisional dengan pemanfaatan bahan obat alami dari tumbuh-tumbuhan sudah digunakan secara turun temurun, memiliki khasiat dan kelebihan tersendiri, yaitu relatif lebih aman dan harganya lebih murah dibandingkan dengan obat-obat yang berasal dari bahan kimia sintetis (Kabumainin, 2008). Di samping itu, tumbuhan obat merupakan potensi kekayaan yang perlu dilindungi karena dapat dimanfaatkan sebagai pendukung dari perekonomian rakyat Indonesia (Dalimartha, 2013).

Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi besar sebagai bahan obat antibakteri alternatif, yang telah dikenal dan digunakan oleh masyarakat adalah tumbuhan sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) dari familia Asteraceae. Secara tradisional masyarakat telah menggunakan dan telah terbukti secara empiris tumbuhan sembung rambat sebagai obat luka, maka kemungkinan besar dapat dikembangkan menjadi suatu obat alternatif penyembuhan luka, misalnya luka terinfeksi atau luka pada penderita diabetes.

Namun masih banyak juga masyarakat yang belum memanfaatkannya karena letaknya di sekitar area perkebunan karet dan kelapa sawit yang dianggap hanya tumbuhan gulma tanpa khasiat, dan khasiatnya belum terbukti secara ilmiah. Berdasarkan hasil penelitian fitokimia ekstrak daun sembung rambat mengandung zat aktif dalam bentuk metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, flavonoid, steroid, tannin, dan terpenoid (Narian, *et al.*, 2013).

Luka adalah suatu kerusakan kontinuitas kulit, mukosa membran dan tulang atau organ tubuh lain, gangguan dari kondisi normal pada kulit (Taylor

1997). Menurut pengalaman masyarakat di daerah Bandar Durian Kabupaten Labuhan Batu Utara, daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) dapat digunakan sebagai obat luka dengan cara daun segar atau daun yang baru diambil dihaluskan kemudian ditetaskan dan ditempelkan pada bagaian luka.

Luka pada kulit sering juga disebabkan adanya diabetes dan penyembuhan luka lebih sulit disebabkan adanya diabetes. Diabetes mellitus merupakan penyakit metabolik ditandai dengan meningkatnya glukosa akibat kekurangan atau penurunan efektifitas insulin di dalam darah. Insulin merupakan hormon peptida yang disekresikan oleh sel β pankreas. Hormon ini berfungsi dalam mengatur kadar normal glukosa darah. Kelainan sekresi atau kerja insulin dapat menyebabkan gangguan dalam metabolisme karbohidrat, lemak atau protein. Resistensi insulin sering dikaitkan dengan sensitivitas jaringan terhadap insulin. Hal ini dikarenakan insulin tidak mampu untuk merangsang penyerapan glukosa dalam jaringan target insulin, seperti otot dan lemak (Prabawati, 2014).

Penggunaan daun sembung rambat secara langsung pada kulit atau luka kurang disenangi oleh masyarakat, maka perlu diformulasikan ke dalam suatu sediaan, misalnya diformulasikan dalam bentuk salep, banyak disukai masyarakat karena mudah dan nyaman dalam penggunaan. Formulasi sediaan salep dibutuhkan basis salep yang merupakan bahan pembawa yang bersifat inaktif, berbentuk setengah padat, yang membawa bahan aktif untuk berkontak dengan kulit. Maka untuk pengobatan pada kulit dipilih basis sediaan salep yang hidrofil agar mudah dalam pencucian dengan air dan tidak terlalu cepat terserap ke dalam kulit sehingga masa kontak bahan obat dengan luka yang diobati dapat bertahan lebih lama untuk penyembuhan luka (Fatimah, 2004).

Formulasi bahan alam langsung ke dalam suatu sediaan memerlukan volume atau konsentrasi yang besar untuk mendapatkan khasiat yang efektif. Untuk itu, perlu dilakukan upaya pengecilan volume, salah satunya dengan cara dibuat menjadi ekstrak.

Berdasarkan uraian di atas peneliti membuat ekstrak etanol daun sembung rambat, melakukan skrining fitokimia terhadap daun sembung rambat segar, simplisia dan ekstrak etanolnya. Selanjutnya memformulasikan ekstrak etanol daun sembung rambat ke dalam sediaan salep hidrofil dengan berbagai konsentrasi, uji mutu fisik sediaan, dan pengujian terhadap penyembuhan luka buatan pada kulit tikus jantan yang telah diinduksi diabetes dengan *streptozotosin*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang perumusan masalah pada penelitian ini adalah:

- a. Apakah daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) segar, simplisia, dan ekstrak etanolnya mengandung senyawa kimia metabolit sekunder, golongan alkaloid, flavonoid, steroid/triterpenoid, tanin, saponin, dan glikosida?
- b. Apakah ekstrak etanol daun sembung rambat dapat diformulasikan ke dalam sediaan salep hidrofil bermutu fisik yang baik dan tidak mengiritasi kulit?
- c. Apakah sediaan salep hidrofil yang mengandung ekstrak etanol daun sembung rambat dapat menyembuhkan luka buatan pada kulit tikus jantan yang telah diinduksi diabetes dengan *streptozotosin*?
- d. Berapakah konsentrasi ekstrak etanol daun sembung rambat di dalam salep hidrofil yang memberikan efektivitas terbaik pada penyembuhan luka buatan pada kulit tikus jantan yang telah diinduksi diabetes dengan *streptozotosin*?

1.3 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan permasalahan di atas, maka hipotesis pada penelitian ini adalah:

- a. Daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) segar, simplisia, dan ekstrak etanolnya mengandung senyawa kimia metabolit sekunder, golongan alkaloid, flavonoid, steroid/triterpenoid, tanin, saponin, dan glikosida
- b. Ekstrak etanol daun sembung rambat dapat diformulasikan ke dalam sediaan salep hidrofil bermutu fisik yang baik dan tidak mengiritasi kulit.
- c. Sediaan salep hidrofil yang mengandung ekstrak etanol daun sembung rambat dapat menyembuhkan luka buatan pada kulit tikus jantan yang telah diinduksi diabetes dengan *streptozotosin*.
- d. Salap hidrofil yang mengandung ekstrak etanol daun sembung rambat dalam konsentrasi tertentu memberikan efektivitas terbaik pada penyembuhan luka buatan pada kulit tikus jantan yang diinduksi diabetes dengan *streptozotosin*.

1.4 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

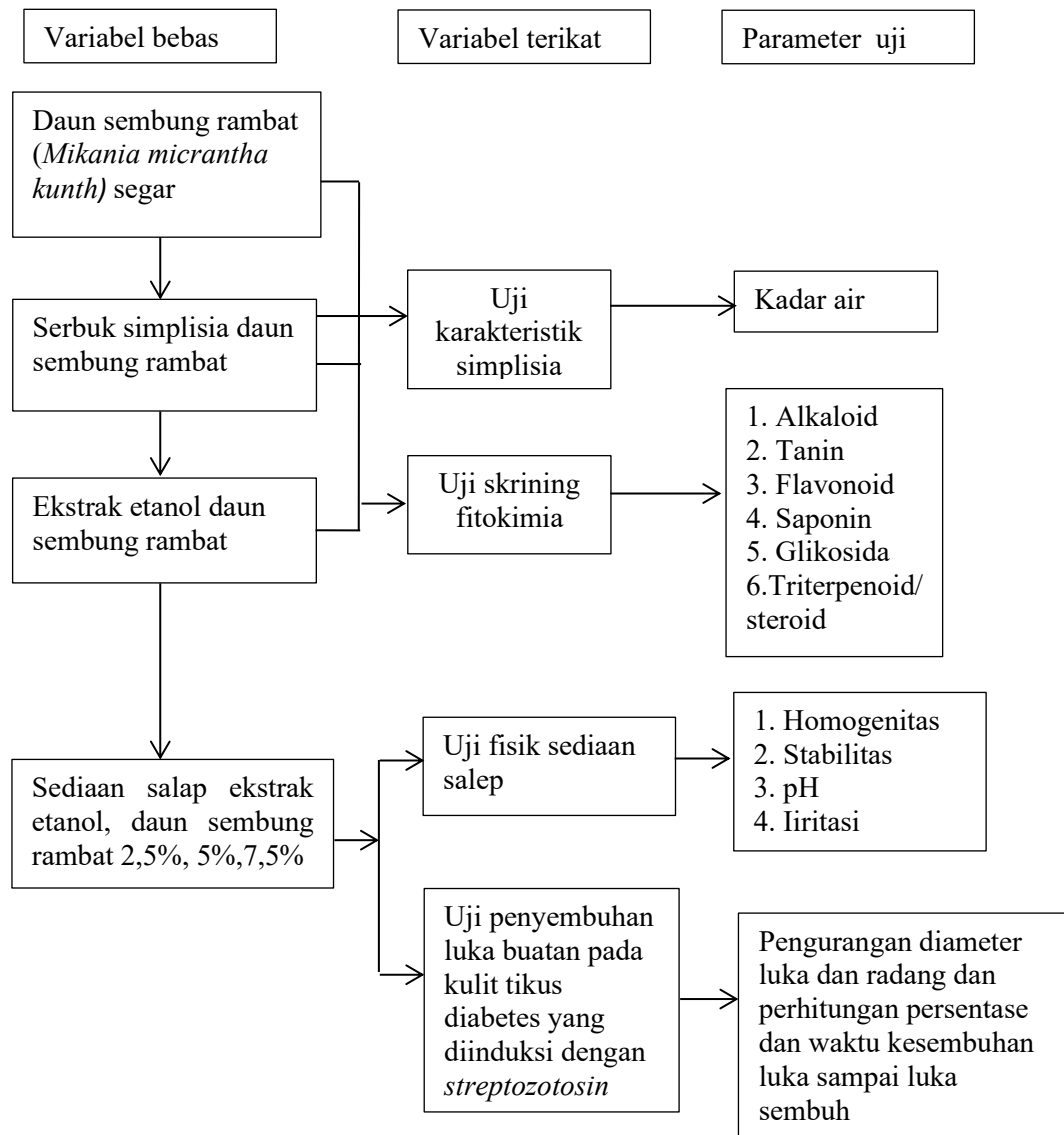
- a. Untuk mengetahui daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) segar, simplisia, dan ekstrak etanolnya mengandung senyawa kimia metabolit sekunder, yaitu golongan alkaloid, flavonoid, steroid/triterpenoid, tanin, saponin, dan glikosida.
- b. Untuk mengetahui ekstrak etanol daun sembung rambat dapat diformulasikan ke dalam sediaan salep hidrofil bermutu fisik baik dan tidak mengiritasi kulit.
- c. Untuk mengetahui sediaan salep hidrofil yang mengandung ekstrak etanol daun sembung rambat dapat menyembuhkan luka buatan pada kulit tikus jantan yang telah diinduksi diabetes dengan *streptozotosin*.

- d. Untuk mengetahui salap hidrofil yang mengandung ekstrak etanol daun sembung rambat dalam konsentrasi tertentu memberikan efektivitas terbaik pada penyembuhan luka buatan pada kulit tikus jantan yang telah diinduksi diabetes dengan *streptozotosin*.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah yang akurat di bidang ilmu kefarmasian terutama tentang bahan penyembuhan luka alternatif dari bahan alam daun sembung rambat, dan bila terbukti sediaan salep yang mengandung ekstrak etanol daun sembung rambat dapat mengobati luka pada hewan diabetes, sehingga menambah inventaris obat luka yang mudah didapat dan dapat dikembangkan menjadi sediaan farmasi yang lebih baik dan bernilai ekonomis untuk pengobatan luka.

1.6 Kerangka Pikir Penelitian



Gambar 1.1 Kerangka pikir penelitian

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Uraian Tumbuhan Sembung Rambat

Tumbuhan sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) termasuk ke dalam salah satu gulma yang ada di Indonesia. Masyarakat mengenal dan memanfaatkan tumbuhan sembung rambat biasa digunakan daun untuk luka, sakit perut, borok, gatal-gatal, kudis dan penyakit kulit lainnya. Masyarakat Jambi biasa menggunakan tumbuhan sembung rambat sebagai pakan ternak sapi. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolasi metabolit sekunder dari batang sembung rambat yang mempunyai aktivitas antibakteri.



Gambar 2.1 Tumbuhan sembung rambat

Tumbuhan sembung rambat adalah salah satu tanaman dari keluarga *Compositae*, dikenal sebagai *heartleaf hempvine*, tumbuh merambat di permukaan tanah atau pohon. Tanaman ini dapat ditemukan di seluruh daerah tropis, wilayah Asia, Afrika dan Amerika Selatan. Tanaman ini memiliki beberapa khasiat seperti antiulcer, analgesik anti inflamasi, antikanker, antistress. Data skrining penelitian daun sembung rambat menunjukkan senyawa flavonoid, glikosida, terpenoid/steroid, saponin, tanin dan vitamin C (Harnis, 2018).

2.1.1 Morfologi tumbuhan sembung rambat

Sembung rambat merupakan tumbuhan melilit dan bercabang yang kuat dan tumbuh menyebar dengan cepat. Daun berseling dan berbentuk hati dengan ujung yang runcing, panjang daun berkisar antara 1-2 cm dan lebarnya 0,5-2 cm, warna daun hijau atau kuning hijau pucat (Sellers, 2013). Berbunga dimulai pada bulan agustus dan berlanjut hingga januari. Bunga berwarna putih pada awalnya dan lama-kelamaan berubah menjadi coklat kemerahan (Sankaran, 2013). Beberapa nama lain dari tumbuhan ini yaitu sembung rambat (Indonesia), blukar (Sumatra), brojo lego (Jawa), hila hitu lama (Ambon), akar bulou (Kalimantan), caputuheun (Sunda), siroppaspara, *american rope* (Amerika), *chinese creeper* (Cina), *dhritharashtra pacha* (India), ulam tikus (Malaysia), siroppasparah (Tapanuli Selatan).



Gambar 2.2 Daun sembung rambat

2.1.2 Kandungan kimia tumbuhan sembung rambat

Berdasarkan hasil skrining fitokimia, sembung rambat mengandung senyawa kimia alkaloid, flavonoid, tanin, glikosida dan steroid/triterpenoid. Zat aktif yang dikandung daun sembung rambat yang berperan sebagai antibakteri adalah flavonoid dan tanin (Cowan, 1999).

Senyawa flavonoid dan tanin merupakan golongan senyawa fenol yang diketahui memiliki aktivitas antimikroba yang bersifat bakterisidal namun tidak bersifat sporisidal. Mekanisme senyawa fenol sebagai antibakteri dengan cara mendenaturasi protein dan merusak lipid pada membran plasma mikroorganisme, sehingga menyebabkan isi sel keluar (Pratiwi, 2008).

2.1.3 Sistematika tumbuhan sembung rambat

Menurut *Herbarium Medanense (MEDA)*, Departemen Biologi FMIPA Universitas Sumatera Utara sistematika tumbuhan sembung rambat adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Ordo	: <i>Asterales</i>
Famili	: <i>Asteraceae</i>
Genus	: <i>Mikania</i>
Spesies	: <i>Mikania micrantha</i> Kunth
Nama Lokal	: Sembung rambat

2.2 Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat tradisional yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain merupakan bahan yang dikeringkan.

Terdapat 3 jenis simplisia yaitu:

- a. Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan antara ketiganya. Contohnya: bunga cengkeh, lada hitam, daun sereh, dan kulit kayu manis.

- b. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni. Contohnya: minyak ikan, madu, dan lemak bulu domba.
- c. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni. Contohnya: serbuk seng, serbuk tembaga, dan kaolin (Gunawan dan Mulyani, 2004).

2.2.1 Proses pembuatan simplisia

1. Pengumpulan bahan baku

Tahapan pengumpulan bahan baku sangat menentukan kualitas bahan baku. Faktor yang paling berperan dalam tahapan ini adalah masa panen. Panen daun atau herba dilakukan pada saat proses fotosintesis berlangsung maksimal, yaitu ditandai dengan saat-saat tanaman mulai berbunga atau buah mulai masak.

2. Sortasi basah

Sortasi basah adalah pemilahan hasil panen ketika tanaman masih segar. Sortasi dilakukan terhadap tanah dan krikil, rumput-rumputan, bahan tanaman lain atau bagian lain dari tanaman yang tidak digunakan dan bagian tanaman yang rusak dimakan ulat dan sebagainya.

3. Pencucian

Pencucian simplisia dilakukan untuk membersihkan kotoran yang melekat, terutama bahan-bahan yang berasal dari dalam tanah dan juga bahan-bahan yang tercemar pestisida.

4. Pengubahan bentuk

Pada dasarnya tujuan pengubahan bentuk bahan tumbuhan adalah untuk memperluas permukaan bahan baku. Semakin luas permukaan maka bahan baku

akan semakin cepat kering. Proses pengubahan bentuk untuk rimpang, daun dan herba adalah perajangan.

5. Pengeringan

Proses pengeringan bahan tumbuhan terutama bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri serta memudahkan dalam hal pengolahan proses selanjutnya (ringkas, mudah disimpan, tahan lama dan sebagainya). Pengeringan dapat dilakukan lewat sinar matahari langsung maupun tidak langsung juga dapat dilakukan dalam oven dengan suhu maksimum 60°C.

6. Sortasi kering

Sortasi kering adalah pemilihan bahan setelah mengalami proses pengeringan. Pemilihan dilakukan terhadap bahan-bahan yang terlalu gosong, bahan yang rusak akibat terlindas roda kendaraan misalnya dikeringkan di tepi jalan raya, atau dibersihkan dari kotoran hewan.

7. Pengepakan dan penyimpanan

Setelah tahap pengeringan dan sortasi kering selesai maka simplisia perlu ditempatkan dalam suatu wadah tersendiri agar tidak saling bercampur antara simplisia satu dengan yang lainnya (Soegihardjo, 2013).

2.2.2 Persyaratan simplisia

Simplisia nabati dan hewani harus bebas dari serangga, fragmen hewan atau kotoran hewan, tidak boleh menyimpang bau dan warnanya, tidak boleh mengandung lendir dan cendawan atau menunjukkan tanda-tanda pengotoran lain, tidak boleh mengandung bahan lain yang beracun atau berbahaya. Simplisia

pelikan harus bebas dari pengotoran oleh tanah, batu, hewan, dan bahan asing lainnya.

2.3 Senyawa Metabolit Sekunder

Salah satu kandungan yang jumlahnya sangat melimpah pada tanaman adalah senyawa metabolit sekunder. Senyawa ini sebenarnya tidak terlibat secara langsung dalam pertumbuhan dan perkembangan dari suatu organisme dan berperan penting dalam perlindungan diri. Selain itu, senyawa metabolit sekunder ini sangat mempengaruhi hubungan organisme dengan lingkungan sekitarnya misalnya dalam melindungi diri dari gangguan hama yang dapat mengganggu kelangsungan hidupnya (Ilyas, 2013).

Senyawa metabolit sekunder diproduksi secara terbatas oleh tanaman, karena bersifat tidak esensial maka senyawa ini hanya diproduksi pada waktu tertentu saja yang berguna sebagai pertahanan hidup tumbuhan dari lingkungan sekitarnya. Adapun beberapa penggolongan senyawa ini yaitu alkaloid, flavonoid, terpenoid dan poliketida (Raharjo, 2013).

Senyawa metabolit sekunder juga sering diperkirakan sebagai hasil samping dari senyawa metabolit primer karena beberapa struktur senyawanya memiliki kesamaan dengan beberapa senyawa metabolit primer. Terdapat pula pendapat bahwa senyawa ini disintesis karena adanya penyimpangan pada metabolisme metabolit primer (Raharjo, 2013).

Apabila senyawa metabolit sekunder tidak terkandung dalam suatu tanaman, maka tidak akan memberikan efek kematian tanaman secara langsung, namun menyebabkan terjadinya penurunan kemampuan tanaman dalam sistem pertahanan tubuh. Meskipun hanya diproduksi dalam jumlah sedikit, namun

senyawa ini memiliki fungsi sangat dibutuhkan oleh tanaman (Ilyas, 2013). Menurut *The Chapman and Hall/CRC Dictionary of Natural Products* (DNP) terdapat 170.000 senyawa bahan alam yang sudah dikarakterisasi dengan lebih dari 34.000 diantaranya berasal dari organisme laut. Menurut golongan senyawa, golongan terpenoid dan steroid telah dilaporkan lebih dari 35.000 senyawa, golongan alkaloid lebih dari 21.000 senyawa telah dikarakterisasi (Raharjo, 2013). Adapun jenis-jenis senyawa metabolit sekunder adalah sebagai berikut:

2.3.1 Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa bersifat basa, turunan dari asam amino, mengandung unsur Nitrogen yang umumnya terletak pada rantai heterosiklis. Sifat basa ini membuat alkaloid lebih mudah terdekomposisi terutama oleh panas dan sinar dengan adanya oksigen. Setelah diisolasi, alkaloid berbentuk padatan berupa kristal yang tidak larut dalam air, tetapi ada juga berbentuk amorf seperti nikotin dan ada pula yang berupa cairan seperti konini (Mukhriani, 2014).

Alkaloid di dalam tanaman biasanya terdapat pada bagian akar, kulit, buah bahkan pada getah. Fungsi dari alkaloid bagi tanaman sebagai racun untuk melindungi diri dari serangga dan binatang, sebagai faktor pertumbuhan tanaman dan sebagai cadangan makanan bagi tumbuhan itu sendiri (Mukhriani, 2014).

Alkaloid umumnya tidak berwarna dan kebanyakan bersifat optis aktif dan berbentuk kristal, namun ada juga berbentuk cairan pada suhu kamar, misalnya nikotin.. Alkaloid juga berfungsi dalam bidang farmakologi diantaranya sebagai analgetik (penghilang rasa sakit), mengatur kerja jantung, berperan dalam sistem peredaran darah dan sistem pernafasan dan antimalaria (Arifuddin, 2013).

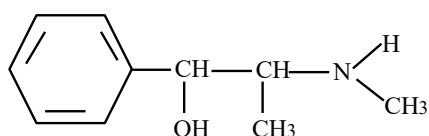
Alkaloid dapat dibedakan atas beberapa golongan yaitu:

A. Berdasarkan asal biosintesisnya

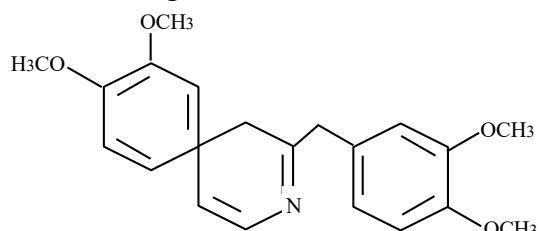
1. Golongan true alkaloida (alkaloida sesungguhnya), yaitu alkaloida yang dibiosintesis dari asam amino. Contohnya atropin, morfin, papaverina, reserpin dan quinin.
2. Golongan pseudo alkaloida, yaitu alkaloida yang dibiosintesa bukan dari asam amino. Contohnya kafeina, teobromina dan arekolina.

B. Berdasarkan letak atom nitrogen

1. Golongan non heterosiklik, disebut juga protoalkaloida, yaitu alkaloida yang atom N-nya berada pada rantai samping berupa rantai alifatis. Contohnya efedrina yang terdapat pada *Ephedra distachia*.
2. Golongan heterosiklik, yakni atom N-nya berada atau terdapat dalam cincin heterosiklik, contohnya pirolidin, piperidin, isokuinon, kuinolon dan indol (Harborne, 1987). Contoh struktur alkaloid sebagai berikut:



Gambar 2.3 Contoh struktur alkaloid nonheterosiklis



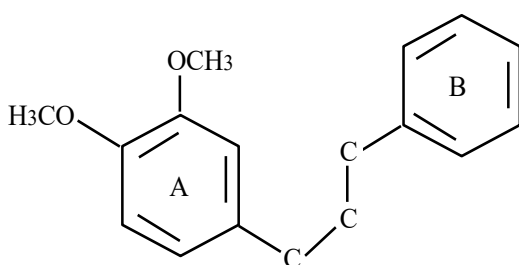
Gambar 2.4 Contoh struktur alkaloid heterosiklis inti isokuinolin

2.3.2 Flavonoid

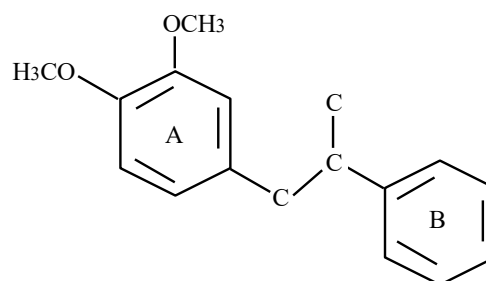
Flavonoid merupakan senyawa polivenol yang tersebar luas di alam, Struktur dasar golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆. Artinya, kerangka karbon terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzen tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon, senyawa ini terbentuk dari jalur biosintesis poliketida (Raharjo, 2013).

Flavonoid dan alkaloid merupakan senyawa yang paling banyak terdapat di dalam tumbuhan, umumnya berada tersebar pada seluruh bagian tanaman, misalnya pada akar, batang, daun, buah dan bunga. Senyawa flavonoid sangat banyak tersebar pada bagian-bagian dalam jaringan tanaman yaitu pada buah, daun, biji, akar, kulit kayu, batang dan bunga. Fungsi umum flavonoid pada tanaman yaitu pemberi zat warna bunga dan membantu proses penyerbukan. Selain itu, senyawa ini juga berperan dalam perlindungan diri dari serangan jamur maupun paparan sinar UV-B. Fungsi lain dari flavonoid dalam tanaman yaitu pemberi pigmen pada tanaman, misalnya memproduksi warna bunga merah, kuning atau biru. Selain itu, flavonoid juga melindungi struktur sel, meningkatkan produksi vitamin C. (Lumbessy, dkk., 2012).

Beberapa efektivitas dari flavonoid yang telah diteliti adalah antioksidan, antiinflamasi, antitumor, antiviral dan pengaruh pada sistem syaraf pusat. Flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar karena mengandung gugus hidroksil sehingga larut dalam pelarut polar seperti etanol, butanol, metanol, dan air. Sedangkan gugus yang kurang polar dari flavonoid cenderung lebih mudah larut dalam pelarut semi polar seperti eter dan kloroform (Ilyas, 2013). Struktur inti flavonoid dan isoflavon:



Gambar 2.5 Struktur inti flavonoid



Gambar 2.6 Struktur isoflavon

2.3.3 Triterpenoid/Steroid

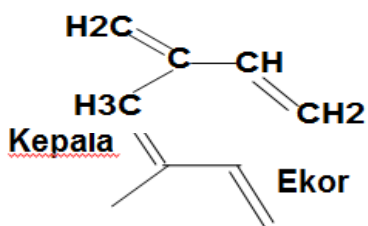
Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprene dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik, yaitu skualena. Triterpenoid merupakan senyawa tanpa warna, berbentuk kristal, sering kali mempunyai titik leleh tinggi dan aktif optik yang umumnya sukar dicirikan karena tak ada kereaktifan kimianya (Mukhriani, 2014).

Steroid salah satu dari senyawa triterpenoid memiliki kerangka dasar berupa cincin siklopentana perhidrofenantren, biasanya terdapat dalam bentuk bebas dan sebagai glikosida sederhana. Steroid banyak terdapat dalam tumbuhan tingkat tinggi maupun tumbuhan tingkat rendah. Cara untuk mendeteksi senyawa ini yaitu dengan menggunakan pereaksi Lieberman-Burchard (Harborne, 1987).

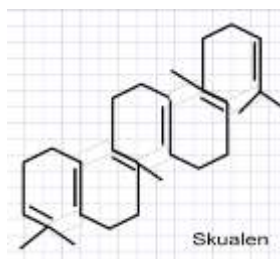
Steroid yang paling banyak di dalam bahan alam adalah sterol yaitu steroid alkohol. Membran sel tumbuhan mengandung jenis sterol terutama stigmasterol. Senyawa sterol diklasifikasikan sebagai berikut (Bhat *et al.*, 2009):

- Zoosterol, sterol yang terdapat pada hewan. Contoh 5 α -cholestan-3 β -cholestan-3 β -ol.
- Fitosterol, sterol yang terdapat pada tumbuhan. Contoh stigmasterol.
- Mycosterol, sterol yang ditemukan pada yeast dan fungi. Contoh mycosterol.
- Marine sterol, sterol yang ditemukan pada organisme laut.

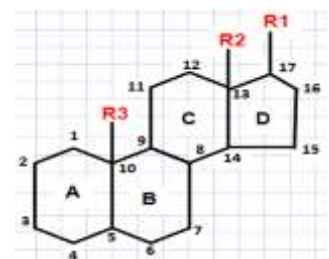
Senyawa triterpenoid dan steroid tersusun dari unit unit isopren. Struktur dasar dari Triterpenoid dan Steroid dapat dilihat sebagai berikut:



Gambar 2.7 Struktur satu unit isopren



Gambar 2.8 Struktur dasar triterpen



Gambar 2.9 Struktur dasar steroid

2.3.4 Tanin

Tanin merupakan senyawa polimer dari polifenol, terdapat luas dalam tumbuhan berpembuluh, dalam angiospermae terdapat khusus dalam jaringan kayu. Menurut batasannya, tanin dapat bereaksi dengan proteina membentuk kopolimer mantap yang tak larut dalam air. Dalam industri, tanin adalah senyawa yang berasal dari tumbuhan, mampu mengubah kulit hewan yang mentah menjadi kulit siap pakai karena kemampuannya menyambung silang proteina. Pada kenyataannya, tumbuhan yang banyak bertanin dihindari oleh hewan pemakan tumbuhan karena rasanya yang sepat. Oleh karena itu, salah satu fungsi utama tanin dalam tumbuhan ialah sebagai penolak hewan pemakan tumbuhan.

Secara kimia, terdapat dua jenis tanin yang tersebar tidak merata dalam dunia tumbuhan. Tanin-terkondensasi terdapat semesta di dalam paku-pakuan dan gymnospermae, serta tersebar luas dalam angiospermae, terutama pada jenis tumbuhan berkayu. Sebaliknya, tanin terhidrolisiskan penyebarannya terbatas pada tumbuhan berkeping dua. Tetapi kedua jenis tanin itu dijumpai bersamaan dalam tumbuhan yang sama seperti yang terjadi pada kulit dan daun ek, *Quercus*.

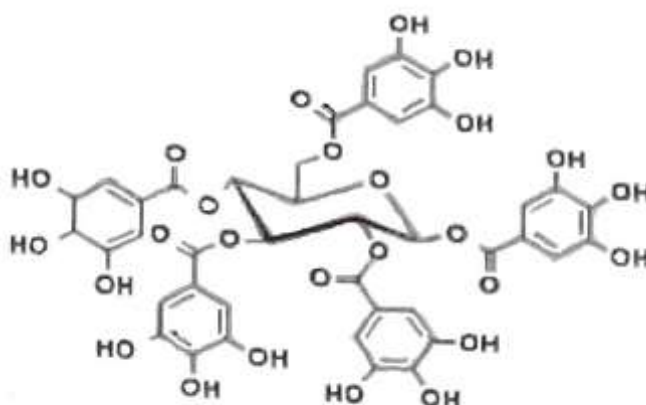
Tabel 2.1 Penggolongan tanin

Tata nama	Struktur	Jangka bobot molekul	Endapan protein
<i>Tanin-terkondensasi</i> Proantosianidin* (atau flavon)	Oligomer katekin dan flavan-3,4-diol	1000-3000	++++
<i>Tanin terhidrolisis</i> Galotanin Elagitanin	Ester asam galat dan glukosa Ester asam heksahidroksi difenat dan glukosa	1000-1500 1000-3000	+++++ +++++
<i>Prototamin</i> Prazat tanin	Katekin (dan galokatekin) flavan-3,4-diol	200-600	±

Istilah leukoantosianidin (atau leukoantosianin) dahulu dipakai secara luas untuk tanin ini, tetapi sekarang penggunaannya terbatas pada flavan-3,4-diol monomer yang tidak mempunyai kerja tanin.

Tanin terkondensasi atau flavon secara biosintesis dapat dianggap terbentuk dengan cara kondensasi katekin tunggal (atau galokatekin) yang membentuk senyawa dimer dan kemudian oligomer yang lebih tinggi. Ikatan karbon-karbon menghubungkan satu satuan flavon dengan satuan berikutnya melalui ikatan 4-8 atau 6-8. Kebanyakan flavolan mempunyai 2 sampai 20 satuan flavon. Nama lain untuk tanin-terkondensasi ialah proantosianidin karena bila direaksikan dengan asam panas, beberapa ikatan karbon-karbon penghubung satuan terputus dan dibebaskan monomer antosianidin. Kebanyakan proantosianidin adalah prosianidin, ini berarti bila direaksikan dengan asam akan menghasilkan sianidin.

Tanin terhidrolisiskan terutama terdiri atas dua kelas, yang paling sederhana ialah depsida galoilglukosa. Pada senyawa ini, inti yang berupa glukosa dikelilingi oleh lima gugus ester galoil atau lebih (Harborne, 1987). Contoh struktur dari tanin dapat dilihat sebagai berikut:



Gambar 2.10 Contoh struktur tanin

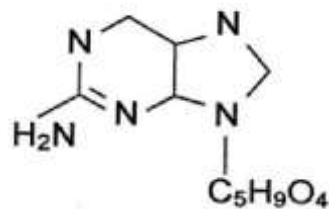
2.3.5 Glikosida

Glikosida adalah senyawa yang terdiri atas gabungan dua bagian senyawa, yaitu gula dan non gula yang terikat melalui ikatan glikosida. Keduanya digabungkan oleh suatu ikatan berupa jembatan oksigen (O-glikosida), contoh salisin dan nitrogen (N-glikosida), contoh guanosin, jembatan sulfur (S-glikosida), contoh sinigrin, jembatan karbon (C-glikosida), contohnya alonin. Bagian gula disebut glikon sedangkan bagian yang non gula disebut aglikon atau genin. Apabila glikon dan aglikon saling terikat maka senyawa ini disebut sebagai glikosida, seperti glukosida (glukosa), entosida (pentose), fruktosida (fruktosa) dan lain-lain (Robinson, 1995).

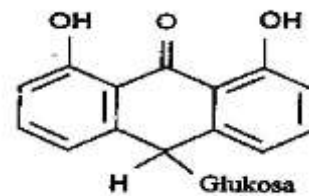
Cincin molekul gula memiliki atom C anomer hemiasetal. Ikatan glikosida hanya dapat terjadi pada atom C anomer hemiasetal ini. Penggambaran molekul gula dalam proyeksi Haworth memiliki konsekuensi stereokimia terhadap posisi –OH pada C anomer. α -anomer terbentuk bila gugus –OH berorientasi ekuatorial aksial, dan β anomer terjadi bila gugus –OH berorientasi ekuatorial. Ikatan glikosida yang terjadi antara gula dan tan gula mengikuti orientasi gugus –OH. Glikon dapat terdiri atas kelompok gula tunggal (monosakarida) atau beberapa kelompok gula (oligosakarida) (Musman, 2017).

Glikosida memegang peranan penting dalam organisme hidup. Banyak tumbuhan menyimpan bahan kimia dalam bentuk glikosida tidak aktif. Bahan ini dapat diaktifkan melalui hidrolisis dengan bantuan enzim. Pada proses tersebut, bagian gula lepas dari bagian tan gula. Dengan cara itu, bahan kimia yang telah terpisah tersebut dapat digunakan. Berdasarkan atom penghubung bagian gula (glikon) dan bukan gula (aglikon), glikosida dapat dibedakan menjadi:

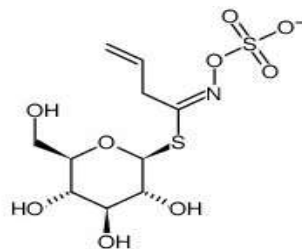
- C-glikosida, jika atom C menghubungkan bagian glikon dan aglikon, contohnya alonin.
- N-glikosida, jika atom N menghubungkan bagian glikon dan aglikon, contohnya guanosin.
- O-glikosida, jika atom O menghubungkan bagian glikon dan aglikon, contohnya salisin.
- S-glikosida, jika atom S menghubungkan bagian glikon dan aglikon, contohnya sinigrin.



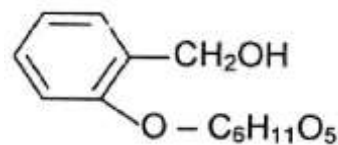
Guanosin (contoh N-glikosida)



Alonin (contoh C-glikosida)



Sinigrin (contoh S-glikosida)



Salisin (contoh O-glikosida)

Gambar 2.11 Contoh struktur glikosida

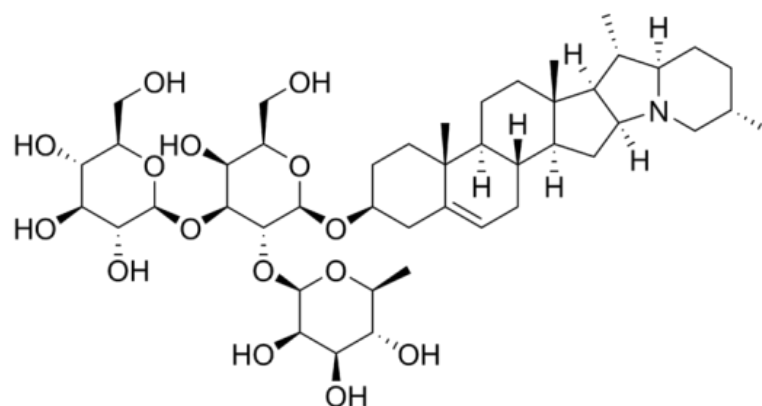
2.3.6 Saponin

Saponin merupakan glikosida yang memiliki aglikon berupa steroid atau triterpenoid. Saponin memiliki berbagai kelompok glikosil yang terikat pada posisi C₃, tetapi beberapa saponin memiliki dua rantai gula yang menempel pada posisi C₃ dan C₁₇. Struktur saponin tersebut menyebabkan saponin bersifat seperti sabun atau deterjen sehingga saponin disebut sebagai surfaktan alami. Saponin

steroid tersusun atas inti steroid (C_{27}) dengan molekul dan jika terhidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang dikenal saraponin.

Saponin steroid terutama terdapat pada tanaman monokotil seperti kelompok sansevieria (*Agavaceae*), gadung (*Dioscoreaceae*) dan tanaman berbunga (*Liliaceae*). Saponin triterpenoid tersusun atas inti triterpenoid dengan senyawa karbohidrat yang dihidrolisis menghasilkan aglikon yang dikenal sapogenin. saponin triterpenoid banyak terdapat pada tanaman dikotil seperti kacang-kacangan (*Leguminosae*), pinang (*Araliaceae*), dan *Caryophyllaceae*.

Saponin terdapat pada sejumlah besar tanaman dan beberapa hewan laut seperti teripang atau timun laut. Pada tanaman, saponin tersebar merata dalam bagian seperti akar, batang, umbi, daun, bijian dan buah. Konsentrasi tertinggi saponin dalam jaringan tanaman ditemukan pada tanaman yang rentan terhadap serangga, jamur atau bakteri sehingga menunjukkan bahwa senyawa ini dapat berperan sebagai mekanisme pertahanan tubuh tanaman. Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa saponin dan tanaman yang banyak mengandung saponin memiliki efek toksik pada protozoa dengan cara membentuk sebuah kompleks ireversibel dengan steroid dalam dinding sel protozoa (Yanuartono, dkk., 2017).



Gambar 2.12 Contoh struktur saponin

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan ataupun hewan dengan menggunakan penyari tertentu. Ekstraksi dapat dilakukan dengan beberapa cara:

A. Cara dingin

1. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi menggunakan pelarut dengan pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya.

2. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai menjadi perkolat sempurna yang dilakukan pada temperatur ruangan. Prosesnya terdiri dari tahapan pengembangan tahap perkolasi (penetesan/penampungan ekstrak) terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat).

B. Cara panas

1. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dengan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

2. Sokhletasi

Sokhletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru, dilakukan dengan menggunakan alat sokhlet sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

3. Digesti

Digesti adalah maserasi dengan pengadukan kontinu pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu pada temperatur 40-50°C.

4. Infundasi

Infundasi adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut air pada temperatur 96-98°C selama 15 menit.

5. Dekok

Dekok adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur 96-98°C selama 30 menit (Ditjen POM, 2000).

2.5 Uraian Tentang Luka

Dalam pekerjaan sehari-hari, manusia selalu dihadapkan pada bahaya-bahaya tertentu, misalnya bahaya infeksius, reagensia yang toksik, peralatan listrik dan gelas yang digunakan sehari-hari sehingga berpotensi mengalami resiko luka. Melihat kondisi luka dan kondisi ekonomi saat ini diperlukan obat alternatif yang jauh lebih murah dan lebih mudah didapatkan serta mempunyai efektivitas yang cukup baik dalam mengobati luka (Simanungkalit, 2000).

Luka merupakan hilang atau rusaknya sebagian jaringan tubuh. Keadaan ini dapat disebabkan oleh benda trauma benda tajam atau tumpul, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik atau gigitan hewan. Definisi lain menyebutkan bahwa luka adalah sebuah manifestasi yang terlihat dari suatu peristiwa yang menyebabkan gangguan integritas kulit dan/atau kerugian penting dari fungsi protektif atau fisiologis kulit. Bentuk luka bermacam-macam tergantung penyebabnya (Sjamsuhidayat, 2010).

2.5.1 Penyebab terjadinya luka

- a. Luka insisi (*incised wound*), terjadi karena teriris oleh instrument yang tajam. Misalnya yang terjadi akibat pembedahan. luka bersih (aseptik) biasanya tertutup oleh sutura setelah seluruh pembuluh darah yang luka diikat.
- b. Luka memar (*contusion wound*), terjadi akibat benturan oleh suatu tekanan dan dikarakteristikan oleh cedera pada jaringan lunak, pendarahan dan bengkak.
- c. Luka lecet (*abraded wound*), terjadi akibat kulit bergesekan dengan benda lain yang biasanya dengan benda yang tidak tajam.
- d. Luka tusuk (*punctured wound*), terjadi akibat adanya benda seperti peluru atau pisau yang masuk kedalam kulit dengan diameter yang kecil.
- e. Luka gores (*lacerate wound*), terjadi akibat benda yang tajam seperti oleh kaca atau kawat.
- f. Luka tembus (*penetrating wound*), yaitu luka yang menembus organ tubuh biasanya pada bagian awal luka masuk diameternya kecil tetapi pada bagian ujung biasanya luka akan melebar.
- g. Luka bakar (*combustio*), kerusakan jaringan yang disebabkan oleh cairan panas, api, uap, zat kimia, listrik, radiasi matahari dan gesekan a (Jasmi, 2001).

2.5.2 Mekanisme penyembuhan luka

Bila kulit mengalami luka, maka akan segera terjadi beberapa respons sebagai upaya tubuh untuk melawan luka tersebut, ditandai dengan terjadinya radang akut karena meningkatnya aliran darah ke luka. Keadaan ini akan diikuti peningkatan permeabilitas vaskular yang berakibat penimbunan cairan ekstrasvaskuler yang kaya protein, pembentukan eksudat yang ditandai terjadinya peradangan berwarna merah (eritema) dan pembengkakan (edema) disekitar luka. Protein plasma dan

leukosit terutama (neutrophil) akan meninggalkan pembuluh darah melalui pertemuan antar endotel dan luka lalu bermigrasi ke daerah luka yang selanjutnya akan mengalami penyembuhan luka (proses sel-sel yang rusak diganti dengan sel-sel baru) (Robinson, *et al.*, 1992).

Mekanisme penyembuhan luka bisa melalui regenerasi sel parenkim tetapi lebih sering oleh jaringan ikat yang membentuk parut. Penyembuhan ini tidak berlangsung baik, jika respon radang yang terjadi berlebihan (hipersensitivitas), atau karena adanya mikroorganisme yang berlebihan sehingga tidak mampu dimusnahkan oleh sistem fagositosis oleh leukosit akibat timbulnya radang supuratif (emigrasi neutrophil yang berlebihan dan berbentuk nanah). Tetapi jika luka hanya ringan akan dapat dinetralkan oleh respon radang sebelum terjadi kerusakan jaringan lebih banyak, artinya hanya sedikit jaringan yang perlu disembuhkan, atau terbentuk jaringan parut yang kecil. Pada luka yang besar sejumlah sel jaringan telah hilang maka pemulihan harus melalui pembentukan jaringan parut (Prince *et al.*, 1998).

2.5.3 Jenis-jenis luka

1. Jenis luka berdasarkan waktu penyembuhan

Berdasarkan waktu penyembuhan, luka dibedakan menjadi luka akut dan luka kronis.

- a. Luka akut adalah luka yang terjadi kurang dari 5 hari dengan diikuti proses hemostatis dan inflamasi. Luka akut sembuh atau menutup sesuai dengan waktu penyembuhan luka fisiologis (0-21 hari). Contoh luka akut adalah luka pasca-operasi.

- b. Luka kronis adalah luka yang sudah lama terjadi atau menahun dengan penyembuhan yang lebih lama akibat adanya gangguan selama proses penyembuhan luka, gangguan dapat berupa infeksi dan dapat terjadi pada fase inflamasi, proliferasi, atau maturasi. Contoh luka kronis adalah luka diabetes militus dan luka kanker (Irma, 2013).

2. Jenis luka berdasarkan anatomi kulit

Luka Berdasarkan anatomi kulit atau kedalamannya menurut *National Pressure Ulcer Advisory Panel* (NPUAP) diklasifikasikan menjadi:

- a. Stadium 1: luka dikatakan stadium satu jika warna dasar luka merah dan hanya melibatkan lapisan epidermis, epidermis masih utuh atau tanpa merusak epidermis. Contoh luka stadium 1 adalah kulit yang terpapar matahari atau sunburn.
- b. Stadium 2: luka dikatakan stadium dua jika warna dasar luka merah dan melibatkan lapisan epidermis-dermis. Luka menyebabkan epidermis terpisah dari dermis atau mengenai sebagian dermis (*Partial-thickness*). Umumnya kedalaman luka hingga 0,4 mm, namun biasanya bergantung pada lokasi luka.
- c. Stadium 3: luka dikatakan stadium tiga jika warna dasar luka merah dan lapisan kulit mengalami kehilangan epidermis, dermis hingga sebagian hipodermis (*full-thickness*). Umumnya kedalaman luka hingga 1 mm.
- d. Stadium 4: luka dikatakan stadium empat jika warna dasar luka merah dan lapisan kulit mengalami kerusakan dan kehilangan lapisan epidermis, dermis, hingga seluruh hipodermis, dan mengenai otot dan tulang (*deep full-thickness*).
- e. *Unstageable*: luka dikatakan tidak dapat ditentukan stadiumnya (*Unstageable*) jika warna dasar luka kuning atau hitam dan merupakan

jaringan mati (nekrosis) terutama jika jaringan nekrosis $\geq 50\%$ berada di dasar luka (Irma, 2013).

2.6 Uraian diabetes

Diabetes mellitus (DM) yang juga dikenal sebagai non-communicable disease merupakan salah satu penyakit sistemik yang paling memprihatinkan di Indonesia. Hal ini dikarenakan penyakit DM memiliki angka kejadian dan kematian yang cukup tinggi. Diabetes mellitus suatu kondisi konsentrasi glukosa dalam darah secara kronis lebih tinggi (hiperglikemia) dari pada nilai normal akibat tubuh kekurangan insulin atau fungsi insulin tidak efektif. Setengah dari jumlah kasus diabetes mellitus tidak terdiagnosis karena pada umumnya diabetes tidak disertai gejala sampai terjadinya komplikasi. Penyakit diabetes mellitus semakin hari semakin meningkat dan hal ini dapat dilihat dari meningkatnya frekuensi kejadian penyakit tersebut di masyarakat. Diperkirakan 194 juta jiwa atau 5,1% dari 3,8 milyar penduduk dunia yang berusia 20-79 tahun menderita diabetes mellitus. Jumlah penderita diabetes mellitus di Indonesia jumlahnya sangat besar. Pada tahun 2000 jumlah penderita diabetes mellitus telah mencapai 8,4 juta jiwa, pada tahun 2003 jumlah penderita 13.797.470 jiwa sedangkan pada tahun 2005 jumlahnya telah mencapai sekitar 24 juta orang (WHO, 2003).

Percobaan penelitian mengenai DM dengan menggunakan hewan model didasarkan pada patogenesis penyakit tersebut pada manusia yang bersifat kronis atau berlangsung menahun. Pada saat ini telah dilakukan penelitian menggunakan hewan model yang secara patologis dibuat menderita DM. Kondisi patologis pada hewan model dibuat untuk melakukan pencegahan, mengetahui patogenesis penyakit, menetapkan diagnosis, dan terapi yang digunakan dalam penanganan

penyakit DM. Meskipun demikian, kondisi patologis hewan model tersebut tidak menggambarkan kondisi patologis secara nyata pada manusia (Alwan, 1994).

Diabetes mellitus dapat dikategorikan dalam tiga tipe. Diabetes tipe 1 adalah kondisi diabetes karena kekurangan insulin akibat ketidakmampuan tubuh memproduksi insulin. Diabetes mellitus tipe 2 merupakan kumpulan gejala yang timbul oleh adanya peningkatan kadar glukosa darah akibat kekurangan insulin baik absolut maupun relatif. Diabetes tipe 3 kondisi yang sering pada saat wanita hamil. Setelah melahirkan kadar glukosa normal (Saputra, *et al.*, 2018).

2.7 *Streptozotosin* (STZ)



Gambar 2.13 *Streptozotosin* (STZ)

Streptozotosin adalah senyawa kimia derivat dari *Streptomyces achromogenes*, merupakan senyawa yang pada awalnya dipergunakan untuk mengobati sel metastasis dari tumor di pankreas, tumor karsinoid, malignan dan juga mempunyai efek sebagai antibakteri. Sebagai obat-obatan, *Stroptomycin* memiliki fungsi positif, namun pada percobaan terbukti mempunyai efek negatif yaitu menyebabkan kerusakan sel beta pankreas (Adji, 2008).

Senyawa *streptozotosin* memiliki waktu paruh yang cukup lama dan tidak mudah teroksidasi. *Streptozotosin* bekerja dengan membentuk radikal bebas

sangat reaktif yang dapat menimbulkan kerusakan pada membran sel, protein, dan *deoxyribonucleic acid* (DNA), sehingga menyebabkan gangguan produksi insulin oleh sel beta langerhans pankreas (Wilson, 1988).

Szkudelski (2001) menyatakan bahwa *streptozotosin* memasuki sel beta langerhans pankreas melalui *glucose transporter 2* (GLUT 2) dan menyebabkan alkilasi. Hal ini didahului oleh pembatasan pembentukan adenosin trifosfat pada mitokondria akibat pembentukan radikal bebas, peningkatan enzim *xanthine oxidase* dan penghambatan siklus Krebs. Terdapat dua tipe diabetes mellitus akibat induksi *streptozotosin* (STZ), yaitu diabetes mellitus tipe 1 dan diabetes mellitus tipe 2 (Yaturu, 2011).

2.8 Uraian Tentang Salep

Salep (unguenta menurut Farmakope Indonesia edisi III) adalah sediaan setengah padat yang mudah dioleskan dan digunakan sebagai obat luar. Bahan obat harus larut atau terdispersi homogen kedalam dasar salep yang cocok.

Salep adalah sediaan setengah padat ditujukan untuk pemakaian topikal pada kulit atau selaput lendir. Basis salep yang digunakan sebagai pembawa dibagi dalam 4 kelompok: dasar salep senyawa hidrokarbon, dasar salep serap, dasar salep yang dapat dicuci dengan air (hidrofilik), dasar salep larut dalam air. Setiap salep obat menggunakan salah satu dasar salep tersebut. Basis salep yang dapat dicuci dengan air (hidrofilik) merupakan emulsi minyak dalam air antara lain salep hidrofilik mirip dengan krim. Basis ini dinyatakan juga sebagai “dapat dicuci dengan air” karena mudah dicuci dari kulit atau dilap basah, sehingga lebih dapat diterima untuk basis kosmetik maupun obat untuk topikal. Beberapa bahan obat dapat menjadi lebih efektif menggunakan dasar salep ini daripada basis salep

hidrokarbon. Keuntungan lain dari dasar salep ini adalah dapat diencerkan dengan air dan mudah menyerap cairan pada kelainan dermatologik (Depkes RI, 2020).

Salep hidrofilik dapat ditujukan untuk kulit yang mengalami luka, karena untuk mencegah nekrosis pada sel yang bekerja untuk menutup luka sehingga mampu mempercepat penyembuhan. Salep hidrofilik melepaskan obat dari basis salep dan dapat berkontak dengan luka sehingga dapat memberikan efek terapeutik yang maksimal, serta penggunaan basis salep hidrofil sebagai pembawa ekstrak dipilih karena untuk mencegah kondisi kulit luka yang lembab sehingga dapat memfasilitasi untuk mempercepat proses penyembuhan pada kulit yang mengalami luka (Ardinata, *et al.*, 2022).

Persyaratan salep menurut Farmakope Indonesia edisi III antara lain:

1. Pemerian tidak boleh berbau tengik.
2. Kadar, kecuali dinyatakan lain dan untuk salep yang mengandung obat keras atau narkotik, kadar bahan obat adalah 10%.
3. Dasar salep: kecuali dinyatakan lain, sebagai bahan dasar salep (basis salep) digunakan vaselin putih (vaselin album). Tergantung dari sifat bahan obat dan tujuan pemakaian salep. Tergantung dari sifat bahan obat dan tujuan pemakaian salep, dapat dipilih beberapa bahan dasar salep sebagai berikut:
 - a. Dasar salep senyawa hidrokarbon: vaselin putih, vaselin kuning (vaselin flavum), malam putih (cera album), malam kuning (cera flavum), atau campurannya.
 - b. Dasar salep serap: lemak bulu domba (adepts lanae), campuran 3 bagian kolesterol, 3 bagian stearil-alkohol, 8 bagian malam putih dan 86 bagian vaselin putih, 30 bagian malam kuning dan 70 bagian minyak wijen.

- c. Dasar salep yang dapat dicuci dengan air atau dasar salep emulsi, misalnya emulsi minyak dalam air (M/A).
 - d. Dasar salep yang dapat larut dalam air, misalnya PEG atau campurannya.
4. Homogenitas, jika salep dioleskan pada sekeping kaca atau bahan transparan lain yang cocok, harus menunjukkan susunan yang homogen.
5. Penandaan, pada etiket harus tertera “obat luar” (Syamsuni, 2006).

2.8.1 Penggolongan salep

Menurut sifat farmakologi/terapeutik dan penetrasinya, salep dapat dibagi:

- a. Salep epidermis (*epidermis ointment*; salep penutup) guna melindungi kulit dan menghasilkan efek lokal, tidak diabsorpsi, kadang-kadang ditambahkan antiseptik, astringensia untuk meredakan rangsangan atau anastesi lokal. Dasar salep yang cocok adalah dasar salep senyawa hidrokarbon.
- b. Salep endodermis: salep yang bahan obatnya menembus ke dalam kulit, terabsorpsi sebagian ke dalam kulit, digunakan untuk melunakkan kulit atau selaput lendir. Dasar salep yang terbaik adalah minyak lemak.
- c. Salep diadermis: salep yang bahan obatnya menembus ke dalam tubuh melalui kulit dan mencapai efek yang diinginkan, misalnya salep yang mengandung senyawa merkuri iodide, beladona (Syamsuni, 2006).

2.9 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)



Gambar 2.14 Tikus putih

Dalam perkembangannya, tikus dimanfaatkan penelitian Biomedik. Dasar-dasar riset biomedik yang menggunakan hewan percobaan telah dilakukan dalam mengkarakterisasi gen/protein, studi anatomi dan fisiologis, status normal dan patologis. Dari sekian hewan percobaan, ternyata penggunaan tikus paling ideal sebagai hewan model penelitian dan studi komparatif Biomedik, karena memiliki kesamaan anatomi dan fisiologi dengan manusia. Selain itu, tikus dan manusia, memiliki masing-masing 30.000 gen, dimana 95% dimiliki oleh spesies tersebut. Peran tikus untuk riset Biomedik akan semakin meningkat dengan manipulasi yang rumit, sehingga hasil riset semakin mendekati manifestasi penyakit pada manusia (Berata, 2023).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian berupa eksperimental di laboratorium, yaitu variasi konsentrasi ekstrak etanol daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) di dalam sediaan salep merupakan variabel bebas dan berbagai uji pada penelitian sebagai variabel terikat. Tahapan kerja penelitian meliputi: pengumpulan dan pembuatan simplisia daun sembung rambat, penentuan karakteristik simplisia, pembuatan salep hidrofil ekstrak etanol daun sembung rambat, skrining fitokimia terhadap daun segar, simplisia, dan ekstrak etanol daun sembung rambat, formulasi sediaan salep hidrofil ekstrak daun sembung rambat, pengujian efektifitas penyembuhan luka buatan pada kulit tikus jantan yang diinduksi diabetes dengan *streptozotosin* dan uji iritasi sediaan salep pada kulit relawan.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Penelitian, Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Farmakologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Indah Medan pada bulan Juni – Agustus 2024.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat gelas laboratorium, batang pengaduk beaker glass, *blender* (Miyako[®]), cawan porselin, *freeze dryer*, gunting, gelas arloji, *hot plate*, kertas saring, lumpang dan stamper, neraca hewan digital (Camry[®]), neraca listrik (Mettler Toledo[®]), penangas air, pH meter, pipet tetes, pisau cukur, sarung tangan, alat destilasi untuk penetapan kadar air, spuit 1 ml (Terumo[®]), vakum putar (*rotapvapour*), dan alat cek kadar gula (Easy Touch[®]).

3.3.2 Bahan penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sembung rambat, etanol 80%, polietilen glikol 400, polietilen glikol 4000, lidokain, *streptozotosin*, akuades, bahan kimia berkualitas pro analisis (E-Merck) yaitu alfa-naftol, ammonia, asam asetat glasial, asam klorida, asam sulfat, asam nitrat 0,5 N, bismut (III) nitrat, etanol, etil asetat, eter, besi (III) klorida, kloroform, kalium iodida, iodium, isopropanolol, metanol, natrium hidroksida, natrium sulfat anhidrat, raksa (II) klorida, serbuk magnesium, serbuk seng, timbal (II) asetat, toluen.

3.4 Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus yang berjenis kelamin jantan dengan berat ± 200 gram sebanyak 25 ekor, yang diperoleh dari peternakan hewan di Brastagi kabupaten Karo, Sumatera Utara. Sebelum percobaan terlebih dahulu dipelihara atau diistirahatkan selama 2 minggu dalam kandang yang baik dan dibersihkan, diberi makan biji-bijian untuk adaptasi atau menyesuaikan diri dengan lingkungan penelitian. Setiap hari hewan diamati perilakunya dan berat badannya.

3.5 Pembuatan Pereaksi

3.5.1 Asam klorida 2 N

Sebanyak 17 ml asam klorida pekat dimasukkan ke dalam *beaker glass* yang telah berisi 25 ml akuades, ditunggu sampai dingin dan diencerkan dengan akudes sampai 100 ml (Depkes RI,1995).

3.5.2 Asam sulfat 2 N

Sebanyak 6 ml asam sulfat pekat dimasukkan ke dalam *beaker glass* yang telah berisi 25 ml akuades, diencerkan sampai 100 ml (Depkes RI, 1995).

3.5.3 Asam nitrat 0,5 N

Sebanyak 3,5 ml asam nitrat pekat dimasukkan ke dalam *beaker glass* berisi 25 ml akuades diencerkan dengan akuades sampai 100 ml (Depkes RI, 1995).

3.5.4 Besi (III) klorida 1% b/v

Sebanyak 1 g besi (III) klorida dimasukkan ke dalam *beaker glass* kemudian dilarutkan dengan asam klorida 2 N, dan dicukupkan dengan akuades hingga 100 ml (Depkes RI, 1995).

3.5.5 Timbal (II) asetat 0,4 M

Sebanyak 15,17 g timbal (II) asetat ditimbang, kemudian dilarutkan dalam air suling bebas CO₂ hingga 100 ml (Depkes RI, 1995).

3.5.6 Pereaksi Mayer

Sebanyak 1,36 g raksa (II) klorida ditimbang, kemudian dilarutkan dalam air suling hingga 60 ml. Pada wadah lain ditimbang sebanyak 5 g kalium iodida lalu dilarutkan dalam 10 ml air suling. Kemudian keduanya dicampur dan dicukupkan hingga 100 ml (Ditjen POM, 1978).

3.5.7 Pereaksi Molish

Sebanyak 3 g α -naftol dilarutkan dalam asam nitrat 0,5 N secukupnya dan ditambahkan akuades hingga 100 ml (Ditjen POM, 1978).

3.5.8 Pereaksi Bauchardat

Sebanyak 4 g kalium iodida ditimbang, kemudian dilarutkan dalam sedikit air suling lalu di tambahkan iodium sebanyak 2 g, setelah semuanya larut cukupkan dengan air suling hingga 100 ml (Ditjen POM, 1978).

3.5.9 Pereaksi Dragendorff

Sebanyak 0,85 g bismut (III) nitrat, dilarutkan dalam 100 ml asam asetat glasial ditambahkan 4 ml air suling. Pada wadah lain ditimbang sebanyak 8 g kalium

iodida dilarutkan dalam 20 ml air suling. Kemudian kedua larutan dicampurkan sama banyak lalu ditambahkan 20 ml asam asetat glasial dan diencerkan dengan air suling sampai 100 ml (Ditjen POM, 1978).

3.6 Pengolahan Sampel Daun Sembung Rambut

Sampel yang digunakan adalah daun sembung rambut yang segar berwarna hijau daun ketiga sampai ke delapan dari pucuk, diambil di pagi hari sekitar pukul 7-9, di kebun sekitar Kelurahan Sudirejo Kecamatan Medan Kota Sumatera Utara. Sampel yang diambil secara *purposif sampling* yaitu tanpa membandingkan dengan daerah lain.

3.6.1 Identifikasi tumbuhan sembung rambut

Identifikasi tumbuhan dilakukan di *Herbarium Medanense (MEDA)*, Universitas Sumatera Utara, Medan.

3.6.2 Pembuatan simplisia

Daun sembung rambut yang masih segar sebanyak 10 Kg dibersihkan dari kotoran, tanah, kerikil, dan bagian daun yang rusak, dicuci dengan air mengalir dan bersih, ditiriskan, dikeringkan di atas kertas sambil diangin-anginkan di ruangan terbuka terlindung dari sinar matahari langsung. Kemudian dikeringkan di dalam lemari pengering dengan suhu sekitar 50°C, sampai kering yang ditandai dengan rapuh saat dipatahkan. Selanjutnya simplisia dilakukan sortasi kering dari daun yang rusak. Kemudian diserbukkan dengan menggunakan *blender*, dan ditimbang berat serbuk, disimpan di dalam wadah yang kering dan tertutup, terlindung dari cahaya (Gunawan dan Sri, 2004).

3.6.3 Penetapan kadar air simplisia daun sembung rambat

Penetapan kadar air dilakukan dengan metode *azeotropi* (destilasi toluen).

Alat terdiri atas labu alas bulat 500 ml, alat penampung, pendingin bola, tabung penghubung, tabung penerima berskala 0,1 ml, dilakukan sebagai berikut:

a. Penjenuhan toluen

Sebanyak 200 ml toluen dan 2 ml air suling dimasukkan kedalam labu alas bulat, dipasang alat penampung dan pendingin, kemudian didestilasi selama 2 jam, sampai seluruh air terdestilasi diperoleh toluen jenuh, setelah itu toluen didinginkan dan disisihkan sedikit untuk pembilasan. Setelah air dan toluen di dalam tabung penerima memisah sempurna volume air dibaca sebagai volume awal air, dengan ketelitian 0,05 ml.

b. Penetapan kadar air simplisia

Ke dalam labu alas bulat yang telah berisi toluen jenuh, dimasukkan 5 gram serbuk simplisia yang telah ditimbang seksama lalu dipanaskan hati-hati selama 15 menit. Setelah toluen mendidih, kecepatan tetesan diatur ± 2 tetes setiap detik, hingga sebagian besar air terdestilasi. Kemudian kecepatan destilasi dinaikkan hingga 4 tetes tiap detik. Setelah semua air terdestilasi, bagian dalam pendingin dibilas dengan toluen yang telah dijenuhkan. Destilasi dilanjutkan selama 5 menit, kemudian tabung penerima dibiarkan hingga mendingin pada suhu kamar. Setelah air dan toluen didalam tabung penerima memisah sempurna, volume air dibaca sebagai volume akhir air dengan ketelitian 0,05 ml. Selisih kedua volume air yang dibaca dihitung sebagai kandungan air yang terdapat dalam bahan yang diperiksa. Kadar air dihitung dengan persen (WHO, 1992).

Persen kadar air dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar air} = \frac{(\text{Volume akhir} - \text{Volume awal})}{\text{Berat Simplisia (g)}} \times 100\%.$$

3.7 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sembung Rambut

Serbuk simplisia daun sembung rambut ditimbang sebanyak 1.500 gram dimasukkan ke dalam bejana tertutup dan dimaserasi dengan etanol 80% selama 3 jam terlindung dari cahaya matahari sambil sering diaduk, lalu dipindahkan ke dalam perkolator perlahan sambil ditekan, ditambahkan bahan penyari etanol 80% secukupnya hingga simplisia terendam dan terdapat cairan penyari di atasnya, perkolator ditutup dengan aluminium foil dan dibiarkan selama 24 jam.

Kemudian keran perkolator dibuka dan dibiarkan cairan ekstrak menetes dengan kecepatan 20 tetes (1 ml) per menit, cairan penyari etanol 80% ditambahkan berulang-ulang secukupnya melalui tabung reservoir, secukupnya dan diatur kecepatan penetesan cairan penyari sama dengan kecepatan tetesan perkolat, sehingga selalu terdapat selapis cairan di atas simplisia.

Perkolasi dihentikan, jika perkolat yang terakhir keluar sudah bening dan tidak berwarna, diambil sebanyak 5 ml diuapkan di atas cawan porselin, tidak meninggalkan sisa, atau jika direaksikan dengan beberapa pereaksi untuk alkaloid, dan polifenol tidak memberikan hasil yang positif.

Selanjutnya kumpulan perkolat didiamkan selama 3 hari, dienaptuangkan dan disuling dengan tekanan rendah pada suhu tidak lebih dari 40°C menggunakan *Rotary evaporator* diperoleh ekstrak kental. Kemudian dikeringkan menggunakan *Freeze dryer* pada suhu -40°C, selama lebih kurang 24 jam. Diperoleh ekstrak etanol daun sembung rambut, ditimbang dan disimpan di dalam wadah plastik yang tertutup dengan baik, selanjutnya disebut (EEDSr).

3.8 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk menguji kandungan golongan senyawa kimia metabolit sekunder yang terdapat pada simplisia daun sembung rambat yang terdiri dari golongan alkaloid, glikosida, saponin, steroida/triterpenoid, dan tanin.

3.8.1 Pemeriksaan alkaloida

Sebanyak 500 mg daun sembung rambat segar, simplisia dan ekstrak etanolnya, masing-masing dimasukkan ke dalam labu *Erlenmeyer* ditambahkan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml air suling, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat dipakai untuk percobaan berikut:

- a. Filtrat sebanyak 1 ml ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer, akan terbentuk endapan berwarna putih atau kuning jika mengandung alkaloid.
- b. Filtrat sebanyak 1 ml lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat, akan terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam jika mengandung alkaloid.
- c. Filtrat sebanyak 1 ml lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff, terbentuk endapan berwarna merah sampai coklat jika mengandung alkaloid.

Tetapi jika reaksi 1 dan 2 hanya terjadi kekeruhan dilanjutkan pemeriksaan berikut: sebanyak 8 ml filtrat ditambahkan 2 ml amonia pekat dan dikocok dengan 5 ml campuran eter-kloroform (3:1) dan biarkan memisah, diambil lapisan eter-kloroform, ditambahkan sedikit natrium sulfat anhidrat, disaring dan diuapkan filtrat didalam cawan di atas penangas air, dilarutkan residunya dengan sedikit HCl 2 N. Alkaloid positif jika terjadi endapan atau kekeruhan paling sedikit 2 dari 3 percobaan diatas (Ditjen POM, 1979).

3.8.2 Pemeriksaan flavonoid

Sebanyak kurang lebih 500 mg daun sembung rambat segar, simplisia dan ekstrak etanol nya, masing-masing dimasukkan ke dalam labu *Erlenmeyer* ditambahkan 10 ml metanol, direfluks selama 10 menit. Kemudian disaring panas-panas melalui kertas saring. Filtrat diencerkan dengan 10 ml air suling. Setelah dingin ditambahkan 5 ml eter minyak tanah, dikocok hati-hati lalu didiamkan sebentar. Diambil lapisan metanolnya, lalu diuapkan pada temperatur 40°C di atas penangas air. Sisanya dilarutkan dalam 5 ml etil asetat, kemudian disaring. Filtrat digunakan untuk pengujian flavonoid dengan cara sebagai berikut:

- a. Sebanyak 1 ml filtrat larutan di atas diuapkan sampai kering, sisanya dilarutkan dalam 2 ml etanol 96% lalu tambahkan 0,5 gram serbuk seng dan 2 ml asam klorida 2 N, didiamkan selama 1 menit. Ditambahkan 10 tetes asam klorida pekat. Jika dalam waktu 2-5 menit terjadi warna merah intensif menunjukkan adanya flavonoid (glikosida-3-flavonoid).
- b. Sebanyak 1 ml filtrat larutan di atas diuapkan sampai kering, sisanya dilarutkan dalam 1 ml etanol 96% lalu tambahkan 0,1 gram serbuk magnesium dan 10 ml asam klorida pekat. Jika terjadi warna merah jingga sampai merah ungu menunjukkan adanya flavonoid (Ditjen POM, 1979).

3.8.3 Pemeriksaan glikosida

Sebanyak 500 mg daun sembung rambat segar, simplisia dan ekstrak etanol nya, masing-masing ditambahkan dengan 30 ml campuran dari 7 bagian etanol 96% dan 3 bagian volume air dalam alat refluks dengan pendingin air balik 10 menit, didinginkan dan disaring. Pada 20 ml filtrat ditambahkan 25 ml air dan 25 ml timbal (II) asetat 0,4 M dikocok, lalu didiamkan selama 5 menit dan disaring. Filtrat disari

dengan 20 ml campuran 3 bagian kloroform dan 2 bagian isopropanolol, perlakuan ini diulang sebanyak 3 kali. Sari air dikumpulkan dan diuapkan pada temperatur tidak lebih dari 50°C. sisanya dilarutkan dalam 2 ml metanol. Larutan sisa kemudian dipakai untuk percobaan:

1. Uji terhadap senyawa gula

- a. Diambil sebanyak 1 ml lapisan atas diuapkan diatas penangas air. Sisa penguapan ditambahkan 2 ml air dan 5 tetes larutan pereaksi Molish, dan ditambahkan hati-hati asam sulfat pekat, terbentuk cincin warna ungu pada batas cairan, reaksi ini menunjukkan adanya ikatan gula
- b. Diambil sebanyak 1 ml lapisan atas diuapkan di atas penangas air. Sisa penguapan ditambahkan Fehling A dan Fehling B (1:1), kemudian dipanaskan. Terbentuknya endapan warna merah bata menunjukkan adanya gula pereduksi (Depkes RI, 1989).

2. Uji terhadap senyawa non gula

Diambil sebanyak 1 ml lapisan bawah, diuapkan diatas penangas air suhu tidak lebih dari 60°C, sisa penguapan dilarutkan dalam 2 ml metanol, selanjutnya ditambahkan 20 tetes asam glasial dan 1 tetes asan sulfat pekat (pereaksi Liebermann-Bouchard), jika terjadi warna biru, hijau, merah ungu, atau ungu, positif untuk non gula.

3.8.4 Pemeriksaan tanin

Sebanyak 500 mg daun sembung rambut segar, simplisia dan ekstrak etanol nya, masing-masing dipanaskan dengan 10 ml air, disaring, lalu diencerkan sampai hampir tidak berwarna. Pada 2 ml larutan sampel ditambahkan 1-2 tetes larutan besi (III) klorida 10%. Apabila terjadi warna hijau kehitaman atau biru kehitaman.

3.8.5 Pemeriksaan saponin

Sebanyak 500 mg daun sembung rambat segar, simplisia dan ekstrak etanol nya, masing-masing dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan dan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Saponin positif jika terjadi busa yang mantap selama tidak kurang 10 menit setinggi 1-10 cm dan dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2 N buih tidak hilang (Ditjen POM, 1979).

3.8.6 Pemeriksaan steroida/triterpenoida

Sebanyak 1 gram daun sembung rambat segar, simplisia dan ekstrak etanol nya, masing-masing dimaserasi dengan 20 ml eter selama 2 jam kemudian disaring. Filtrat digunakan untuk reaksi berikut:

Sebanyak 5 ml larutan eter diuapkan di atas penangas air, kemudian sisa ditambahkan 20 tetes asam asetat glasial dan tetes asam sulfat pekat (Liebermann-Bouchard). Reaksi terjadi warna merah ungu menunjukkan steroida atau biru hijau menunjukkan triterpenoida (Ditjen POM, 1979).

3.9 Pembuatan Sediaan Salep

3.9.1 Pembuatan dasar salep hidrofil

Dasar salep yang digunakan adalah hidrofil anhidros yaitu dasar salep yang mudah larut dalam air dan mudah dicuci dengan air. Diformulasikan berdasarkan *Polyethylenglykol oinment* USP (Anief, 2005) dengan susunan formula sebagai berikut:

R/ Polietilen glikol 4000 40%

Polietilen glikol 400 60%

Dasar salep dibuat sebanyak 500 gram untuk pembuatan sediaan salep ekstrak etanol daun sembung rambat (EEDSr) 2,5%, 5%, 7,5%, dasar salep sebagai blanko,

masing-masing sebanyak 100 gram, maka dasar salep dibuat sebagai berikut:

1. Polietilen glikol 4000 = $40\% = \frac{40}{100} \times 500 \text{ gram} = 200 \text{ gram}$
2. Polietilen glikol 400 = $60\% = \frac{60}{100} \times 500 \text{ gram} = 300 \text{ gram}$

3.9.2 Cara pembuatan dasar salep hidrofil

Dalam cawan penguap dimasukkan polietilen glikol 4000 dan polietilen glikol 400 yang telah ditimbang kemudian dipanaskan di atas penangas air sampai meleleh sempurna, sambil digerus secara konstan, didinginkan sambil digerus maka didapat dasar salep, dimasukkan ke dalam wadah yang tertutup rapat dan disimpan di tempat yang terlindung dari cahaya.

3.9.3 Pembuatan sediaan salep ekstrak etanol daun sembung rambat

Formula salep dibuat menggunakan dasar salep hidrofil dengan berbagai variasi konsentrasi ekstrak etanol daun sembung rambat (EEDSr): 2,5%, 5%, dan 7,5% serta dasar salep sebagai blanko, masing-masing sebanyak 100 gram. Adapun formula yang dibuat adalah sebagaimana pada Tabel 3.1 berikut:

Tabel 3.1. Formula sediaan salep daun sembung rambat

Formula	EEDSr (g)	Dasar salep (g)	Parfum
EEDSr 2,5%	2,5	97,5	3 tetes
EEDSr 5%	5,0	95,0	3 tetes
EEDSr 7,5%	7,5	92,5	3 tetes
Blanko (dasar salep)	-	100,0	

Keterangan: EEDSr = Ekstrak Etanol Daun Sembung rambat

3.9.4 Cara pembuatan sediaan salep

Ke dalam lumpang dimasukkan ekstrak etanol daun sembung rambat yang telah ditimbang, ditetesi dengan beberapa tetes etanol 96% dan digerus sampai larut. Kemudian ditambahkan dasar salep yang telah ditimbang sedikit demi sedikit sambil

digerus, hingga diperoleh sediaan yang homogen. Ditambahkan parfum sebanyak 3 tetes dan diaduk, kemudian dimasukkan ke dalam wadah pot plastik dan ditutup dengan baik.

3.9.5 Uji fisik sediaan salep

3.9.5.1 Uji homogenitas sediaan

Pemeriksaan homogenitas dilakukan dengan menggunakan kaca objek, dengan cara sejumlah tertentu sediaan diletakkan pada sekeping kaca, lalu digoreskan dengan menggunakan sekeping kaca yang lain dan ditutup, lalu diamati sediaan homogen jika tidak terlihat butiran kasar (Ditjen POM, 1979).

3.9.5.2 Uji stabilitas sediaan

Sediaan dari masing-masing formula dimasukkan ke dalam gelas ukur 50 ml, ditutup bagian atasnya. Selanjutnya pengamatan dilakukan pada saat sediaan setelah selesai dibuat, penyimpanan 1, 4, 8 dan 12 minggu dilakukan pada temperatur kamar, bagian yang diamati berupa pemisahan fase, perubahan warna dan bau dari sediaan.

3.9.5.3 Uji nilai pH sediaan

Penentuan pH sediaan dilakukan dengan menggunakan alat pH meter dengan cara: alat terlebih dahulu dikalibrasi dilakukan dengan menggunakan larutan dapar standar netral (pH 7,01) dan larutan dapar pH asam (pH 4,01) hingga alat menunjukkan harga pH tersebut. Kemudian elektroda dicuci dengan air suling, lalu dikeringkan dengan tisu. Sampel dibuat dalam konsentrasi 1% yaitu ditimbang 1 g sediaan dan dilarutkan dengan air suling hingga 100 ml. Kemudian elektroda dicelupkan dalam larutan tersebut. Dibiarkan alat menunjukkan harga pH sampai konstan. Angka yang ditunjukkan pH meter merupakan pH sediaan (Rawlins, 2003).

3.9.5.4 Uji iritasi sediaan terhadap kulit sukarelawan

Percobaan iritasi sediaan salep yang telah diformulasikan dilakukan pada 6 orang sukarelawan dengan cara 500 mg sediaan dioleskan pada bagian belakang telinga sukarelawan, kemudian dibiarkan selama 24 jam dan dilihat perubahan yang terjadi, jika terjadi iritasi pada kulit akan terlihat kemerahan, gatal dan pengkasaran.

Kriteria sukarelawan yang dijadikan panel pada uji iritasi adalah sebagai berikut:

- a. Wanita berbadan sehat
- b. Usia antara 20-30 tahun
- c. Sehat jasmani dan rohani
- d. Tidak ada riwayat penyakit yang berhubungan dengan alergi
- e. Bersedia menjadi sukarelawan (Ditjen POM, 1985).

3.10 Uji Efektivitas Penyembuhan Luka

3.10.1 Cara pembuatan buffer sitrat

Buffer sitrat dibuat dengan campuran larutan A yaitu larutan asam sitrat dan larutan B yaitu Na-sitrat, adapun ketentuan larutan yang digunakan:

Larutan A: 0,1 M larutan asam sitrat (21,01 g dalam 1000 ml)

Larutan B: 0,1 M larutan Na-sitrat (29,41 g $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ dalam 1000 ml)

Diambil sebanyak 26,75 ml larutan asam sitrat ditambahkan 23,25 ml larutan Na-sitrat kemudian dicukupkan dengan akuades hingga volume 100 ml. Selanjutnya diukur pH dengan menggunakan pH meter sehingga didapatkan pH 4,5.

3.10.2 Cara Perhitungan *Streptozotosin*

Dosis streptozotosin pada tikus 45 mg/kg BB dalam 0,01 M buffer sitrat pH 4,5.

$$\text{Untuk tikus dengan BB 200 g} = \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 9,0 \text{ mg}$$

Dibuat dengan konsentrasi 2,5% untuk tikus dengan BB 200 g

$$= \frac{9 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,40 \text{ ml.}$$

3.10.3 Induksi diabetes hewan uji

Induksi diabetes hewan dilakukan terhadap tikus jantan digunakan *streptozotosin* sebagai penginduksi, dan dilakukan orientasi untuk mengetahui dosis *streptozotosin* untuk mendapatkan hewan uji menjadi diabetes.

3.10.4 Orientasi perhitungan kadar gula darah (diabetes)

Kenaikan kadar gula darah merupakan efek yang ditimbulkan oleh adanya induksi *streptozotosin*, untuk melihat adanya kenaikan kadar gula darah yang ditimbulkan pada proses induksi dapat dilihat data rata-rata kadar gula darah setiap perlakuan pada 5 ekor hewan percobaan. Data rata-rata kenaikan kadar gula darah pada hewan percobaan sebelum diinduksi dengan *streptozotosin* dapat dilihat pada tabel sebagai berikut:

Tabel 3.2 Data rata-rata kadar gula darah tikus sebelum diinduksi

ulangan	Kadar gula darah sebelum diinduksi dengan <i>streptozotosin</i>				
	Tikus 1	Tikus 2	Tikus 3	Tikus 4	Tikus 5
1.	63 mg/dL	93 mg/dL	71 mg/dL	86 mg/dL	125 mg/dL
2.	56 mg/dL	101 mg/dL	33 mg/dL	93 mg/dL	89 mg/dL
3.	78 mg/dL	96 mg/dL	51 mg/dL	89 mg/dL	106 mg/dL
4.	125 mg/dL	24 mg/dL	98 mg/dL	80 mg/dL	44 mg/dL
5.	100 mg/dL	72 mg/dL	71 mg/dL	125 mg/dL	112 mg/dL

Tabel 3.3 Data rata – rata kadar gula darah tikus setelah diinduksi

Ulangan	Kadar gula darah setelah diinduksi dengan <i>streptozotosin</i>				
	Tikus 1	Tikus 2	Tikus 3	Tikus 4	Tikus 5
1.	265 mg/dL	199 mg/dL	278 mg/dL	150 mg/dL	201 mg/dL
2.	190 mg/dL	291 mg/dL	141 mg/dL	219 mg/dL	178 mg/dL
3.	370 mg/dL	235 mg/dL	203 mg/dL	177 mg/dL	300 mg/dL
4.	485 mg/dL	150 mg/dL	197 mg/dL	198 mg/dL	182 mg/dL
5.	410 mg/dL	211 mg/dL	378 mg/dL	230 mg/dL	278 mg/dL

Dari hasil pengamatan pada tabel tersebut di atas dapat disimpulkan bahwa pemberian *streptozotosin* 2,5% dengan volume pemberian rata-rata 0,3 ml pada setiap tikus percobaan sudah dapat memberikan kenaikan kadar gula darah yang nyata, ditunjukkan dari peningkatan kadar gula darah yang dihasilkan dari sebelum diberi induksi dengan setelah diberi induksi sangat signifikan. Oleh karena itu, dosis *streptozotosin* 2,5% dengan volume pemberian rata-rata 0,3 ml dipilih sebagai rangsangan kenaikan kadar gula darah tikus menjadi diabetes dipergunakan untuk percobaan selanjutnya.

3.10.5 Pengukuran penyembuhan luka pada hewan uji

Tikus percobaan yang telah dipersiapkan ditempatkan di dalam kandang masing-masing secara terpisah dengan ukuran tinggi 20 cm, lebar 20 cm dan panjang 30 cm, lalu dipelihara dan diadaptasikan terhadap lingkungan selama 1 minggu. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok dan setiap kelompoknya terdiri dari 5 ekor tikus jantan yang terdiri dari:

Kelompok I : Diobati dengan salep EEDSr konsentrasi 2,5%

Kelompok II : Diobati dengan salep EEDSr konsentrasi 5%

Kelompok III : Diobati dengan salep EEDSr konsentrasi 7,5%

Kelompok IV : Diobati dengan salep gentamisin 1% yang beredar di pasaran

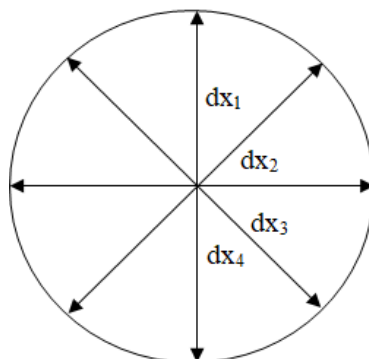
Kelompok V : Diobati dengan dasar salep tanpa EEDSr (blanko)

Masing-masing hewan percobaan yang telah diabetes, pada sebelah kanan atau kiri tulang belakang dicukur dan diberi tanda lingkaran berdiameter 2 cm. Di sekitar tanda tersebut disuntikkan injeksi lidokain sebanyak 0,7 ml secara subkutan, dibiarkan lebih kurang selama 5 menit, kemudian dibuat luka buatan pada kulit tikus sebesar tanda tersebut sampai pada lapisan dermis dengan menggunakan pisau bedah yang telah disterilkan.

Kemudian luka dibersihkan dengan larutan NaCl 0,9% steril, selanjutnya dibiarkan selama 24 jam dan diamati. Kemudian luka dicuci kembali dengan larutan NaCl 0,9%, masing masing diolesi bahan uji sesuai kelompok sebanyak 1 gram, ditutup dengan kasa steril dan diplester, lalu dibiarkan selama 24 jam. Setelah 24 jam diukur kembali diameter luka dan diamati tebal edema. Demikian dikerjakan seterusnya, untuk seluruh kelompok hewan sesuai masing-masing bahan uji, secara berulang dengan interval waktu 24 jam sekali sampai luka tertutup (sembuh).

3.11 Perhitungan Persentase Penyembuhan

Diameter rata-rata luka dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:



$$dx = \frac{dx_1 + dx_2 + dx_3 + dx_4}{4} \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan:

dx = diameter luka hari ke x

dx₁ = diameter 1

dx₂ = diameter 2

dx₃ = diameter 3

dx₄ = diameter 4

Persentase penyembuhan luka dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$px = \frac{d_1 - dx_2}{d_1} \times 100\% \dots\dots\dots(2)$$

Keterangan:

px = persentase luka hari ke-x

d₁ = diameter rata-rata luka mula-mula

dx = diameter luka hari ke-x (Suratman,dkk 1996).

3.12 Perhitungan Statistik Terhadap Hasil yang Diperoleh

3.12.1 Menghitung simpangan baku (standar deviasi)

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(\bar{x} - x)^2}{n-1}} \dots\dots\dots (3)$$

Keterangan:

SD = standar deviasi

x = diameter luka

\bar{x} = diameter rata-rata luka

n = jumlah perlakuan

Untuk menghitung t dapat digunakan rumus $t_{hitung} = \frac{|\bar{x} - x|}{SD / \sqrt{n}}$

Keterangan:

\bar{x} = diameter rata-rata luka

x = diameter luka

SD = standar deviasi

n = jumlah perlakuan

Menelaah apakah semua data yang dikerjakan dapat diterima atau ditolak dengan melihat t_{hitung} dan t_{tabel} dengan dasar penolakan data adalah $-t_{tabel} < t_{hitung} < t_{tabel}$ atau $-t_{tabel} > t_{tabel}$.

Untuk mencari kadar sebenarnya dengan $\alpha = 0,01$; $dk = n-1$, dapat digunakan

$$\text{rumus, } \mu = \bar{x} \pm t_{(1-1/2\alpha, dk)} \times \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

Keterangan:

μ = interval kepercayaan

SD = standar deviasi

\bar{x} = diameter rata-rata luka

n = jumlah perlakuan

α = tingkat kepercayaan

dk = derajat kebebasan ($n-1$)

t = harga t_{tabel} sesuai dk ($n-1$)

3.12.2 Uji ANAVA

Pengujian efektivitas penyembuhan luka buatan pada kulit tikus dengan berbagai kelompok perlakuan pemberian sediaan salep yang mengandung ekstrak etanol daun sambung rambat berbagai konsentrasi, kelompok kontrol yang diberikan salep gentamisin yang beredar di pasaran, kelompok yang diberi dasar salep, akan diperoleh hasil yang berbeda-beda.

Setelah data persentase penyembuhan luka diperoleh, selanjutnya data yang diperoleh diuji menggunakan metode One-Way ANOVA (*Analisis Of Variansi*). Tujuan dari ANAVA yaitu untuk mengetahui ada perbedaan yang bermakna atau tidak penyembuhan luka antar kelompok perlakuan.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Identifikasi/Determinasi Tumbuhan

Tumbuhan yang digunakan sebagai sampel diidentifikasi/dideterminasi yang dikirim ke *Herbarium Medanense (MEDA)*, Universitas Sumatera Utara Medan. Dinyatakan bahwa tumbuhan yang diuji adalah sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth), famili Asteraceae. Hasil identifikasi dapat dilihat pada Lampiran 1 halaman 70.

4.2 Hasil Pemeriksaan Kadar Air Simplisia

Hasil pemeriksaan kadar air terhadap simplisia daun sembung rambat adalah sebesar 6,6%. Persyaratan kadar air simplisia adalah kurang dari 10% (Ditjen POM, 1989). Penetapan kadar air ini dilakukan untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air didalam suatu simplisia (Ditjen POM, 1989). Untuk menjaga stabilitas simplisia, karena kandungan air dalam simplisia merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi aktivitas metabolisme seperti aktivitas enzim, mikroba dan aktivitas kimia yaitu terjadinya ketengikan dan reaksi non enzimatis sehingga menimbulkan perubahan sifat-sifat organoleptis simplisia. Pada tingkat kadar air 6% atau kurang dari 10% simplisia dapat disimpan dalam waktu relatif lebih lama dan terhindar dari pencemaran yang disebabkan oleh mikroba, semakin besar kadar air pada simplisia, maka masa penyimpanan simplisia akan semakin singkat karena simplisia akan mudah rusak oleh mikroba.

4.3 Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sembung Rambat

Hasil pembuatan simplisia dari 10.000 gram simplisia segar diperoleh simplisia kering sebanyak 2.000 gram. Hasil ekstraksi terhadap 1.600 gram serbuk

simplisia daun sembung rambat menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 10 liter diperoleh ekstrak cair berwarna hijau kehitaman, setelah dirotary dengan menggunakan evaporator kemudian dikeringkan dengan cara diuapkan di atas *hot plate* dengan suhu serendah mungkin (sekitar 60°C) sehingga diperoleh ekstrak kering sebanyak 300 ml berwarna hijau kehitaman dengan bau yang khas.

4.4 Hasil Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung didalam simplisia daun sembung rambat. Hasil skrining fitokimia terhadap daun sembung rambat, simplisia dan ekstrak etanol daun sembung rambat dapat dilihat pada Tabel 4.1 di bawah ini.

Tabel 4.1. Hasil skrining fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap daun segar, simplisia dan ekstrak daun sambung rambat. Hasilnya sebagai berikut:

No	Golongan Senyawa Kimia	Daun Sembung Rambat Segar	Serbuk Simplisia Daun Sembung Rambat	Ekstrak Etanol Daun Sembung Rambat
1.	Alkaloid	+	+	+
2.	Flavonoid	+	+	+
3.	Glikosida	+	+	+
4.	Saponin	+	+	+
5.	Steroid	+	+	+
6.	Tanin	+	+	+

Keterangan: + = mengandung senyawa kimia

Tabel 4.1 di atas menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan golongan senyawa kimia metabolit skunder yang terkandung di dalam daun sembung rambat segar, simplisia dan ekstrak etanol daun sembung rambat, sehingga dapat disimpulkan bahwa selama proses pembuatan ekstrak tidak terjadi kerusakan kandungan senyawa kimia di dalam daun sembung rambat. Dengan adanya

kandungan senyawa kimia di dalam ekstrak etanol daun sembung rambat terutama golongan flavonoid, saponin, tanin dan steroid maka kemungkinan ekstrak etanol daun sembung rambat dapat mempunyai efektifitas terhadap penyembuhan luka. Pada pemeriksaan flavonoid dengan penambahan serbuk Mg, amil alkohol dan asam klorida kemudian dikocok kuat memberikan warna kuning jingga yang menunjukkan adanya flavonoid. Pemeriksaan glikosida, pada gugus glikon memberikan hasil positif dengan terbentuknya cincin coklat pada penambahan pereaksi Molish dan glikosida gugus aglikon memberikan hasil positif dengan terbentuknya warna hijau pekat pada penambahan asam asetat anhidrat (reaksi Liebermann-baueard).

Pada pemeriksaan alkaloid memberikan hasil positif dengan penambahan pereaksi Mayer memberikan warna endapan putih kekuningan, dengan penambahan penambahan pereaksi Dragendorff dan Baughardat memberikan endapan coklat. Pada pemeriksaan tanin memberikan hasil positif setelah penambahan feri klorida 1% dengan terbentuknya warna hijau. Pada pemeriksaan saponin hasil positif dengan terbentuknya busa yang stabil setelah pengocokan dan busa tidak hilang setelah penambahan asam klorida (Harborne, 1996).

4.5 Hasil Uji Evaluasi Sediaan Salep

4.5.1 Hasil uji homogenitas

Pengamatan homogenitas dapat dilakukan dengan mengoleskan sediaan pada sekeping kaca, lalu diratakan, jika tidak ada butiran-butiran pada sekeping kaca, maka sediaan dapat dikatakan homogen. Hasil penelitian yang telah dilakukan pada sediaan salep dari ekstrak etanol daun sembung rambat tidak terdapat butiran-butiran pada sekeping kaca, maka sediaan tersebut dikatakan homogen (Ditjen POM, 1979).

Hasil uji homogenitas dapat dilihat pada Tabel 4.2 di bawah ini:

Tabel 4.2 Hasil uji homogenitas sediaan salep

No	Formula	Hasil
1.	Dasar Salep	Homogen
2.	Salep EEDSr 2,5%	Homogen
3.	Salep EEDSr 5%	Homogen
4.	Salep EEDSr 7,5%	Homogen

Keterangan: EEDSr = Ekstrak Etanol Daun Sembung rambat

Tabel 4.2 di atas menunjukkan bahwa ke-4 formula sediaan salep memiliki homogenitas yang baik yaitu tidak mengandung butiran-butiran atau pertikel-partikel kasar yang belum terlarut.

4.5.2 Hasil uji pH

pH sediaan untuk kulit tidak boleh terlalu asam karena dapat mengiritasi kulit dan tidak boleh terlalu basa karena dapat membuat kulit menjadi bersisik. Derajat keasaman (pH) untuk sediaan salep sebaiknya berkisar 5-8. Tujuan dari uji pH adalah untuk mengetahui pH sediaan yang dibuat sesuai dengan pH untuk sediaan kulit (Dureja, *et al*, 2010). Nilai pH sediaan salep ekstrak etanol daun sembung rambat dapat dilihat pada Tabel 4.3 di bawah ini:

Tabel 4.3 Hasil pengukuran pH sediaan

No	Formula	pH			
		I	II	III	Rata-rata
1.	Dasar Salep	6,1	6,0	6,0	6,03
2.	Salep EEDSr 2,5%	6,3	6,3	6,2	6,26
3.	Salep EEDSr 5%	6,2	6,1	6,2	6,16
4.	Salep EEDSr 7,5%	6,1	6,1	6,2	6,13

Keterangan: EEDSr = Ekstrak Etanol Daun Sembung rambat

Dari hasil Tabel 4.3 menunjukkan bahwa pH seluruh formula sediaan salep yang diuji berkisar 6,03 - 6,26. masih berada dalam range pH kulit yaitu 5-8 sehingga

dapat disimpulkan bahwa sediaan salep yang mengandung ekstrak etanol daun sembung rambat tidak mengiritasi kulit.

4.5.3 Hasil pengamatan stabilitas sediaan

Hasil pengamatan terhadap kestabilan formula sediaan salep yang dibuat, pada penyimpanan pada suhu kamar dan diamati setiap minggu dapat dilihat pada Tabel 4.4 di bawah ini:

Tabel 4.4 Hasil pengamatan terhadap kestabilan sediaan

Formula	Pengamatan Selama Penyimpanan											
	selesai dibuat			1 Minggu			2 Minggu			4 Minggu		
	X	Y	Z	X	Y	Z	X	Y	Z	X	Y	Z
Dasar Salep	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salep EESr 2,5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salep EEDSr 5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salep EEDSr 7,5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan: EEDSr = Ekstrak Etanol Daun Sembung rambat

- X : konsistensi
 Y : perubahan bau dan warna
 Z : mudahnya pengolesan
 + : terjadi perubahan
 - : tidak terjadi perubahan

Rusak atau tidaknya sediaan dapat diamati dengan adanya perubahan warna, perubahan bau atau konsistensi mudahnya pengolesan. Kerusakan ini dapat ditimbulkan oleh adanya kandungan bahan yang bersifat mudah terurai atau teroksidasi karena tumbuhnya mikroorganisme. Tabel 4.4 di atas menunjukkan bahwa seluruh formula yang dibuat mengandung ekstrak etanol daun sembung rambat diberbagai konsentrasi stabil pada penyimpanan sampai minggu ke-4.

4.5.4 Hasil uji iritasi

Uji iritasi dilakukan terhadap 6 orang sukarelawan. Jumlah 6 orang sukarelawan berdasarkan jumlah minimal dari perhitungan sampel dan jumlah ini

telah memenuhi perwakilan sampel (Sugandi dan Sugiarto, 1993). Formula yang dipilih adalah formula salep yang mengandung ekstrak etanol daun sembung rambat dengan konsentrasi paling tinggi yaitu 7,5% hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 4.5 berikut ini:

Tabel 4.5 Hasil pengamatan uji iritasi terhadap kulit sukarelawan

No	Pernyataan	Sukarelawan					
		I	II	III	IV	V	VI
1	Eritema	-	-	-	-	-	-
2	Eritema dan papula	-	-	-	-	-	-
3	Eritema, papula dan edema	-	-	-	-	-	-

Keterangan: - = tidak ada reaksi

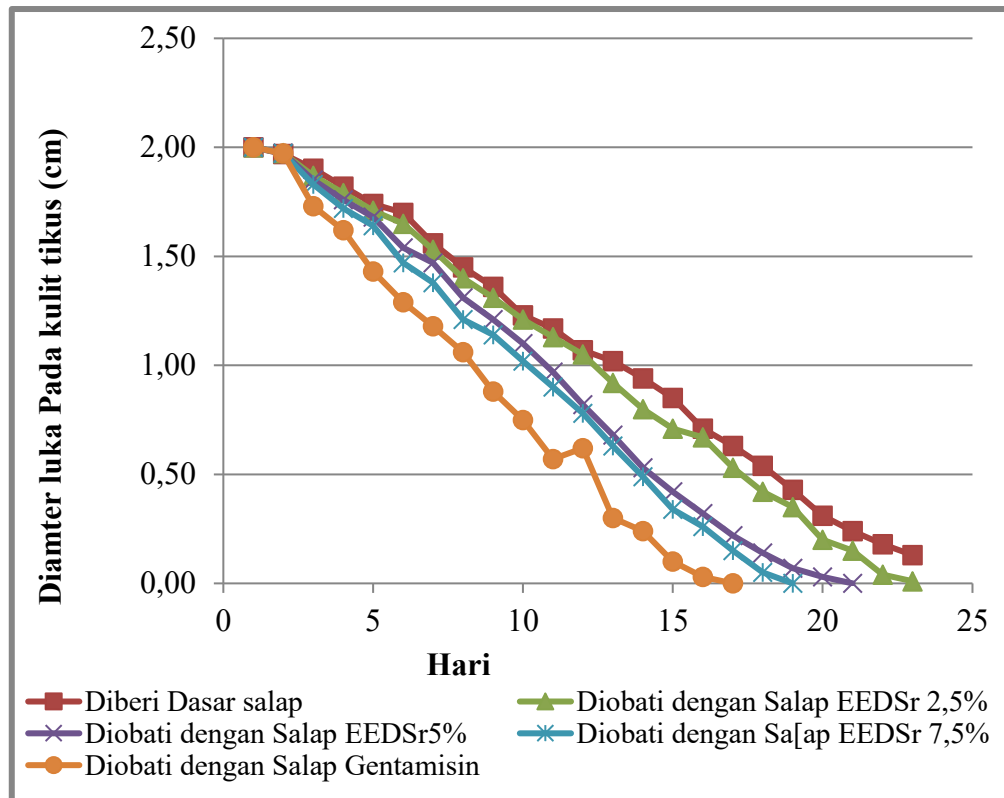
Uji iritasi terhadap kulit untuk mengetahui ada atau tidaknya efek samping, dilakukan dengan cara salep dioleskan pada belakang telinga, kemudian dibiarkan 24 jam dan dilihat perubahan yang terjadi berupa kemerahan, gatal dan pengkasaran pada kulit. Tabel 4.5 di atas menunjukkan tidak terlihat adanya efek samping yang ditimbulkan oleh sediaan. Maka dapat disimpulkan bahwa sediaan salep yang mengandung ekstrak etanol daun sembung rambat tidak menyebabkan iritasi pada kulit (Wasitaatmadja, 1997).

4.6 Hasil Uji Efektivitas Penyembuhan Luka Buatan

Uji penyembuhan luka dilakukan terhadap luka buatan pada kulit tikus jantan diabetes yang diinduksikan dengan *streptozotosin*. Hasil pengujian efektivitas sediaan salep yang mengandung ekstrak etanol daun sembung rambat diperoleh dengan cara pengukuran diameter luka tikus yang menurun setiap hari setelah diberikan berbagai bahan uji sesuai kelompok perlakuan dan dihitung persen penurunan diameter luka sebagai parameter persen penyembuhan luka.

Tabel 4.6. Hasil pengukuran diameter luka hewan percobaan

Hari Ke	Penurunan Diameter Luka Dari Berbagai Kelompok Perlakuan (cm)				
	Dasar Salep	Salep EEDSr 2,5%	Salep EEDSr 5,0%	Salep EEDSr 7,5%	Salep Gentamisin 1%
1	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
2	1,97	1,97	1,97	1,97	1,97
3	1,90	1,87	1,85	1,83	1,73
4	1,82	1,79	1,76	1,72	1,62
5	1,74	1,71	1,68	1,64	1,43
6	1,70	1,65	1,54	1,47	1,29
7	1,56	1,53	1,47	1,38	1,18
8	1,45	1,40	1,31	1,21	1,06
9	1,36	1,31	1,21	1,14	0,88
10	1,23	1,21	1,10	1,02	0,75
11	1,17	1,13	0,97	0,90	0,57
12	1,07	1,05	0,82	0,78	0,62
13	1,02	0,92	0,68	0,63	0,30
14	0,94	0,80	0,53	0,49	0,24
15	0,85	0,71	0,42	0,34	0,10
16	0,71	0,67	0,32	0,26	0,03
17	0,63	0,53	0,22	0,15	0,00
18	0,54	0,42	0,14	0,05	
19	0,43	0,35	0,07	0,00	
20	0,31	0,20	0,03		
21	0,24	0,15	0,00		
22	0,18	0,04			
23	0,13	0,01			
24	0,07	0,00			
25	0,02				
26	0,00				

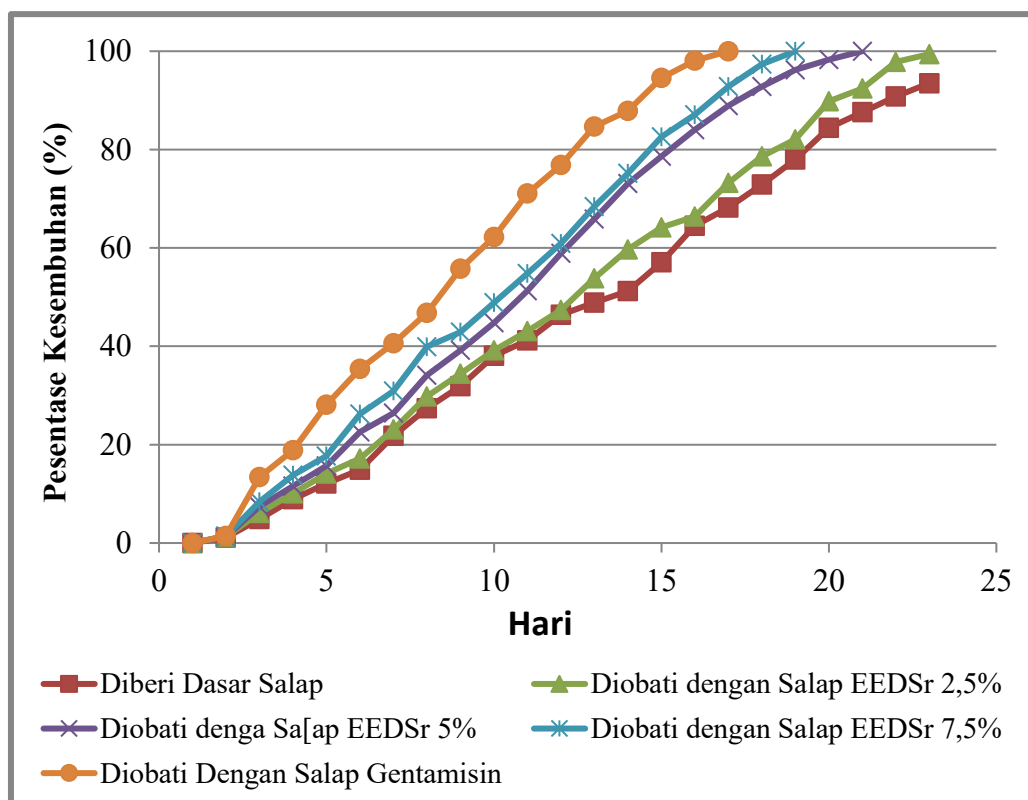


Gambar 4.1. Grafik diameter penurunan diameter luka

Tabel 4.7. Hasil persen kesembuhan luka hewan percobaan

Hari Ke	Persentase Kesembuhan Luka Dari Berbagai Kelompok Perlakuan (cm)				
	Dasar Salep	Salep EEDSr 2,5%	Salep EEDSr 5,0%	Salep EEDSr 7,5%	Salep Gentamisin 1%
1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2	1,10	1,30	1,30	1,40	1,40
3	4,90	6,10	7,40	8,40	13,40
4	8,90	10,10	11,60	13,80	18,90
5	12,10	14,10	25,70	17,70	28,10
6	14,90	17,20	22,60	26,20	35,40
7	21,80	23,10	26,40	30,90	40,60
8	27,40	29,80	34,10	39,90	46,80
9	31,90	34,40	39,20	42,90	55,80
10	38,10	39,30	44,80	48,90	62,20
11	41,20	43,10	51,30	54,80	71,10
12	46,40	47,40	58,90	60,90	76,90
13	48,90	53,80	65,90	68,40	84,70
14	71,20	59,70	73,10	75,20	87,90
15	57,10	64,20	78,60	82,60	94,60
16	64,50	66,40	84,00	87,10	98,10

17	68,20	73,20	88,90	92,80	100,00
18	72,90	78,60	92,80	97,40	
19	78,00	82,10	96,20	100,00	
20	84,40	89,80	98,30		
21	87,60	92,40	100,00		
22	90,80	97,80			
23	93,50	99,40			
24	96,30	100,00			
25	98,80				
26	100,00				



Gambar 4.2. Grafik persentase penyembuhan luka

Tabel 4.6, Tabel 4.7, Gambar 4.1 dan Gambar 4.2 di atas menunjukkan bahwa waktu penyembuhan luka untuk kelompok tikus yang diobati dengan dasar salep adalah selama 26 hari, dan yang diberikan sediaan salep yang mengandung ekstrak etanol daun sembung rambat penyembuhan luka semakin cepat yaitu pada konsentrasi 2,5% membutuhkan waktu 24 hari, pada konsentrasi 5% membutuhkan waktu 21 hari sedangkan pada konsentrasi 7,5% membutuhkan waktu 19 hari.

Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun sembung rambat yang terkandung di dalam sediaan salep maka waktu penyembuhan luka semakin cepat. Untuk kelompok tikus yang diberi pengobatan dengan sediaan salep gentamisin 1% menunjukkan waktu penyembuhan selama 17 hari.

Berdasarkan hasil skrining fitokimia yang dilakukan daun sembung rambat mengandung beberapa golongan senyawa kimia di antaranya flavonoid, saponin dan tanin. Flavonoid dapat meningkat proses mitogenesis interaksi sel serta adhesi molekul yang sangat berperan pada fase proliferasi sel yang mempercepat proses penyembuhan jaringan luka. flavonoid mampu mengatur fungsi sel dengan cara merangsang produksi TGF- β (*Transforming Growth Factor- β*) yang dapat meningkatkan migrasi dan proliferasi fibroblas di daerah jejas luka (Sabir *et al*, 2005) dan menginduksi VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) yang berperan dalam pembentukan pembuluh darah baru. Semakin banyak pembuluh darah baru, maka proses penyembuhan luka dapat berlangsung lebih cepat. Selain itu flavonoid juga memperpendek waktu peradangan (inflamasi) yang dapat menghambat penyembuhan (Taqwim *et al*, 2011).

Selain flavonoid senyawa saponin juga berperan dalam proses penyembuhan luka karena, saponin memacu pembentukan kolagen, yaitu protein yang berperan dalam proses penyembuhan luka (Suratman, *et al*, 1995). Saponin berfungsi meningkatkan pembentukan pembuluh darah baru pada luka sehingga suplai oksigen dan nutrisi lebih banyak, juga mempunyai kemampuan sebagai antiseptik berfungsi menghambat/membunuh pertumbuhan mikroorganisme. Sementara senyawa tanin berfungsi sebagai adstrigen dapat menciutkan pori-pori kulit membentuk jaringan baru dan antibakteri. Asam askorbat memperkuat dan mempercepat pertumbuhan

jaringan ikat (kolagen). Hal ini dapat membuktikan bahwa sediaan salep hidrofil yang mengandung ekstrak etanol daun sembung rambat dapat menyembuhkan luka.

Oleh karena terlihat adanya perbedaan persen penyembuhan luka pada berbagai kelompok perlakuan dari salep yang mengandung ekstrak etanol daun sembung rambat, maka dilakukan uji statistik Analisa Varian (ANOVA) dan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui terdapatnya perbedaan persentase penyembuhan luka yang signifikan dari berbagai kelompok perlakuan tersebut.

4.7 Hasil Uji ANOVA dan BNT

Data yang diperoleh dari hasil pengukuran diameter luka setiap hari selama percobaan dihitung sebagai persentase penyembuhan luka dan terlihat hasilnya saling berbeda diantara berbagai kelompok perlakuan, maka untuk melihat terdapatnya perbedaan yang signifikan hasil yang diperoleh dari berbagai kelompok perlakuan yang diberi dasar salep tanpa mengandung bahan uji, yang diberi salep yang mengandung ekstrak etanol daun sembung rambat 2,5%, 5%, 7,5%, dan yang diberi salep gentamisin yang beredar di pasaran dilakukan uji statistik, yaitu uji Analisa Varian (ANOVA). Data dan perhitungan dapat dilihat pada lampiran 25-30, dan hasil perhitungan uji ANOVA dapat dilihat pada Tabel 4.8 sebagai berikut:

Tabel 4.8 Hasil uji analisa variansi (ANOVA)

No	Hari ke-	F ₀	F _{tabel}	
			5%	1%
1	2	1,14	2,87	4,43
2	3	119,14		
3	17	2768,17		
4	18	3661,49		
5	19	2730,70		
6	21	3246,20		

Tabel 4.8 di atas menunjukkan perolehan harga F_0 pada hari ke-2 = 1,14 yang menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dari semua kelompok perlakuan dan persentase efektivitas penyembuhan luka yang dihasilkan sama dengan pada kelompok yang diberi dasar salep, berarti seluruh kelompok perlakuan belum ada persentase penyembuhan luka yang bermakna.

Harga F_0 pada hari ke-3 = 119,14, pada hari ke-17 = 2768,17, pada hari ke-18 = 3661,49, pada hari ke-19 = 2730,70, pada hari ke-21 = 3246,20. Semua harga F_0 yang diperoleh $> F_{\text{tabel}} (4;20)$, 1% = 4,43 ; 5% = 2,87, berarti terdapat perbedaan yang signifikan persen kesembuhan luka diantara berbagai kelompok perlakuan, maka dilanjutkan ke uji beda nyata terkecil (BNT $\alpha = 0,01$ dan 0,05) untuk mengetahui kelompok yang mempunyai perbedaan dan yang tidak mempunyai perbedaan yang signifikan diantara berbagai kelompok perlakuan. Data dan hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 25-30, dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 4.9 sebagai berikut:

Tabel 4.9 Hasil perhitungan uji BNT

Hari ke-	Perlakuan	Persen Kesembuhan Luka Rata-Rata (%)	Beda dengan			
			Dasar Salep	Salep Gentamisin	Salep EEDSr 2,5%	Salep EEDSr 5%
3	Dasar salep	4,90	-	-	-	-
	Salep gentamisin 1%	13,40	8,40	-	-	-
	Salep EEDSr 2,5%	6,10	1,20	7,30	-	-
	Salep EEDSr 5%	7,10	2,50	6,00	1,30	-
	Salep EEDSr 7,5%	8,10	3,50	5,00	2,30	1,00
	BNT 0,05 = 0,330			BNT 0,01 = 0,450		
17	Dasar salep	68,20	-	-	-	-
	Salep gentamisin 1%	100,00	31,50	-	-	-
	Salep EEDSr 2,5%	73,20	5,00	26,80	-	-
	Salep EEDSr 5%	88,88	20,68	11,12	15,68	-
	Salep EEDSr 7,5%	92,60	24,40	7,40	19,40	3,72
	BNT 0,05 = 0,280			BNT 0,01 = 0,382		

18	Dasar salep	72,90	-	-	-	-
	Salep gentamisin 1%	100,00	27,10	-	-	-
	Salep EEDSr 2,5%	78,60	5,70	21,40	-	-
	Salep EEDSr 5%	92,80	19,90	7,20	14,20	-
	Salep EEDSr 7,5%	97,40	24,50	2,60	18,80	4,60
	BNT 0,05 = 0,217			BNT 0,01 = 0,296		
19	Dasar salep	78,00	-	-	-	-
	Salep gentamisin 1%	100,00	22,00	-	-	-
	Salep EEDSr 2,5%	82,10	4,10	17,90	-	-
	Salep EEDSr 5%	96,20	18,20	3,80	14,10	-
	Salep EEDSr 7,5%	100,00	22,00	0,00	17,90	3,80
	BNT 0,05 = 0,220			BNT 0,01 = 0,300		
21	Dasar salep	87,70	-	-	-	-
	Salep gentamisin 1%	100,00	12,30	-	-	-
	Salep EEDSr 2,5%	92,40	4,70	7,60	-	-
	Salep EEDSr 5%	100,00	12,30	0,00	7,60	-
	Salep EEDSr 7,5%	100,00	12,30	0,00	7,60	0,00
	BNT 0,05 = 0,220			BNT 0,01 = 0,300		

Tabel 4.9 di atas menunjukkan hasil uji BNT dapat dilihat bahwa:

- Pada hari ke-3 sampai hari ke-18, menunjukkan terdapat perbedaan persentase kesembuhan luka pada tikus dari seluruh kelompok perlakuan.
- Pada hari ke-19 menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan penyembuhan luka pada tikus dari kelompok perlakuan yang diberikan salep gentamisin (sebagai kelompok pembanding) dan kelompok yang diberi bahan uji EEDSr 7,5%.
- Pada hari ke-21, menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan penyembuhan luka pada tikus dari kelompok perlakuan yang diberikan salep gentamisin (sebagai kelompok pembanding) dan kelompok yang diberi bahan uji EEDSr 5 % dan EEDSr 7,5%.

Maka dapat disimpulkan bahwa pemberian salep EEDSr 5% paling baik untuk penyembuhan luka tikus diabetes yang diinduksi dengan *streptozotosin* karena tidak

berbeda signifikan dengan kelompok yang diberikan salep EEDSr 7,5% dan gentamisin.

Dengan pemberian sediaan salap dosis ekstrak etanol daun sembung rambat yang lebih kecil memberikan hasil yang tidak berbeda nyata dengan dosis yang lebih besar dan dengan salap gentamisin yang beredar di pasaran sebagai pembanding, maka dapat disimpulkan pemberian salep EEDSr 5% memberikan hasil yang terbaik.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

- a. Daun sembung rambat segar, simplisia, ekstrak etanol nya mengandung senyawa kimia metabolit sekunder yang sama yaitu alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, tanin dan steroid/triterpenoid.
- b. Ekstrak etanol daun sembung rambat dapat diformulasikan ke dalam sediaan salep hidrofil dan memenuhi syarat fisik sediaan yaitu sediaan salep hidrofil yang homogen, pH 6,16, stabil dalam penyimpanan selama 4 minggu serta tidak menimbulkan iritasi pada kulit sukarelawan.
- c. Sediaan salep hidrofil yang mengandung ekstrak etanol daun sembung rambat dapat menyembuhkan luka buatan pada kulit tikus yang telah diinduksi diabetes dengan *streptozotosin*.
- d. Pada hari ke-19 persentase kesembuhan luka pada tikus diabetes tidak berbeda nyata antara pemberian salep hidrofil EEDSr 7,5% dan salap gentamisin dari pasaran, dan pada hari ke-21 tidak berbeda nyata antara pemberian sediaan salep hidrofil EEDSr 5%, EEDSr 7,5% dan salap gentamisin di pasaran. Maka pemberian salep hidrofil EEDSr 5% memberikan hasil yang paling baik.

5.2 Saran

Disarankan kepada peneliti selanjutnya agar dapat membuat ekstrak etanol daun sambung rambat ke dalam sediaan bentuk lainnya. Misalnya krim, gel yang diuji untuk penyembuhan luka dan efektivitas lainnya, misalnya obat jerawat dan anti jamur.

DAFTAR PUSTAKA

- Adji, D. (2008). Hubungan Konsentrasi Malondialdehida, Glukosa, dan Total Kolesterol Pada Tikus Putih yang Diinjeksi dengan Streptozotocin. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada. Hal: 73-74.
- Alwan A. A. S. (1994). Management of Diabetes Mellitus Standards of Care and Clinical Practice Guidelines. In Drafi J. Med. 19(4).
- Anief, M. (2005). Ilmu Meracik Obat. Yogyakarta: UGM Press.
- Anief, M., (1994). Farmasetika. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Ardinata, *et al.*, (2022). Formulasi dan Evaluasi Salep Hidrofilik dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Daun Binahong (*Anredara scandens* L. Moq.). Bali: Universitas Bali Internasional.
- Berata, I. K. (2023). Budidaya dan Manfaat Hewan Coba Mencit dan Tikus. Yogyakarta: Bintang Semesta Media. Hal: 1-2.
- Cowan, M. (1999). Plant Product as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12:564-582
- Depkes RI. (2020). FARMAKOPE INDONESIA EDISI 6. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Ditjen POM. (1979). *Farmakope Indonesia. Edisi III*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Halaman 649,748.
- Fatimah, C. (2004). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Angsana (*Pterocarpus indicus* wild) Secara In Vitro dan Efek Penyembuhan Sediaan Salap Terhadap Luka Buatan Kulit Marmut yang Diinfeksi. Sumatera Utara: Universitas Sumatera Utara.
- Gunawan, D dan Sri, M. (2004). *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) jilid 1*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Harnis, Z. E. (2018). Fraksinasi dan Karakterisasi Serta Uji Antiinflamasi Ekstrak Etanol dan Sambung Rambut (*Mikania cordata*(Burm.f) BL Rob) Terhadap Tikus Putih Jantan. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Jasmi, A. (2001). Luka. Tanggal akses 27 juni 2014 [http:// blog no sepuluh. Blogspot.com/2011/01/luka.html](http://blog.blogspot.com/2011/01/luka.html).
- Latifah, (2014). Skrining Efektivitas Ekstrak dan Fraksi Daun Sembung Rambut (*Mikania micrantha* Kunth) Terhadap Bakteri dan Dermatofita. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

- Munawwarah, (2017). Uji Aktivitas Salep Ekstrak Etanol Daun Rampakuek (*Mikania micrantha* Kunth) Terhadap Penyembuhan Luka Buatan Yang Diinfeksi Dengan *Staphylococcus aureus* Pada Kulit Marmut Jantan (*Cavia cobaya*). Medan: Universitas Tjut Nyak Dien. Hal: 1-2.
- Narian, *et al.* (2013). Salep Herbal Antimikroba Dari Ekstrak Gulma Sembung Rambat Untuk (*Mikania micrantha* Kunth) Untuk Menangani Luka Yang Terinfeksi Bakteri Resisten Penisilin. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Novita, *et al.*, (2017). Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Etanol *Pliek U* Sebagai Antibakteri. Aceh: Politeknik Kesehatan Kemenkes Aceh.
- Nurmawati, T. (2017). Studi Respon Fisiologis Dan Kadar Gula Darah Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Yang Terpapar Streptozotocin (STZ). Blitar: STIKes Patria Husada. Hal: 244-246.
- Prabawati, R. K. (2012). Mekanisme Seluler dan Molekuler Resistensi Insulin. Malang: Universitas Brawijaya.
- Pratiwi, S.T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga. Hal. 105-107
- Rawlins, E. A. (2003). Bentley's Textbook of Pharmaceutics. 18 th. London. Bailierre Tindall. P.22.355.
- Robinson, T. (1995). *The Organic Constituent of Hight Plant.Fourth Edition*. New York: University of Massachusetts. Terjemahan: Kokasih Padmawinata. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Edisi Empat. Hal. 71-72
- Sankara, K. V. (2013). *Mikania micrantha Mile-a-minute weed*. Kerala: Asia Pacific Invasive Species Network, Invasive Pest Fact Sheet.
- Saputra, *et al.* (2018) Agen Diabetagonik Streptozotocin Untuk Membuat Tikus Putih Jantan Diabetes Mellitus. Bali : Universitas Udayana. Hal: 117
- Sellers, B, *et al.* (2013). *Chinese Creeper (Mikania micrantha): A New Weed in South Florida*. University of Florida Extension. SS-AGR-328.
- Simanungkalit, R.D.M. (2000). Pemanfaatan Jamur Mikoriza Arbuskular Sebagai Pupuk Hayati Untuk Memberlanjutan Produksi Pertanian. Bandung: Universitas Padjajaran.
- Sjamsuhidajat, R. dan Jong, W.D. (2010). *Buku Ajar Ilmu Bedah*. Jakarta: EGC.
- Soegihardjo, C.J. (2013). *Farmakognosi*. Yogyakarta: PT Citra Aji Parama.
- Syamsuni. (2006). *Farmasetika Dasar dan Hitungan Farmasi*. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran.

Szkudelski T.(2001). The Mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of therat pancreas. *Physio. Res.* 50(6): 537-546.



Thomas, S, (2010). *Surgical Dressing and Wound Management*, South Wales: Metedec Publications.

World Health Organisation. (2003). Deffinition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. Report of a WHO Consultation. Geneva-Switzerland. S5-36.

Wilson GL. (1988). Mechanism of nitroroure induced beta cell damage. activation of poly (adp-ribose) syntase and cellular distribution. *Diabetes.* 37: 213-216.

Yaturu S. (2011). Obesity and type 2 diabetes. *J. Diabetes Mellitus.*1(4):10-6

Lampiran 1. Hasil determinasi sampel daun sembung rambat.

	LABORATORIUM SISTEMATIKA TUMBUHAN HERBARIUM MEDANENSE (MEDA) UNIVERSITAS SUMATERA UTARA Jl. Bioteknologi No.1 Kampus USU, Medan – 20155 Telp. 061 – 8223564 Fax. 061 – 8214290 E-mail: nursaharapasaribu@yahoo.com	
	Medan, 09 September 2024	
	No.	: 2688/MEDA/2024
	Lamp.	: -
Hal	: Hasil Identifikasi	
Kepada YTH, Sdr/i : Dina Aulia Rahmi NIM : 1905024 Instansi : STIKes Indah Medan		
Dengan hormat, Bersama ini disampaikan hasil identifikasi tumbuhan yang saudara kirimkan ke Herbarium Medanense, Universitas Sumatera Utara, sebagai berikut: Kingdom : Plantae Divisi : Spermatophyta Kelas : Dicotyledoneae Ordo : Asterales Famili : Asteraceae Genus : Mikania Spesies : <i>Mikania micrantha</i> Kunth. Nama Lokal: Daun Sembung Rambat		
Demikian, semoga berguna bagi saudara.		
		Kepala Herbarium Medanense.  <u>Prof. Dr. Etti Sartina Siregar S.Si., M.Si.</u> NIP. 197211211998022001

Lampiran 2. Hasil surat etik pada tikus (*Rattus norvegicus*).



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
FACULTY OF MEDICINE UNIVERSITY OF MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL
"ETHICAL APPROVAL"
No : 1329/KEPK/FKUMSU/2024

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
 The Research protocol proposed by

Peneliti Utama : Dina Aulia Rahmi
 Principal investigator

Nama Institusi : Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Indah Medan
 Name of the Institution : Institute of Health Science of Indah Medan

Dengan Judul
 Title

"UJI AKTIVITAS SALEP EKSTRAK DAUN SAMBUNG RAMBAT (*Mikania micrantha kunth.*) TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA BUATAN KULIT TIKUS DIABETES INDUKSIAN STREPTOZOTOSIN"

"ACTIVITY TEST OF SAMBUNG RAMBAT (*Mikania Micrantha Kunth.*) LEAF EXTRACT OINTMENT ON HEALING ARTIFICIAL WOUNDS ON THE SKIN OF STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS"

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah
 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Resiko, 5) Bujukan / Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan
 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion / Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicator of each standard.

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 21 Oktober 2024 sampai dengan tanggal 21 Oktober 2025
 The declaration of ethics applies during the periode Oktober 21, 2024 until Oktober 21, 2025


 Medan, 21 Oktober 2024
 Ketua
 Assoc. Prof. Dr. dr. Nurfadly, MKT

Lampiran 3. Tumbuhan segar, simplisia dan ekstrak daun sembung rambat.



Tumbuhan sembung rambat



Simplisia daun sembung rambat



Serbuk simplisia daun sembung rambat



Ekstrak cair daun sembung rambat

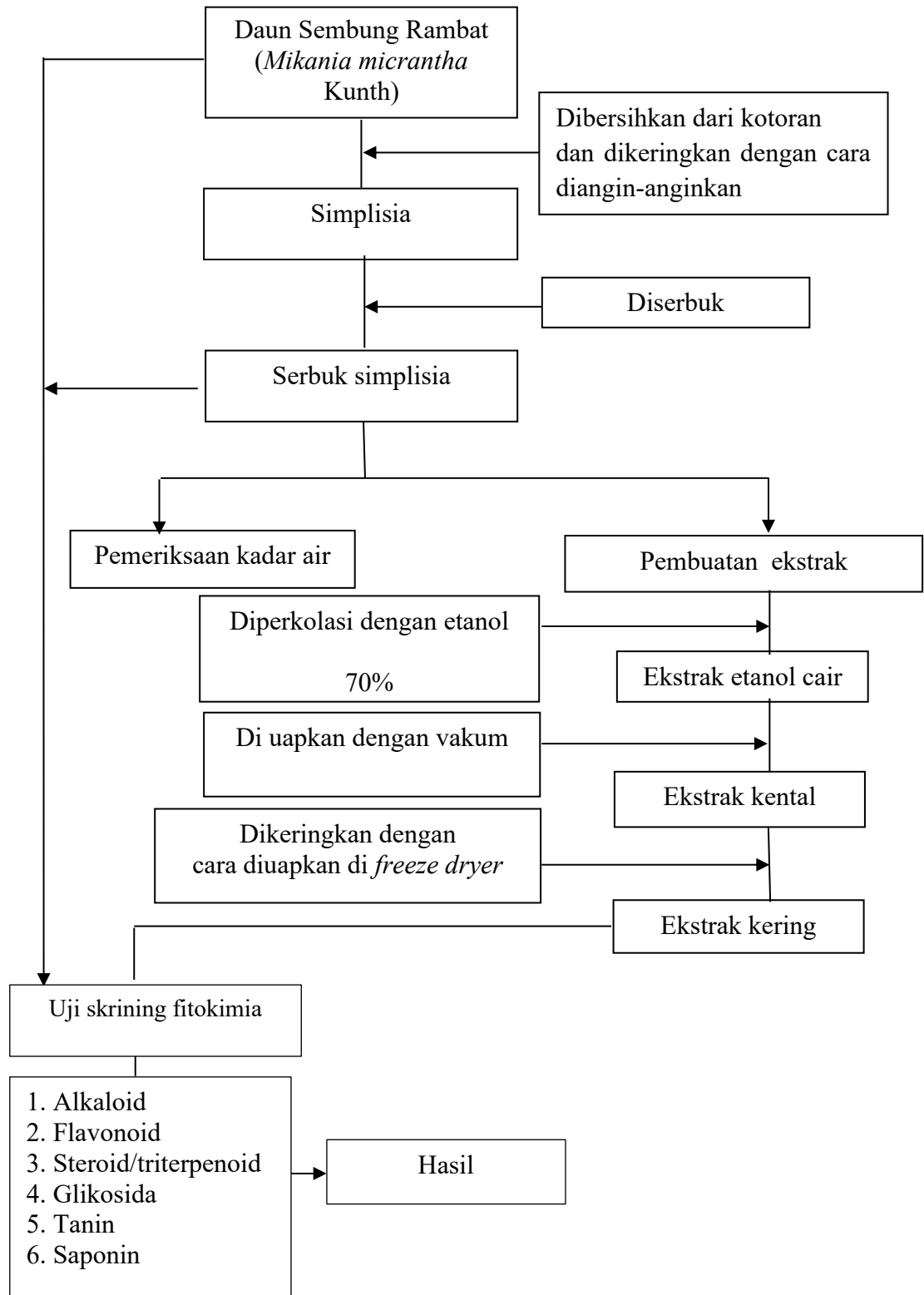


Ekstrak kering daun sembung rambat

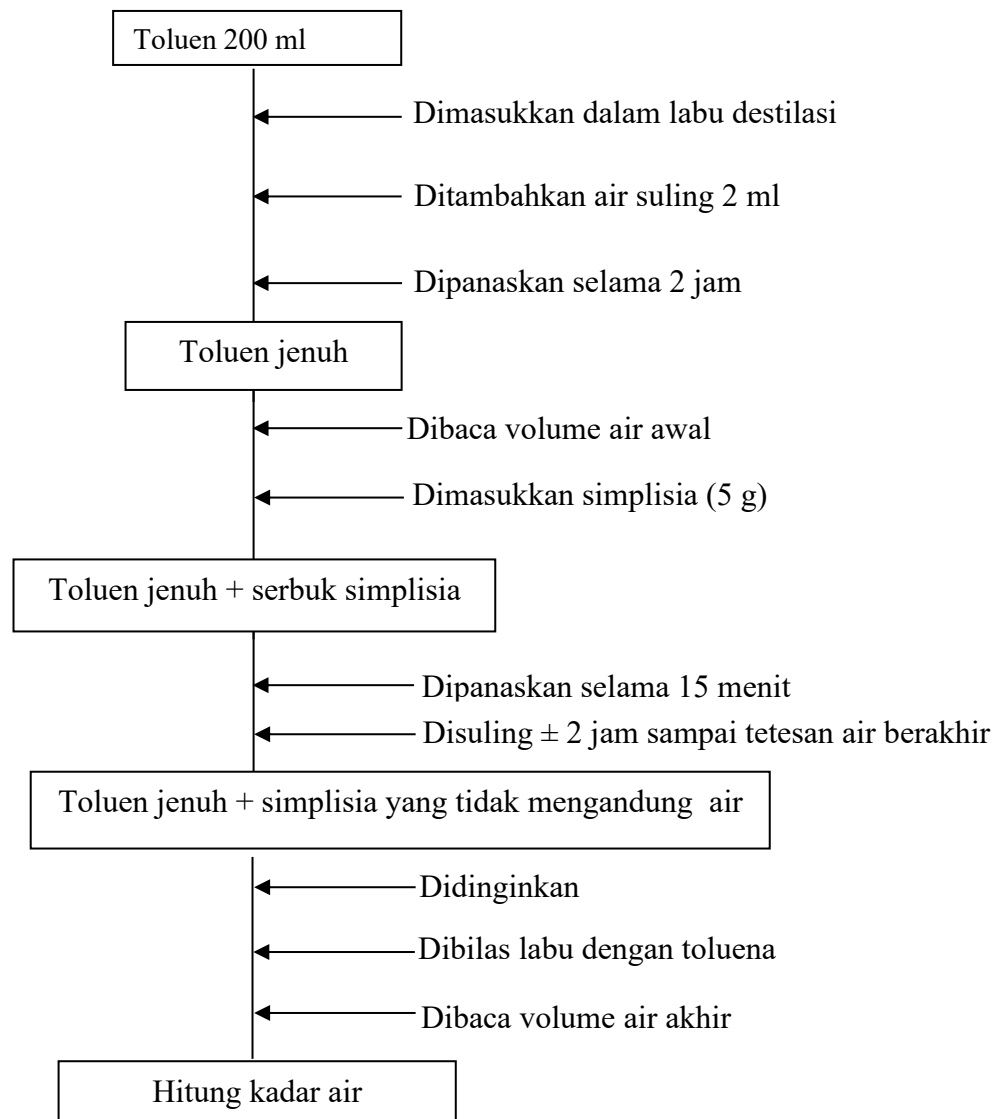


Alat penguapan *rotary evaporator*

Lampiran 4. Bagan alir pembuatan simplisia dan ekstrak etanol.



Lampiran 5. Bagan alir penetapan kadar air dari daun sembung rambat.



Lampiran 6. Perhitungan penetapan kadar air.

1. Perlakuan I

Berat Sampel = 5 gram

Volume awal air = 2,00 ml

Volume akhir air = 2,30 ml

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(\text{Volume akhir air} - \text{Volume awal air})\text{ml}}{\text{Berat Sampel (gram)}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(2,30 \text{ ml} - 2,00 \text{ ml})}{5,00 \text{ gram}} \times 100\% = 6\%$$

2. Perlakuan II

Berat Sampel = 5 gram

Volume awal air = 2,00 ml

Volume akhir air = 2,35 ml

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(\text{Volume akhir air} - \text{Volume awal air})\text{ml}}{\text{Berat Sampel (gram)}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(2,30 \text{ ml} - 2,00 \text{ ml})}{5,00 \text{ gram}} \times 100\% = 6\%$$

3. Perlakuan III

Berat Sampel = 5 gram

Volume awal air = 2,00 ml

Volume akhir air = 2,40 ml

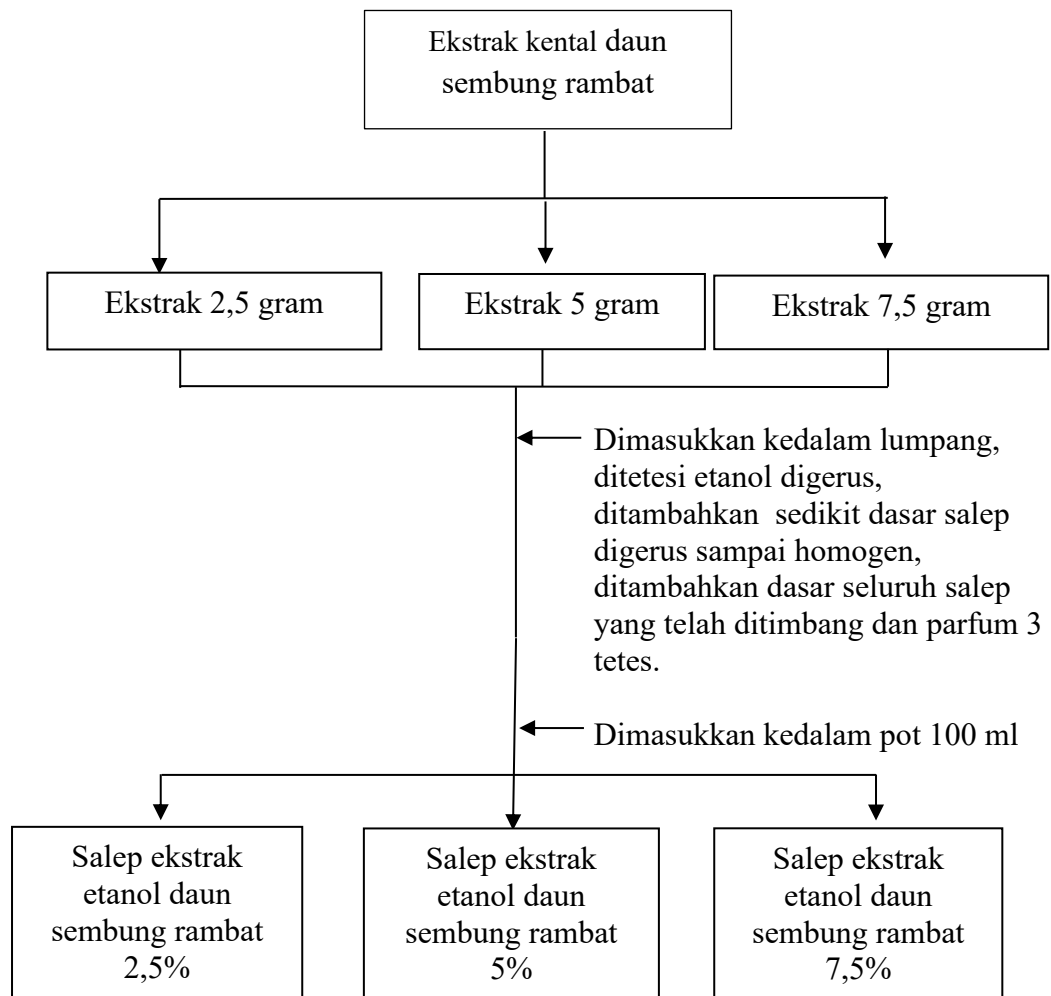
$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(\text{Volume akhir air} - \text{Volume awal air})\text{ml}}{\text{Berat Sampel (gram)}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(2,40 \text{ ml} - 2,00 \text{ ml})}{5,00 \text{ gram}} \times 100\% = 8\%$$

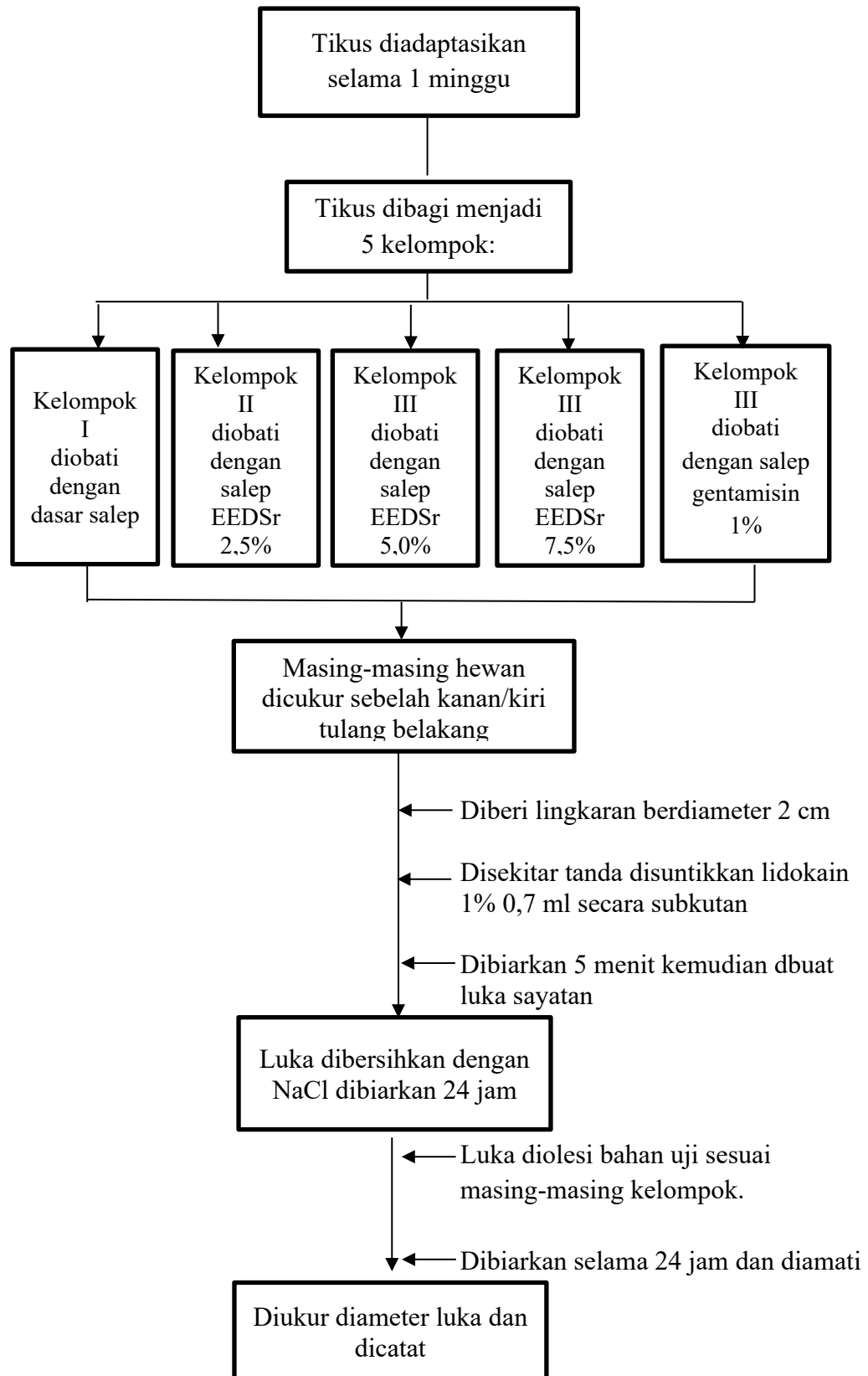
Maka, kadar air rata-rata =

$$\frac{\text{kadar air sampel I} + \text{kadar air sampel II} + \text{kadar air sampel III}}{3}$$

$$= \frac{(6\% + 6\% + 8\%)}{3} = 6,6\%$$

Lampiran 7. Bagan alir pembuatan salep.

Lampiran 8. Bagan alir pembuatan luka pada tikus.



Lampiran 9. Hasil skrining fitokimia daun sembung rambat.



Alkaloid daun segar



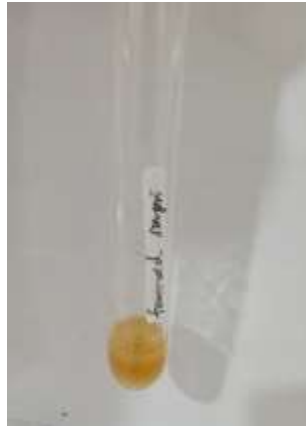
Alkaloid simplisia



Alkaloid ekstrak



Flavonoid daun segar



Flavonoid simplisia



Flavonoid ekstrak



Tanin daun segar



Tanin simplisia



Tanin ekstrak

Lampiran 9. Hasil skrining fitokimia (Lanjutan).



Saponin daun segar



Saponin simplisia



Saponin ekstrak



Pemeriksaan steroid



Pemeriksaan glikosida



Pemeriksaan glikosida

Lampiran 10. Gambar sediaan salep ekstrak etanol daun sembung rambat.



Keterangan :

- a. Dasar salep : berwarna putih dan tidak berbau
- b. EEDSr 2,5% : berwarna kuning pucat dan berbau khas
- c. EEDSr 5% : berwarna kuning pucat dan berbau khas.
- d. EEDSr 7,5% : berwarna kuning kecoklatan dan berbau khas.

Lampiran 11. Gambar uji iritasi pada sukarelawan.



Uji dasar salep setelah 24 jam



Uji salep EDDSr 2,5% setelah 24 jam



Uji salep EDDSr 5% setelah 24 jam



Uji salep EDDSr 7,5% setelah 24 jam

Lampiran 12. Gambar penimbangan berat badan tikus percobaan.



Lampiran 13. Perhitungan dosis *streptozotosin* pada tikus.

Kelompok I : Dasar salep

$$\text{Tikus 1: } \frac{309 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 13,905 \text{ mg}$$

$$\frac{13,905 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,55 \text{ ml}$$

$$\text{Tikus 2: } \frac{273 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 12,285 \text{ mg}$$

$$\frac{12,285 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,50 \text{ ml}$$

$$\text{Tikus 3: } \frac{156 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 7,02 \text{ mg}$$

$$\frac{7,02 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,30 \text{ ml}$$

$$\text{Tikus 4: } \frac{250 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 11,25 \text{ mg}$$

$$\frac{12,285 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,45 \text{ ml}$$

$$\text{Tikus 5: } \frac{197 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 8,865 \text{ mg}$$

$$\frac{12,285 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,35 \text{ ml}$$

Kelompok II : EEDSr 2,5%

$$\text{Tikus 1: } \frac{298 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 13,41 \text{ mg}$$

$$\frac{13,41 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,50 \text{ ml}$$

$$\text{Tikus 2: } \frac{188 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 8,46 \text{ mg}$$

$$\frac{8,45 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,30 \text{ ml}$$

Lampiran 13. (Lanjutan)

$$\text{Tikus 3: } \frac{178 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 8,01 \text{ mg}$$

$$\frac{8,01 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,30 \text{ ml}$$

$$\text{Tikus 4: } \frac{173 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 7,785 \text{ mg}$$

$$\frac{7,785 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,30 \text{ ml}$$

$$\text{Tikus 5: } \frac{211 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 9,495 \text{ mg}$$

$$\frac{9,495 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,40 \text{ ml}$$

Kelompok III : EEDSr 5%

$$\text{Tikus 1: } \frac{224 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 10,08 \text{ mg}$$

$$\frac{10,08 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,40 \text{ ml}$$

$$\text{Tikus 2: } \frac{269 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 12,10 \text{ mg}$$

$$\frac{12,10 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,50 \text{ ml}$$

$$\text{Tikus 3: } \frac{218 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 9,81 \text{ mg}$$

$$\frac{9,81 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,40 \text{ ml}$$

$$\text{Tikus 4: } \frac{189 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 8,505 \text{ mg}$$

$$\frac{8,505 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,30 \text{ ml}$$

$$\text{Tikus 5: } \frac{225 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 10,125 \text{ mg}$$

$$\frac{10,125 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,40 \text{ ml}$$

Lampiran 13. (Lanjutan)**Kelompok IV : EEDSr 7,5%**

$$\text{Tikus 1: } \frac{210 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 9,45 \text{ mg}$$

$$\frac{9,45 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,40 \text{ ml}$$

$$\text{Tikus 2: } \frac{163 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 7,335 \text{ mg}$$

$$\frac{7,335 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,30 \text{ ml}$$

$$\text{Tikus 3: } \frac{256 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 11,52 \text{ mg}$$

$$\frac{11,52 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,50 \text{ ml}$$

$$\text{Tikus 4: } \frac{181 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 8,14 \text{ mg}$$

$$\frac{8,14 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,30 \text{ ml}$$

$$\text{Tikus 5: } \frac{239 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 10,75 \text{ mg}$$

$$\frac{10,75 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,40 \text{ ml}$$

Kelompok V : Salep gentamisin 0,1%

$$\text{Tikus 1: } \frac{284 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 12,78 \text{ mg}$$

$$\frac{12,78 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,50 \text{ ml}$$

$$\text{Tikus 2: } \frac{170 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 7,65 \text{ mg}$$

$$\frac{7,65 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,30 \text{ ml}$$

Lampiran 13. (Lanjutan)

$$\text{Tikus 3: } \frac{169 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 7,60 \text{ mg}$$

$$\frac{7,60 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,30 \text{ ml}$$

$$\text{Tikus 4: } \frac{180 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 8,1 \text{ mg}$$

$$\frac{8,1 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,30 \text{ ml}$$

$$\text{Tikus 5: } \frac{191 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 45 \text{ mg} = 8,59 \text{ mg}$$

$$\frac{8,59 \text{ mg}}{2500} \times 100 \text{ ml} = 0,30 \text{ ml}$$

Lampiran 14. Pengecekan kadar gula darah sebelum dan sesudah diinduksi.



Lampiran 15. Gambar perkembangan luka dengan dasar salep.



Hari ke-1
(% kesembuhan 0,00%)



Hari ke-3
(% kesembuhan 4,90 %)



Hari ke-7
(% kesembuhan 21,80%)



Hari ke-14
(% kesembuhan 71,20 %)



Hari ke-20
(% kesembuhan 84,40%)



Hari ke-26
(% kesembuhan 100 %)

Lampiran 16. Gambar perkembangan luka dengan salep EEDSr 2,5%.



Hari ke-1
(% kesembuhan 0,00%)



Hari ke-3
(% kesembuhan 6,10 %)



Hari ke-7
(% kesembuhan 23,10%)



Hari ke-14
(% kesembuhan 59,70%)



Hari ke-20
(% kesembuhan 89,80%)



Hari ke-24
(% kesembuhan 100 %)

Lampiran 17. Gambar perkembangan luka dengan salep EEDSr 5%.



Hari ke-1
(% kesembuhan 0,00%)



Hari ke-3
(% kesembuhan 7,40%)



Hari ke-7
(% kesembuhan 26,40%)



Hari ke-14
(% kesembuhan 73,10 %)



Hari ke-21
(% kesembuhan 19,00%)

Lampiran 18. Gambar perkembangan luka dengan salep EEDSr 7,5%.



Hari ke-1
(% kesembuhan 0,00%)



Hari ke-3
(% kesembuhan 8,40 %)



Hari ke-7
(% kesembuhan 30,90%)



Hari ke-14
(% kesembuhan 75,20%)



Hari ke-19
(% kesembuhan 100%)

Lampiran 19. Gambar perkembangan luka dengan salep gentamisin 1%.



Hari ke-1
(% kesembuhan 0,00%)



Hari ke-3
(% kesembuhan 13,40%)



Hari ke-7
(% kesembuhan 40,60%)



Hari ke-14
(% kesembuhan 87,90 %)



Hari ke-17
(% kesembuhan 100 %)

Lampiran 20. Data diameter luka dan persentase kesembuhan luka.

Hari -ke	Ulangan	Diameter Kesembuhan Luka(%) Dari Luka Buatan Kulit Tikus Dengan Berbagai Perlakuan											
		DASAR SALEP		SALEP EEDSr 2,5%		SALEP EEDSr 5%		SALEP EEDSr 7,5%		SALEP GENTAMISIN 1%			
		Ø luka (cm)	% kesembuhan luka	Ø luka (cm)	% kesembuhan luka	Ø luka (cm)	% kesembuhan luka	Ø luka (cm)	% kesembuhan luka	Ø luka (cm)	% kesembuhan luka		
1	Tikus 1	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00		
	Tikus 2	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00		
	Tikus 3	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00		
	Tikus 4	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00		
	Tikus 5	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00		
	Rata-rata	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00		
	Std.deviasi	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
	Hasil sebenarnya	2,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00		
2	Tikus 1	1,97	1,50	1,98	1,00	1,97	1,50	1,98	1,00	1,98	1,00		
	Tikus 2	1,98	1,00	1,98	1,00	1,98	1,00	1,97	1,50	1,97	1,50		
	Tikus 3	1,98	1,00	1,96	2,00	1,97	1,50	1,98	1,00	1,96	2,00		
	Tikus 4	1,98	1,00	1,97	1,50	1,97	1,50	1,97	1,50	1,98	1,00		
	Tikus 5	1,98	1,00	1,98	1,00	1,98	1,00	1,96	2,00	1,97	1,50		
	Rata-rata	1,97	1,10	1,97	1,30	1,97	1,30	1,97	1,40	1,97	1,40		
	Std.deviasi	0,01	0,2	0,008	0,2	0,01	0,2	0,008	0,41	0,01	0,41		
	Hasil sebenarnya	1,97 ± 0,02	1,10 ± 0,04	1,97 ± 0,01	1,30 ± 0,04	1,97 ± 0,2	1,30 ± 0,04	1,97 ± 0,01	1,40 ± 0,8	1,97 ± 0,2	1,40 ± 0,8		
3	Tikus 1	1,91	4,50	1,89	5,50	1,87	6,50	1,85	7,50	1,73	13,50		
	Tikus 2	1,91	4,50	1,88	6,00	1,85	7,50	1,85	7,50	1,74	13,00		
	Tikus 3	1,90	5,00	1,87	6,50	1,85	7,50	1,84	8,00	1,74	13,00		
	Tikus 4	1,91	4,50	1,87	6,50	1,84	8,00	1,82	9,00	1,72	14,00		
	Tikus 5	1,88	6,00	1,88	6,00	1,85	7,50	1,80	10,00	1,73	13,50		
	Rata-rata	1,90	4,90	1,87	6,10	1,85	7,40	1,83	8,40	1,73	13,40		
	Std.deviasi	0,01	0,58	0,008	0,41	0,01	0,5	0,02	1,08	0,008	0,41		
	Hasil sebenarnya	1,90 ± 0,2	4,90 ± 1,19	1,87 ± 0,01	6,10 ± 0,8	1,85 ± 0,2	7,40 ± 1,02	1,83 ± 0,04	8,40 ± 2,2	1,73 ± 0,01	13,40 ± 0,8		
4	Tikus 1	1,82	9,00	1,80	10,00	1,77	11,50	1,75	12,50	1,61	19,50		
	Tikus 2	1,80	10,00	1,78	11,00	1,75	12,50	1,71	14,50	1,60	20,00		
	Tikus 3	1,79	9,50	1,79	10,50	1,76	12,00	1,71	14,50	1,62	19,00		
	Tikus 4	1,85	7,50	1,82	9,00	1,78	11,00	1,73	13,50	1,65	17,50		
	Tikus 5	1,82	8,50	1,80	10,00	1,78	11,00	1,72	14,00	1,63	18,50		
	Rata-rata	1,82	8,90	1,79	10,10	1,76	11,60	1,72	13,80	1,62	18,90		
	Std.deviasi	0,01	0,9	0,1	0,7	0,01	0,76	0,01	0,01	0,88	0,96		
	Hasil sebenarnya	1,82 ± 0,02	8,90 ± 1,85	1,79 ± 0,2	10,10 ± 1,4	1,76 ± 0,02	11,60 ± 1,56	1,72 ± 0,02	13,80 ± 0,02	1,62 ± 1,8	18,90 ± 1,97		

Lampiran 20. (Lanjutan)

Hari -ke	Ulangan	Diameter Kesembuhan Luka(%) Dari Luka Buatan Kulit Tikus Dengan Berbagai Perlakuan									
		DASAR SALEP		SALEP EEDSr 2,5%		SALEP EEDSr 5%		SALEP EEDSr 7,5%		SALEP GENTAMISIN 1%	
		Ø luka (cm)	% kesembuhan luka	Ø luka (cm)	% kesembuhan luka	Ø luka (cm)	% kesembuhan luka	Ø luka (cm)	% kesembuhan luka	Ø luka (cm)	% kesembuhan luka
5	Tikus 1	1,75	12,50	1,72	14,00	1,69	15,50	1,65	17,50	1,40	30,00
	Tikus 2	1,73	13,50	1,71	14,50	1,68	16,00	1,64	18,00	1,42	29,00
	Tikus 3	1,74	13,00	1,70	15,00	1,69	15,50	1,65	17,50	1,45	27,50
	Tikus 4	1,76	10,50	1,74	13,00	1,68	16,00	1,63	18,50	1,47	26,50
	Tikus 5	1,75	11,00	1,72	14,00	1,69	15,50	1,66	17,00	1,45	27,50
	Rata-rata	1,74	12,10	1,71	14,10	1,68	15,70	1,64	17,70	1,43	28,10
	Std.deviasi	0,01	4,09	0,01	0,14	0,01	0,27	0,01	0,57	0,2	1,38
	Hasil sebenarnya	1,74 ± 0,02	12,10 ± 8,4	1,71 ± 0,02	14,10 ± 0,28	1,68 ± 0,02	15,70 ± 0,55	1,64 ± 0,02	17,70 ± 1,17	1,43 ± 0,4	28,1 ± 2,8
6	Tikus 1	1,67	16,50	1,65	17,50	1,53	23,50	1,47	26,50	1,28	36,00
	Tikus 2	1,69	15,50	1,66	17,00	1,54	23,00	1,48	26,00	1,30	35,00
	Tikus 3	1,70	15,00	1,66	17,00	1,54	23,00	1,49	25,50	1,29	35,50
	Tikus 4	1,72	14,00	1,67	16,50	1,56	22,00	1,47	26,50	130	35,00
	Tikus 5	1,73	13,50	1,64	18,00	1,57	21,50	1,47	26,50	1,29	35,50
	Rata-rata	1,70	14,90	1,65	17,20	1,54	22,60	1,47	26,20	1,29	35,40
	Std.deviasi	0,02	1,19	0,01	1,46	0,01	0,8	0,008	0,4	0,01	0,58
	Hasil sebenarnya	1,70 ± 0,04	14,90 ± 2,45	1,65 ± 0,02	17,20 ± 1,29	1,54 ± 0,02	22,60 ± 1,6	1,47 ± 0,01	26,20 ± 0,8	1,29 ± 0,02	35,4 ± 1,19
7	Tikus 1	1,55	22,50	1,52	24,00	1,47	26,50	1,39	30,50	1,20	40,00
	Tikus 2	1,56	22,00	1,53	23,50	1,47	26,50	1,37	31,50	1,19	40,50
	Tikus 3	1,56	22,50	1,54	23,00	1,47	26,50	1,39	31,50	1,19	40,50
	Tikus 4	1,57	21,50	1,55	22,50	1,48	26,00	1,37	31,50	1,18	41,00
	Tikus 5	1,59	21,00	1,55	22,50	1,47	26,50	1,39	30,50	1,18	41,00
	Rata-rata	1,56	21,80	1,53	23,10	1,47	26,40	1,38	30,90	1,18	40,60
	Std.deviasi	0,01	0,57	0,01	0,7	0,004	0,7	0,01	1,54	0,01	0,6
	Hasil sebenarnya	1,56 ± 0,02	21,80 ± 1,17	1,53 ± 0,02	23,10 ± 1,4	1,47 ± 0,01	26,40 ± 1,4	1,38 ± 0,02	30,9 ± 3,17	1,18 ± 0,02	40,6 ± 1,2
8	Tikus 1	1,44	28,00	1,41	29,50	1,34	33,00	1,23	38,50	1,06	47,00
	Tikus 2	1,45	27,50	1,40	30,00	1,33	33,50	1,22	39,00	1,06	47,00
	Tikus 3	1,44	28,00	1,40	30,00	1,32	34,00	1,21	39,50	1,07	46,50
	Tikus 4	1,46	27,00	1,41	29,50	1,30	35,00	1,22	39,00	107	46,50
	Tikus 5	1,47	26,50	1,40	30,00	1,30	34,00	1,21	39,50	1,06	47,00
	Rata-rata	1,45	27,40	1,40	29,80	1,31	34,10	1,21	39,10	1,06	46,80
	Std.deviasi	0,01	0,6	0,01	0,5	0,017	0,89	0,008	0,41	0,01	0,5
	Hasil sebenarnya	1,45 ± 0,02	27,40 ± 1,2	1,40 ± 0,02	29,80 ± 1,02	1,31 ± 0,03	34,10 ± 1,8	1,21 ± 0,01	39,10 ± 0,8	1,06 ± 0,02	46,8 ± 1,02

Lampiran 20. (Lanjutan)

Hari -ke	Ulangan	Diameter Kesembuhan Luka(%) Dari Luka Buatan Kulit Tikus Dengan Berbagai Perlakuan									
		DASAR SALEP		SALEP EEDSr 2,5%		SALEP EEDSr 5%		SALEP EEDSr 7,5%		SALEP GENTAMISIN 1%	
		Ø luka (cm)	% kesembuhan luka	Ø luka (cm)	% kesembuhan luka	Ø luka (cm)	% kesembuhan luka	Ø luka (cm)	% kesembuhan luka	Ø luka (cm)	% kesembuhan luka
9	Tikus 1	1,37	31,50	1,32	34,00	1,21	39,50	1,10	44,50	0,87	56,50
	Tikus 2	1,37	31,50	1,30	35,00	1,23	38,50	1,14	43,00	0,89	55,50
	Tikus 3	1,35	32,50	1,32	34,00	1,22	39,00	1,16	42,00	0,89	55,50
	Tikus 4	1,35	32,50	1,32	34,00	1,22	39,00	1,14	43,00	0,88	56,00
	Tikus 5	1,37	31,50	1,10	35,00	1,20	40,00	1,16	42,00	0,89	55,50
	Rata-rata	1,36	31,90	1,31	34,40	1,21	39,20	1,14	42,90	0,88	55,80
	Std.deviasi	0,01	0,5	0,01	0,5	0,01	0,5	0,02	1,02	0,008	0,4
10	Hasil sebenarnya	1,36 ± 0,02	31,90 ± 1,02	1,31 ± 0,02	34,40 ± 1,02	1,21 ± 0,02	39,20 ± 1,02	1,14 ± 0,04	42,90 ± 2,1	0,88 ± 0,01	55,80 ± 0,8
	Tikus 1	1,25	37,50	1,22	39,00	1,10	45,00	1,02	49,00	0,75	62,50
	Tikus 2	1,23	38,50	1,21	39,50	1,10	45,00	1,04	48,00	0,76	62,00
	Tikus 3	1,24	38,00	1,22	39,00	1,11	44,50	1,01	49,50	0,76	62,00
	Tikus 4	1,24	38,00	1,22	39,00	1,11	44,50	1,00	50,00	0,75	62,50
	Tikus 5	1,23	38,50	1,20	39,00	1,10	45,00	1,04	48,00	0,76	62,00
	Rata-rata	1,23	38,10	1,21	39,30	1,10	44,80	1,02	48,90	0,75	62,20
11	Std.deviasi	0,008	0,41	0,008	0,4	0,01	0,27	0,01	0,89	0,01	0,27
	Hasil sebenarnya	1,23 ± 0,01	38,10 ± 0,8	1,21 ± 0,01	39,30 ± 0,8	1,10 ± 0,02	44,80 ± 0,55	1,02 ± 0,02	48,90 ± 1,8	0,75 ± 0,02	62,20 ± 0,55
	Tikus 1	1,18	41,00	1,14	43,00	0,99	50,50	0,90	55,00	0,59	70,50
	Tikus 2	1,19	40,50	1,15	42,50	0,98	51,00	0,91	54,50	0,58	71,00
	Tikus 3	1,18	41,00	1,13	43,50	0,97	51,50	0,90	55,00	0,58	71,00
	Tikus 4	1,16	41,00	1,14	43,50	0,95	52,50	0,90	55,00	0,57	71,50
	Tikus 5	1,17	41,50	1,14	43,00	0,98	51,00	0,91	54,50	0,57	71,50
12	Rata-rata	1,17	41,20	1,13	43,10	0,97	51,30	0,90	54,80	0,57	71,10
	Std.deviasi	0,01	0,57	0,008	0,41	0,001	0,7	0,01	0,27	0,008	0,5
	Hasil sebenarnya	1,17 ± 0,02	41,20 ± 1,17	1,13 ± 0,01	43,10 ± 0,8	0,97 ± 0,02	51,30 ± 1,4	0,90 ± 0,02	54,80 ± 0,55	0,57 ± 0,01	71,10 ± 1,02
	Tikus 1	1,09	45,50	1,04	48,00	0,81	59,50	0,79	60,50	0,47	76,50
	Tikus 2	1,08	46,00	1,05	47,50	0,82	59,00	0,78	61,00	0,46	77,00
	Tikus 3	1,08	46,00	1,05	47,50	0,82	59,00	0,77	61,50	0,47	76,50
	Tikus 4	1,07	46,50	1,06	47,00	0,83	58,50	0,79	60,50	0,46	77,00
12	Tikus 5	1,07	46,50	1,06	47,00	0,83	58,50	0,78	61,00	0,45	77,50
	Rata-rata	1,07	46,10	1,05	47,40	0,82	58,90	0,78	60,90	0,46	76,90
	Std.deviasi	0,008	0,41	0,008	0,41	0,008	0,41	0,008	0,41	0,008	0,41
12	Hasil sebenarnya	1,07 ± 0,01	46,10 ± 0,8	1,05 ± 0,01	47,40 ± 0,8	0,82 ± 0,01	58,90 ± 0,8	0,78 ± 0,01	60,90 ± 0,8	0,62 ± 0,01	76,90 ± 0,8

Lampiran 20. (Lanjutan)

Hari- ke	Ulangan	Diameter Kesembuhan Luka(%) Dari Luka Buatan Kulit Tikus Dengan Berbagai Perlakuan									
		DASAR SALEP		SALEP EEDSr 2,5%		SALEP EEDSr 5%		SALEP EEDSr 7,5%		SALEP GENTAMISIN 1%	
		Ø luka (cm)	% kesembuhan luka	Ø luka (cm)	% kesembuhan luka	Ø luka (cm)	% kesembuhan luka	Ø luka (cm)	% kesembuhan luka	Ø luka (cm)	% kesembuhan luka
13	Tikus 1	1,01	49,50	0,92	54,00	0,69	65,50	0,61	69,50	0,33	83,50
	Tikus 2	1,02	49,00	0,93	53,50	0,68	66,00	0,62	69,00	0,30	85,00
	Tikus 3	1,03	48,50	0,93	53,50	0,68	66,00	0,64	68,00	0,30	85,00
	Tikus 4	1,03	48,50	0,92	54,00	0,68	66,00	0,66	67,50	0,31	84,50
	Tikus 5	1,02	49,00	0,92	54,00	0,68	66,00	0,64	68,00	0,29	85,50
	Rata-rata	1,02	48,90	0,92	53,80	0,68	65,90	0,63	68,40	0,30	84,70
	Std.deviasi	0,008	0,41	0,01	0,27	0,1	0,2	0,16	0,8	0,1	0,7
	Hasil sebenarnya	1.02 ± 0,01	48,90 ± 0,8	0,92 ± 0,02	53,80 ± 0,55	0,68 ± 0,2	65,90 ± 0,4	0,63 ± 0,3	68,40 ± 1,6	0,30 ± 0,2	84,70 ± 1,4
14	Tikus 1	0,94	50,00	0,80	60,00	0,55	72,50	0,49	75,50	0,24	88,00
	Tikus 2	0,95	51,50	0,81	59,50	0,53	73,50	0,50	75,00	0,23	88,50
	Tikus 3	0,95	52,50	0,81	59,50	0,54	73,00	0,49	75,50	0,25	87,50
	Tikus 4	0,95	51,50	0,80	60,00	0,55	72,50	0,49	75,50	0,26	88,50
	Tikus 5	0,94	50,00	0,81	59,50	0,52	74,00	0,51	74,50	0,23	88,50
	Rata-rata	0,94	52,70	0,80	59,70	0,53	73,10	0,49	75,20	0,24	87,90
	Std.deviasi	0,01	0,27	0,01	0,27	0,1	0,6	0,008	0,4	0,01	0,6
	Hasil sebenarnya	0,94 ± 0,02	52,70 ± 0,55	0,80 ± 0,02	59,70 ± 0,55	0,53 ± 0,2	73,10 ± 1,2	0,49 ± 0,01	75,20 ± 0,8	0,24 ± 0,02	87,90 ± 1,2
15	Tikus 1	0,87	56,50	0,73	63,50	0,43	78,50	0,36	82,00	0,11	94,50
	Tikus 2	0,85	57,50	0,72	64,00	0,42	79,00	0,36	82,00	0,10	95,00
	Tikus 3	0,85	57,50	0,72	64,00	0,43	78,50	0,35	82,50	0,12	94,00
	Tikus 4	0,87	56,50	0,71	64,50	0,43	78,50	0,34	83,00	0,11	95,50
	Tikus 5	0,85	57,50	0,70	65,00	0,42	78,50	0,33	82,50	0,10	95,00
	Rata-rata	0,85	57,10	0,71	64,20	0,42	78,60	0,34	82,60	0,10	94,60
	Std.deviasi	0,01	0,5	0,01	0,57	0,01	0,2	0,1	0,6	0,008	0,41
	Hasil sebenarnya	0,85 ± 0,02	57,10 ± 1,02	0,71 ± 0,02	64,20 ± 1,17	0,42 ± 0,02	78,60 ± 0,4	0,34 ± 0,2	82,60 ± 1,2	0,10 ± 0,01	94,60 ± 0,8
16	Tikus 1	0,70	65,00	0,66	67,00	0,34	83,00	0,27	86,50	0,03	98,50
	Tikus 2	0,70	65,00	0,67	66,50	0,32	84,00	0,26	87,00	0,04	98,00
	Tikus 3	0,72	64,50	0,68	66,00	0,33	83,50	0,27	86,50	0,04	98,00
	Tikus 4	0,73	65,00	0,69	65,50	0,31	84,50	0,25	89,00	0,03	98,50
	Tikus 5	0,70	65,00	0,66	67,00	0,30	85,00	0,27	86,50	0,05	97,50
	Rata-rata	0,71	64,50	0,67	66,40	0,32	84,00	0,26	87,10	0,03	98,10
	Std.deviasi	0,01	0,7	0,01	0,65	0,015	0,79	0,008	1,08	0,008	0,41
	Hasil sebenarnya	0,71 ± 0,02	64,50 ± 1,4	0,67 ± 0,02	66,40 ± 1,3	0,32 ± 0,03	84,00 ± 1,6	0,26 ± 0,01	87,10 ± 2,2	0,03 ± 0,01	98,10 ± 0,8

Lampiran 20. (Lanjutan)

Hari -ke	Ulangan	Diameter Kesembuhan Luka(%) Dari Luka Buatan Kulit Tikus Dengan Berbagai Perlakuan											
		DASAR SALEP			SALEP EEDSr 2,5%			SALEP EEDSr 5%		SALEP EEDSr 7,5%		SALEP GENTAMISIN 1%	
17	Tikus 1	0,64	68,00	0,54	73,00	0,21	89,50	0,15	92,50	0,00	100,00		
	Tikus 2	0,62	69,00	0,55	72,50	0,23	88,50	0,15	92,50	0,00	100,00		
	Tikus 3	0,65	67,50	0,52	74,00	0,23	88,50	0,13	93,50	0,00	100,00		
	Tikus 4	0,62	69,00	0,52	74,00	0,22	89,00	0,14	92,00	0,00	100,00		
	Tikus 5	0,65	67,50	0,55	72,50	0,22	89,00	0,15	92,50	0,00	100,00		
	Rata-rata	0,63	68,20	0,53	73,20	0,22	88,90	0,14	92,80	0,00	100,00		
	Std.deviasi	0,01	0,75	0,01	0,75	0,008	0,41	0,008	0,44	0,00	0,00		
18	Hasil sebenarnya	0,63 ± 0,02	68,20 ± 1,5	0,53 ± 0,02	73,20 ± 1,5	0,22 ± 0,01	88,90 ± 0,8	0,14 ± 0,01	92,80 ± 0,9	0,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00		
	Tikus 1	0,55	72,50	0,42	79,00	0,15	92,50	0,05	97,50	0,00	100,00		
	Tikus 2	0,55	72,50	0,42	79,00	0,16	92,00	0,06	97,00	0,00	100,00		
	Tikus 3	0,53	73,50	0,43	78,50	0,13	93,50	0,06	97,00	0,00	100,00		
	Tikus 4	0,55	72,50	0,44	78,00	0,14	93,00	0,05	97,50	0,00	100,00		
	Tikus 5	0,53	73,50	0,43	78,50	0,14	93,00	0,04	98,00	0,00	100,00		
	Rata-rata	0,54	72,90	0,42	78,60	0,14	92,80	0,05	97,40	0,00	100,00		
19	Std.deviasi	0,01	0,15	0,008	0,41	0,01	0,57	0,008	0,41	0,00	0,00		
	Hasil sebenarnya	0,54 ± 0,02	72,90 ± 0,3	0,42 ± 0,01	78,60 ± 0,8	0,14 ± 0,02	92,80 ± 1,17	0,05 ± 0,01	97,40 ± 0,8	0,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00		
	Tikus 1	0,43	78,50	0,36	82,00	0,09	95,50	0,00	100,00				
	Tikus 2	0,42	79,00	0,36	82,00	0,07	96,50	0,00	100,00				
	Tikus 3	0,45	77,50	0,36	82,00	0,08	96,00	0,00	100,00				
	Tikus 4	0,46	77,00	0,35	82,50	0,08	96,00	0,00	100,00				
	Tikus 5	0,43	78,00	0,36	82,00	0,06	97,00	0,00	100,00				
20	Rata-rata	0,43	78,00	0,35	82,10	0,07	96,20	0,00	100,00				
	Std.deviasi	0,01	0,79	0,01	0,2	0,01	0,57	0,00	0,00				
	Hasil sebenarnya	0,43 ± 0,02	78,00 ± 1,6	0,35 ± 0,02	82,10 ± 0,4	0,07 ± 0,02	96,20 ± 1,17	0,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00				
	Tikus 1	0,32	84,00	0,21	89,50	0,03	98,50						
	Tikus 2	0,31	85,50	0,20	90,00	0,03	98,00						
	Tikus 3	0,30	85,00	0,21	89,50	0,04	98,00						
	Tikus 4	0,32	84,00	0,20	90,00	0,03	98,50						
20	Tikus 5	0,31	84,50	0,20	90,00	0,04	98,00						
	Rata-rata	0,31	84,40	0,20	89,80	0,03	98,30						
	Std.deviasi	0,008	0,41	0,01	0,27	0,01	0,27						
20	Hasil sebenarnya	0,31 ± 0,01	84,40 ± 0,8	0,20 ± 0,02	89,80 ± 0,5	0,03 ± 0,02	98,30 ± 0,5						

Lampiran 20. (Lanjutan)

Hari -ke	Ulangan	Diameter Kesembuhan Luka(%) Dari Luka Buatan Kulit Tikus Dengan Berbagai Perlakuan											
		DASAR SALEP			SALEP EEDSr 2,5%			SALEP EEDSr 5%			SALEP EEDSr 7,5%		
21	Tikus 1	0,26		87,00	0,14		93,00	0,00		100,00			
	Tikus 2	0,25		87,50	0,16		92,00	0,00		100,00			
	Tikus 3	0,25		87,50	0,15		92,50	0,00		100,00			
	Tikus 4	0,24		88,00	0,15		92,50	0,00		100,00			
	Tikus 5	0,24		88,00	0,16		92,00	0,00		100,00			
	Rata-rata	0,24		87,60	0,15		92,40	0,00		100,00			
	Std.deviasi	0,008		0,41	0,008		0,41	0,00		0,00			
22	Hasil sebenarnya	0,24 ± 0,01	87,60 ± 0,8	0,15 ± 0,01	92,40 ± 0,8	0,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00						
	Tikus 1	0,19		90,50	0,05		97,50						
	Tikus 2	0,18		91,00	0,04		98,00						
	Tikus 3	0,19		90,50	0,05		97,50						
	Tikus 4	0,18		91,00	0,04		98,00						
	Tikus 5	0,18		91,00	0,04		98,00						
	Rata-rata	0,18		90,80	0,04		97,80						
23	Std.deviasi	0,01		0,27	0,01		0,27						
	Hasil sebenarnya	0,18 ± 0,02	90,80 ± 0,5	0,04 ± 0,02	97,80 ± 0,5								
	Tikus 1	0,14		93,00	0,01		99,50						
	Tikus 2	0,13		93,50	0,02		99,00						
	Tikus 3	0,14		93,00	0,01		99,50						
	Tikus 4	0,13		93,50	0,01		99,50						
	Tikus 5	0,15		92,50	0,01		99,50						
24	Rata-rata	0,13		93,10	0,01		99,40						
	Std.deviasi	0,007		0,41	0,01		0,22						
	Hasil sebenarnya	0,13 ± 0,01	93,50 ± 0,8	0,01 ± 0,02	99,40 ± 0,45								
	Tikus 1	0,08		96,00	0,00		100,00						
	Tikus 2	0,07		96,50	0,00		100,00						
	Tikus 3	0,07		96,50	0,00		100,00						
	Tikus 4	0,08		96,00	0,00		100,00						
24	Tikus 5	0,07		96,50	0,00		100,00						
	Rata-rata	0,07		96,30	0,00		100,00						
	Std.deviasi	0,01		0,27	0,00		0,00						
	Hasil sebenarnya	0,07 ± 0,02	96,30 ± 0,55	0,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00								

Lampiran 20. (Lanjutan)

Hari -ke	Ulangan	Diameter Kesembuhan Luka(%) Dari Luka Buatan Kulit Tikus Dengan Berbagai Perlakuan										
		DASAR SALEP			SALEP EEDSr 2,5%		SALEP EEDSr 5%		SALEP EEDSR 7,5%		SALEP GENTAMISIN 1%	
25	Tikus 1	0,02		99,00								
	Tikus 2	0,03		98,50								
	Tikus 3	0,03		98,50								
	Tikus 4	0,02		99,00								
	Tikus 5	0,02		99,00								
	Rata-rata	0,02		98,80								
	Std.deviasi	0,01		0,27								
	Hasil sebenarnya	0,02	±	0,02	98,80	±	0,55					
26	Tikus 1	0,00		100,00								
	Tikus 2	0,00		100,00								
	Tikus 3	0,00		100,00								
	Tikus 4	0,00		100,00								
	Tikus 5	0,00		100,00								
	Rata-rata	0,00		100,00								
	Std.deviasi	0,00		0,00								
	Hasil sebenarnya	0,00	±	0,00	100,00	±	0,00					

Lampiran 22. Rekapitulasi hasil perhitungan persentase kesembuhan luka.

Hari- ke	Persenatse kesembuhan luka (%)									
	Dasar salap		Salap EEDSr 2,5%		Salap EEDSr 5%		Salap EEDSr 7,5%		Salap Gentamisin 1%	
	% kesembuhan luka		% kesembuhan luka		% kesembuhan luka		% kesembuhan luka		% kesembuhan luka	
1	0,00	± 0,00	0,00	± 0,00	0,00	± 0,00	0,00	± 0,00	00,0	± 0,00
2	1,10	± 0,04	1,30	± 0,04	1,30	± 0,04	1,40	± 0,8	1,40	± 0,8
3	4,90	± 1,19	6,10	± 0,8	7,40	± 1,02	8,40	± 2,2	13,40	± 0,8
4	8,90	± 1,85	10,10	± 1,4	11,60	± 1,56	13,80	± 0,02	18,90	± 1,97
5	12,10	± 8,4	14,10	± 0,28	15,70	± 0,55	17,70	± 1,17	28,10	± 2,8
6	14,90	± 2,45	17,20	± 1,29	22,60	± 1,6	26,20	± 0,8	35,40	± 1,19
7	21,80	± 1,17	23,10	± 1,4	26,40	± 1,4	30,90	± 3,17	40,60	± 1,2
8	27,40	± 1,2	29,80	± 1,02	34,10	± 1,8	39,10	± 0,8	46,80	± 1,02
9	31,90	± 1,02	34,40	± 1,02	39,20	± 1,02	42,90	± 2,1	55,80	± 0,8
10	38,10	± 0,8	39,30	± 0,8	44,80	± 0,55	48,90	± 1,8	62,20	± 0,55
11	41,20	± 1,17	43,10	± 0,8	51,30	± 1,4	54,80	± 0,55	71,10	± 1,02
12	46,10	± 0,8	47,40	± 0,8	58,90	± 0,8	60,90	± 0,8	76,90	± 0,8
13	48,90	± 0,8	53,80	± 0,55	65,90	± 0,4	68,40	± 1,6	84,70	± 1,4
14	52,70	± 0,55	59,70	± 0,55	73,10	± 1,2	75,20	± 0,8	87,90	± 1,2
15	57,10	± 1,02	64,20	± 1,17	78,60	± 0,4	82,60	± 1,2	94,60	± 0,8
16	64,50	± 1,4	66,40	± 1,3	84,00	± 1,6	87,10	± 2,2	98,10	± 0,8
17	68,20	± 1,5	73,20	± 1,5	88,90	± 0,8	92,80	± 0,9	100,00	± 0,00
18	72,90	± 0,3	78,60	± 0,8	92,80	± 1,17	97,40	± 0,8		
19	78,00	± 1,6	82,10	± 0,4	96,20	± 1,17	100,00	± 0,00		
20	84,40	± 0,8	89,80	± 0,5	98,30	± 0,05				
21	87,60	± 0,8	92,40	± 0,8	100,00	± 0,00				
22	90,80	± 0,5	97,80	± 0,5						
23	93,50	± 0,8	99,40	± 0,45						
24	96,30	± 0,55	100,00	± 00,0						
25	98,80	± 0,55								
26	100,00	± 0,00								

Lampiran 23. Contoh perhitungan statistik persentase dari salep EEDSr 5% hari ke-4.

No.	Persen kesembuhan luka (%) (X)	$X - \bar{X}$	$(X - \bar{X})^2$
1	1,77	0,002	0,000004
2	1,75	-0,018	0,000324
3	1,76	-0,008	0,000064
4	1,78	0,012	0,000144
5	1,78	0,012	0,000144
n = 5	$\sum X = 8,84$ $\bar{X} = 1,768$		$\sum (X - \bar{X})^2 = 0,00068$

$$\text{Standar deviasi (SD)} = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n-1}}$$

$$\text{Standar deviasi (SD)} = \sqrt{\frac{0,00068}{4}} = 0,013$$

Dasar penolakan data adalah apabila $t_{\text{hitung}} > t_{\text{tabel}}$ dengan tingkat kepercayaan 99%

$\alpha = 0,01$; $n = 5$, $dk = 4$ dan $t_{\text{Tabel}} = 4,604$

$$1. \quad t_{\text{hitung}} = \frac{|X - \bar{X}|}{\frac{SD}{\sqrt{n}}} = \frac{|1,77 - 1,768|}{\frac{0,013}{\sqrt{5}}} = \frac{0,002}{0,0058} = 0,34$$

$$2. \quad t_{\text{hitung}} = \frac{|X - \bar{X}|}{\frac{SD}{\sqrt{n}}} = \frac{|1,768 - 1,75|}{\frac{0,013}{\sqrt{5}}} = \frac{0,018}{0,0058} = 3,10$$

$$3. \quad t_{\text{hitung}} = \frac{|X - \bar{X}|}{\frac{SD}{\sqrt{n}}} = \frac{|1,768 - 1,76|}{\frac{0,013}{\sqrt{5}}} = \frac{0,008}{0,0058} = 1,37$$

$$4. \quad t_{\text{hitung}} = \frac{|X - \bar{X}|}{\frac{SD}{\sqrt{n}}} = \frac{|1,78 - 1,768|}{\frac{0,013}{\sqrt{5}}} = \frac{0,012}{0,0058} = 2,06$$

$$5. \quad t_{\text{hitung}} = \frac{|X - \bar{X}|}{\frac{SD}{\sqrt{n}}} = \frac{|1,78 - 1,768|}{\frac{0,013}{\sqrt{5}}} = \frac{0,012}{0,0058} = 2,06$$

Seluruh t_{hitung} dari ke-5 perlakuan $< t_{\text{tabel}}$, berarti semua data ini dapat diterima.

Lampiran 23. (Lanjutan)

Menghitung persen kesembuhan sebenarnya =

$$\text{Persen kesembuhan luka rata-rata} \pm t (1 - \frac{1}{2} \alpha \text{ dk}) \times \frac{\text{Std.Deviasi}}{\sqrt{n}}$$

$$\text{Persen kesembuhan luka rata-rata } (\bar{X}) = 1,768\%$$

$$\text{Standar deviasi (SD)} = 0,013$$

$$\text{Persen kesembuhan luka sebenarnya} = \bar{X} \pm t (1 - \frac{1}{2} \alpha \text{ dk}) \times \frac{Sd}{\sqrt{5}}$$

$$\text{Persen kesembuhan luka sebenarnya} = 1,768 \% \pm 4,604 \times \frac{0,013}{2,236}$$

$$\text{Persen kesembuhan luka sebenarnya} = (1,768 \pm 0,02) \%$$

Lampiran 24. Contoh perhitungan persen kesembuhan luka dari salep EEDSr 5% hari ke-4

No.	Persen kesembuhan luka (%) (X)	$X - \bar{X}$	$(X - \bar{X})^2$
1	11,5	-0,1	0,01
2	12,5	0,9	0,81
3	12,0	0,9	0,81
4	11,0	-0,6	0,36
5	11,0	-0,6	0,36
n = 5	$\sum X = 58$ $\bar{X} = 11,6$		$\sum (X - \bar{X})^2 = 2,35$

$$\text{Standar deviasi (SD)} = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n-1}}$$

$$\text{Standar deviasi (SD)} = \sqrt{\frac{2,35}{4}} = 0,76$$

Dasar penolakan data adalah apabila $t_{\text{hitung}} > t_{\text{tabel}}$ dengan tingkat kepercayaan 99%

$\alpha = 0,01$; $n = 5$, $dk = 4$ dan $t_{\text{Tabel}} = 4,604$

$$1. \quad t_{\text{hitung}} = \frac{|X - \bar{X}|}{\frac{SD}{\sqrt{n}}} = \frac{|11,6 - 11,5|}{\frac{0,76}{\sqrt{5}}} = \frac{0,1}{0,33} = 0,30$$

$$2. \quad t_{\text{hitung}} = \frac{|X - \bar{X}|}{\frac{SD}{\sqrt{n}}} = \frac{|12,5 - 11,6|}{\frac{0,76}{\sqrt{5}}} = \frac{0,9}{0,33} = 0,57$$

$$3. \quad t_{\text{hitung}} = \frac{|X - \bar{X}|}{\frac{SD}{\sqrt{n}}} = \frac{|12,0 - 11,6|}{\frac{0,76}{\sqrt{5}}} = \frac{0,4}{0,33} = 1,21$$

$$4. \quad t_{\text{hitung}} = \frac{|X - \bar{X}|}{\frac{SD}{\sqrt{n}}} = \frac{|11,6 - 11,0|}{\frac{0,76}{\sqrt{5}}} = \frac{0,6}{0,33} = 1,81$$

$$5. \quad t_{\text{hitung}} = \frac{|X - \bar{X}|}{\frac{SD}{\sqrt{n}}} = \frac{|11,6 - 11,0|}{\frac{0,76}{\sqrt{5}}} = \frac{0,6}{0,33} = 1,81$$

Seluruh t_{hitung} dari ke-5 perlakuan $< t_{\text{tabel}}$, berarti semua data ini dapat diterima.

Lampiran 24. (Lanjutan)**Menghitung persen kesembuhan sebenarnya =**

$$\text{Persen kesembuhan luka rata-rata} \pm t \left(1 - \frac{1}{2} \alpha \text{ dk} \right) \times \frac{\text{Std.Deviasi}}{\sqrt{n}}$$

$$\text{Persen kesembuhan luka rata-rata } (\bar{X}) = 11,6\%$$

$$\text{Standar deviasi (SD)} = 0,76$$

$$\text{Persen kesembuhan luka sebenarnya} = \bar{X} \pm t \left(1 - \frac{1}{2} \alpha \text{ dk} \right) \times \frac{Sd}{\sqrt{5}}$$

$$\text{Persen kesembuhan luka sebenarnya} = 11,6 \% \pm 4,604 \times \frac{0,76}{2,236}$$

$$\text{Persen kesembuhan luka sebenarnya} = (11,6 \pm 1,56) \%$$

Lampiran 25. Uji ANAVA dan BNT kesembuhan luka buatan pada hari ke-2

Uji analisa Varian (ANAVA) dan Beda Nyata Terkecil (BNT) dilakukan Untuk melihat perbedaan % kesembuhan luka buatan pada kulit tikus diabetes pengobatan dengan dasar salep, gentamisin, EEDSr 2,5%, 5% dan 7% pada hari ke-2 setelah perlakuan.

Formulasi Hipotesis

1. Taraf nyata (α) dan nilai F tabel

Perlakuan (k) = 5

Ulangan ulangan $n_1 = 5$; $n_2 = 5$; $n_3 = 5$; $n_4 = 5$; $n_5 = 5$

Jumlah perlakuan (N) = $5 + 5 + 5 + 5 + 5 = 25$

Derajat Bebas (DB) perlakuan (v_1) = $k - 1 = 5 - 1 = 4$

Derjat Bebas (DB) error (v_2) = $k (n-1) = 5 \times (5-1) = 20$

Pada tabel uji F (4;20), 1% = 4,43 ; 5% = 2,87

2. Kriteria Pengujian

Apabila F- hitung lebih kecil dari F uji, kesimpulannya tidak berbeda.

Bila lebih kecil dari 2,87 tidak berbeda nyata

Bila lebih besar dari 4,43 berbeda sangat nyata

Bila lebih kecil dari 4,43 dan lebih besar dari 2,87 berbeda nyata.

3. Analisa Varian

$k = 5$

jumlah perlakuan (N) = $5 + 5 + 5 + 5 + 5 = 25$

Perhitungan sebagai berikut :

Bahan Uji	% Peningkatan kesembuhan luka pada kulit tikus							(T) ²
	U L A N G A N					Total	Rata	
	1	2	3	4	5	(T)	-rata	
Dasar salep	1,50	1,00	1,00	1,00	1,00	4,00	1,00	16,00
Salep Gentamisin	1,00	1,50	2,00	1,00	1,50	7,00	1,40	49,00
Salep EEDSr 2,5%	1,00	1,00	2,00	1,50	1,00	6,50	1,30	42,25
Salep EEDSr 5%	1,50	1,00	1,50	1,50	1,00	6,50	1,30	42,25
Salep EEDSr 7,5%	1,00	1,50	1,00	1,50	2,00	7,00	1,40	49,00
JUMLAH						31,00	6,40	198,50

$$\text{Jumlah (Total T)}^2 = (31,00)^2 = 961,00$$

Lampiran 25. (lanjutan)

Total (Hasil dari pengulangan)² =

$$\{(1,50)^2 + (1,00)^2 + (1,00)^2 + (1,00)^2 + (1,00)^2 + (1,00)^2 + (1,50)^2 + (2,00)^2 + (1,00)^2 + (1,50)^2 + (1,00)^2 + (1,00)^2 + (2,00)^2 + (1,50)^2 + (1,00)^2 + (1,50)^2 + (1,00)^2 + (1,50)^2 + (1,50)^2 + (1,00)^2 + (1,00)^2 + (1,50)^2 + (1,00)^2 + (1,50)^2 + (2,00)^2\} = 45,25$$

$$\text{Faktor koreksi (FK)} = \frac{(Total T)^2}{jumlah\ pengulangan\ (N)} = \frac{961,00}{25} = 38,44$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} = \text{Total (Hasil dari pengulangan)}^2 - \text{FK}$$

$$\text{Jumlah Koreksi Total (JKT)} = 45,25 - 38,44 = 1,2600$$

$$\text{Jumlah Koreksi Kolom (JKK)} = \frac{Total\ (T)^2}{Replikasi} - \text{FK} = \frac{198,50}{5} - 38,44 = 1,2600$$

$$\text{Jumlah Koreksi Error (JKE)} = \text{JKT} - \text{JKK} = 6,8100 - 1,2600 = 5,5500$$

Tabel ANAVA : Analisa sidik ragam dengan uji F

SK	JK	DB	RK	F0	F Tabel	
					5%	1%
Rata- rata kolom	1,26	4	0,32	1,14	2,87	4,43
Error	5,55	20	0,28			
Total	6,81	24				

Kesimpulan :

Oleh karena $F_0 = 1,14 \leq F_{5\%} (2,87) = 2,53$ dan $F_{1\%} (4,20) = (4,43)$, maka tidak terdapat perbedaan % kesembuhan luka dari seluruh yang diuji.

Lampiran 26. Uji ANAVA dan BNT kesembuhan luka buatan pada hari ke-3

Uji analisa Varian (ANAVA) dan Beda Nyata Terkecil (BNT) dilakukan Untuk melihat perbedaan % kesembuhan luka buatan pada kulit tikus diabetes pengobatan dengan dasar salep, gentamisin, EEDSr 2,5%, 5% dan 7% pada hari ke-3 setelah perlakuan.

Formulasi Hipotesis

1. Taraf nyata (α) dan nilai F tabel

Perlakuan (k) = 5

Ulangan ulangan $n_1 = 5$; $n_2 = 5$; $n_3 = 5$; $n_4 = 5$; $n_5 = 5$

Jumlah perlakuan (N) = $5 + 5 + 5 + 5 + 5 = 25$

Derajat Bebas (DB) perlakuan (v_1) = $k - 1 = 5 - 1 = 4$

Derjat Bebas (DB) error (v_2) = $k (n-1) = 5 \times (5-1) = 20$

Pada tabel uji F (4;20), 1% = 4,43 ; 5% = 2,87

2. Kriteria Pengujian

Apabila F- hitung lebih kecil dari F uji, kesimpulannya tidak berbeda.

Bila lebih kecil dari 2,87 tidak berbeda nyata

Bila lebih besar dari 4,43 berbeda sangat nyata

Bila lebih kecil dari 4,43 dan lebih besar dari 2,87 berbeda nyata.

3. Analisa Varian

$k = 5$

jumlah perlakuan (N) = $5 + 5 + 5 + 5 + 5 = 25$

Perhitungan sebagai berikut :

Bahan Uji	% Peningkatan kesembuhan luka pada kulit tikus							(T) ²
	U L A N G A N					Total	Rata	
	1	2	3	4	5	(T)	-rata	
Dasar salep	4,50	4,50	5,00	4,50	6,00	24,50	4,90	600,25
Salep Gentamisin	13,50	13,00	13,00	13,00	13,50	67,00	13,40	4,489.00
Salep EEDSr 2,5%	5,50	6,00	6,50	6,50	6,00	30,50	6,10	930,25
Salep EEDSr 5%	6,50	7,50	7,50	8,00	7,50	37,00	7,40	1,369.00
Salep EEDSr 7,5%	7,50	7,50	8,00	9,00	10,00	42,00	8,40	1,764.00
JUMLAH						201,00	40,20	9,152.50

$$\text{Jumlah (Total T)}^2 = (201,00)^2 = 40,401.00$$

Lampiran 26. (lanjutan)

Total (Hasil dari pengulangan)² =

$$\{(4,50)^2 + (4,50)^2 + (5,00)^2 + (4,50)^2 + (6,00)^2 + (13,50)^2 + (13,00)^2 + (13,00)^2 + (13,00)^2 + (13,50)^2 + (5,50)^2 + (6,00)^2 + (6,50)^2 + (6,50)^2 + (6,00)^2 + (6,50)^2 + (7,50)^2 + (7,50)^2 + (8,00)^2 + (7,50)^2 + (7,50)^2 + (7,50)^2 + (8,00)^2 + (9,00)^2 + (10,00)^2\} = 1,839.50$$

$$\text{Faktor koreksi (FK)} = \frac{(\text{Total } T)^2}{\text{jumlah pengulangan (N)}} = \frac{40,401.00}{25} = 1,616.04$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} = \text{Total (Hasil dari pengulangan)}^2 - \text{FK}$$

$$\text{Jumlah Koreksi Total (JKT)} = 1,839.50000 - 1,616.04 = 223,4600$$

$$\text{Jumlah Koreksi Kolom (JKK)} = \frac{\text{Total (T)}^2}{\text{Replikasi}} - \text{FK} = \frac{9,152.50}{5} - 1,616.04 = 214,4600$$

$$\text{Jumlah Koreksi Error (JKE)} = \text{JKT} - \text{JKK} = 223,4600 - 214,4600 = 9,0000$$

Tabel ANAVA : Analisa sidik ragam dengan uji F

SK	JK	DB	RK	F0	F Tabel	
					5%	1%
Rata- rata kolom	214,46	4	53,62	119,14	2,87	4,43
Error		20	0,45			
Total	223,46	24				

Kesimpulan :

Oleh karena $F_0 = 119,14 > F_{5\%} (2,87) = 2,53$ dan $F_{1\%} (4,20) = (4,43)$, maka terdapat perbedaan % kesembuhan luka dari seluruh yang diuji.

Selanjutnya dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

$$\text{Koreksi Total Galat (KTG)} = 0,45$$

$$V = 20$$

$$r = 5$$

$$t_{0,05} (20) = 2,086$$

$$t_{0,01} (20) = 2,845$$

$$Sd = \frac{\sqrt{2 KTG}}{r} = \frac{\sqrt{2 \times 0,45}}{5} = 0,158$$

Lampiran 26. (lanjutan)

$$\text{BNT}_{0,05} = 2,086 \times 0,158 = 0,330$$

$$\text{BNT}_{0,01} = 2,845 \times 0,158 = 0,450$$

Bila hasil perhitungan lebih besar dari $\text{BNT}_{0,01} = 0,45$, disimpulkan terdapat perbedaan yang sangat signifikan.

Bila hasil perhitungan lebih besar dari $\text{BNT}_{0,01} = 0,45$ dan lebih kecil dari $\text{BNT}_{0,05} = 0,33$ disimpulkan berbeda signifikan.

Bila lebih kecil dari $\text{BNT}_{0,05} = 0,33$, disimpulkan tidak berbeda signifikan.

Hasil perhitungan sebagai berikut :

Perlakuan	Kesembuhan luka (%)	Beda dengan			
		Dasar salep	Salep Gentamisin	Salep EEDSr 2,5%	Salep EEDSr 5%
Dasar salep	4,90	-	-	-	-
Salep Gentamisin	13,40	8,40	-	-	-
Salep EEDSr 2,5%	6,10	1,20	7,30	-	-
Salep EEDSr 5%	7,40	2,50	6,00	1,30	-
Salep EEDSr 7,5%	8,40	3,50	5,00	2,30	1,00
$\text{BNT}_{0,05} = 0,330$		$\text{BNT}_{0,01} = 0,450$			

Kesimpulan :

Terdapat perbedaan yang sangat signifikan antara kelompok dasar salep dan seluruh kelompok perlakuan lain.

Lampiran 27. Uji ANAVA dan BNT kesembuhan luka buatan pada hari ke-17

Uji analisa Varian (ANAVA) dan Beda Nyata Terkecil (BNT) dilakukan Untuk melihat perbedaan % kesembuhan luka buatan pada kulit tikus diabetes pengobatan dengan dasar salep, gentamisin, EEDSr 2,5%, 5% dan 7% pada hari ke-17 setelah perlakuan.

Formulasi Hipotesis

1. Taraf nyata (α) dan nilai F tabel

Perlakuan (k) = 5

Ulangan ulangan $n_1 = 5$; $n_2 = 5$; $n_3 = 5$; $n_4 = 5$; $n_5 = 5$

Jumlah perlakuan (N) = $5 + 5 + 5 + 5 + 5 = 25$

Derajat Bebas (DB) perlakuan (v_1) = $k - 1 = 5 - 1 = 4$

Derjat Bebas (DB) error (v_2) = $k (n-1) = 5 \times (5-1) = 20$

Pada tabel uji F (4;20), 1% = 4,43 ; 5% = 2,87

2. Kriteria Pengujian

Apabila F- hitung lebih kecil dari F uji, kesimpulannya tidak berbeda.

Bila lebih kecil dari 2,87 tidak berbeda nyata

Bila lebih besar dari 4,43 berbeda sangat nyata

Bila lebih kecil dari 4,43 dan lebih besar dari 2,87 berbeda nyata.

3. Analisa Varian

$k = 5$

jumlah perlakuan (N) = $5 + 5 + 5 + 5 + 5 = 25$

Perhitungan sebagai berikut :

Bahan Uji	% Peningkatan kesembuhan luka pada kulit tikus						(T) ²
	U L A N G A N					Total	
	1	2	3	4	5	(T)	
Dasar salep	68,00	69,00	67,50	67,50	69,00	341,00	116,281.00
Salep Gentamisin	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	500,00	250,000.00
Salep EEDSr 2,5%	73,00	72,50	74,00	74,00	72,50	366,00	133,956.00
Salep EEDSr 5%	89,50	88,50	88,50	88,50	89,00	444,40	197,491.36
Salep EEDSr 7,5%	92,50	92,50	93,50	92,00	92,50	463,00	214,369.00
JUMLAH						2,114.40	912,097.36

$$\text{Jumlah (Total T)}^2 = (2,114,40)^2 = 4,470,687.36$$

Lampiran 27. (lanjutan)

Total (Hasil dari pengulangan)² =

$$\{(68,00)^2 + (69,00)^2 + (67,50)^2 + (67,50)^2 + (69,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (73,00)^2 + (72,50)^2 + (74,00)^2 + (74,00)^2 + (72,50)^2 + (89,50)^2 + 88,50)^2 + (88,50)^2 + (88,50)^2 + (89,00)^2 + (92,50)^2 + (92,50)^2 + (93,50)^2 + (92,00)^2 + (92,50)^2 = 1,839.50$$

$$\text{Faktor koreksi (FK)} = \frac{(Total T)^2}{jumlah\ pengulangan\ (N)} = \frac{4,470,687.36}{25} = 178,827.49$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} = \text{Total (Hasil dari pengulangan)}^2 - \text{FK}$$

$$\text{Jumlah Koreksi Total (JKT)} = 182,426.96000 - 178,827.49 = 3,598.4656$$

$$\text{Jumlah Koreksi Kolom (JKK)} = \frac{Total\ (T)^2}{Replikasi} - \text{FK} = \frac{912,097.36}{5} - 178,827.49 = 3,591.9776$$

$$\text{Jumlah Koreksi Error (JKE)} = \text{JKT} - \text{JKK} = 3,598.4656 - 3,591.9776 = 6,4880$$

Tabel ANAVA : Analisa sidik ragam dengan uji F

SK	JK	DB	RK	F0	F Tabel	
					5%	1%
Rata- rata kolom	3,591.98	4	897,99	2768,17	2,87	4,43
Error		20	0,32			
Total	3,598.47	24				

Kesimpulan :

Oleh karena $F_0 = 2768,17 > F\ 5\% (2,87) = 2,53$ dan $F\ 1\% (4,20) = (4,43)$, maka terdapat perbedaan % kesembuhan luka dari seluruh yang diuji.

Selanjutnya dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

$$\text{Koreksi Total Galat (KTG)} = 0,32$$

$$V = 20$$

$$r = 5$$

$$t_{0,05} (20) = 2,086$$

$$t_{0,01} (20) = 2,845$$

Lampiran 27. (lanjutan)

$$S_d = \frac{\sqrt{2 KTG}}{r} = \frac{\sqrt{2 \times 0,32}}{5} = 0,134$$

$$BNT_{0,05} = 2,086 \times 0,134 = 0,280$$

$$BNT_{0,01} = 2,845 \times 0,134 = 0,382$$

Bila hasil perhitungan lebih besar dari $BNT_{0,01} = 0,38$, disimpulkan terdapat perbedaan yang sangat signifikan.

Bila hasil perhitungan lebih besar dari $BNT_{0,01} = 0,38$ dan lebih kecil dari $BNT_{0,05} = 0,28$ disimpulkan berbeda signifikan.

Bila lebih kecil dari $BNT_{0,05} = 0,28$, disimpulkan tidak berbeda signifikan.

Hasil perhitungan sebagai berikut :

Perlakuan	Kesembuhan luka (%)	Beda dengan			
		Dasar salep	Salep Gentamisin	Salep EEDSr 2,5%	Salep EEDSr 5%
Dasar salep	68,20	-	-	-	-
Salep Gentamisin	100,00	31,80	-	-	-
Salep EEDSr 2,5%	73,20	5,00	26,80	-	-
Salep EEDSr 5%	88,88	20,68	11,12	15,68	-
Salep EEDSr 7,5%	92,60	24,40	7,40	19,40	3,72
BNT _{0,05} = 0,280		BNT _{0,01} = 0,382			

Kesimpulan :

Terdapat perbedaan yang sangat signifikan antara kelompok dasar salep dan seluruh kelompok perlakuan lain.

Lampiran 28. Uji ANAVA dan BNT kesembuhan luka buatan pada hari ke-18

Uji analisa Varian (ANAVA) dan Beda Nyata Terkecil (BNT) dilakukan Untuk melihat perbedaan % kesembuhan luka buatan pada kulit tikus diabetes pengobatan dengan dasar salep, gentamisin, EEDSr 2,5%, 5% dan 7% pada hari ke-18 setelah perlakuan.

Formulasi Hipotesis

1. Taraf nyata (α) dan nilai F tabel

Perlakuan (k) = 5

Ulangan ulangan $n_1 = 5$; $n_2 = 5$; $n_3 = 5$; $n_4 = 5$; $n_5 = 5$

Jumlah perlakuan (N) = $5 + 5 + 5 + 5 + 5 = 25$

Derajat Bebas (DB) perlakuan (v_1) = $k - 1 = 5 - 1 = 4$

Derjat Bebas (DB) error (v_2) = $k (n-1) = 5 \times (5-1) = 20$

Pada tabel uji F (4;20), 1% = 4,43 ; 5% = 2,87

2. Kriteria Pengujian

Apabila F- hitung lebih kecil dari F uji, kesimpulannya tidak berbeda.

Bila lebih kecil dari 2,87 tidak berbeda nyata

Bila lebih besar dari 4,43 berbeda sangat nyata

Bila lebih kecil dari 4,43 dan lebih besar dari 2,87 berbeda nyata.

3. Analisa Varian

$k = 5$

jumlah perlakuan (N) = $5 + 5 + 5 + 5 + 5 = 25$

Perhitungan sebagai berikut :

Bahan Uji	% Peningkatan kesembuhan luka pada kulit tikus							(T) ²
	U L A N G A N					Total	Rata -	
	1	2	3	4	5	(T)	rata	
Dasar salep	72,50	72,50	73,50	72,50	73,50	364,50	72,90	132,860.25
Salep Gentamisin	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	500,00	100,00	250,000.00
Salep EEDSr 2,5%	79,00	79,00	78,50	78,00	78,50	393,00	78,60	154,449.00
Salep EEDSr 5%	92,50	92,00	93,50	93,00	93,00	464,40	92,80	215,296.00
Salep EEDSr 7,5%	97,50	97,00	97,00	97,50	98,00	487,00	97,40	237,169.00
JUMLAH						2,208.50	441,70	989,774.25

$$\text{Jumlah (Total T)}^2 = (2,208,50)^2 = 4,877,472.25$$

Lampiran 28. (lanjutan)

Total (Hasil dari pengulangan)² =

$$\{(72,50)^2 + (72,50)^2 + (73,50)^2 + (72,50)^2 + (73,50)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (79,00)^2 + (79,00)^2 + (78,50)^2 + (78,00)^2 + (78,50)^2 + (92,50)^2 + 92,00)^2 + (93,50)^2 + (93,00)^2 + (93,00)^2 + (97,50)^2 + (97,00)^2 + (97,00)^2 + (97,50)^2 + (98,00)^2 = 197,958.75$$

$$\text{Faktor koreksi (FK)} = \frac{(Total T)^2}{jumlah\ pengulangan\ (N)} = \frac{4,877,472.25}{25} = 195,098.89$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} = \text{Total (Hasil dari pengulangan)}^2 - \text{FK}$$

$$\text{Jumlah Koreksi Total (JKT)} = 197,958.75 - 195,098.89 = 2,859.8600$$

$$\text{Jumlah Koreksi Kolom (JKK)} = \frac{Total\ (T)^2}{Replikasi} - \text{FK} = \frac{989,774.25}{5} - 195,098.89 = 2,855.9600$$

$$\text{Jumlah Koreksi Error (JKE)} = \text{JKT} - \text{JKK} = 2,859.8600 - 2,855.9600 = 3,9000$$

Tabel ANAVA : Analisa sidik ragam dengan uji F

SK	JK	DB	RK	F0	F Tabel	
					5%	1%
Rata- rata kolom	2,855.96	4	713,99	3661,49	2,87	4,43
Error		20	0,19			
Total	2,859.86	24				

Kesimpulan :

Oleh karena $F_0 = 3661,49 > F_{5\%} (2,87) = 2,53$ dan $F_{1\%} (4,20) = (4,43)$, maka terdapat perbedaan % kesembuhan luka dari seluruh yang diuji.

Selanjutnya dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

$$\text{Koreksi Total Galat (KTG)} = 0,19$$

$$V = 20$$

$$r = 5$$

$$t_{0,05} (20) = 2,086$$

$$t_{0,01} (20) = 2,845$$

Lampiran 28. (lanjutan)

$$Sd = \frac{\sqrt{2 KTG}}{r} = \frac{\sqrt{2 \times 0,19}}{5} = 0,104$$

$$BNT_{0,05} = 2,086 \times 0,104 = 0,217$$

$$BNT_{0,01} = 2,845 \times 0,104 = 0,296$$

Bila hasil perhitungan lebih besar dari $BNT_{0,01} = 0,29$, disimpulkan terdapat perbedaan yang sangat signifikan.

Bila hasil perhitungan lebih besar dari $BNT_{0,01} = 0,29$ dan lebih kecil dari $BNT_{0,05} = 0,21$ disimpulkan berbeda signifikan.

Bila lebih kecil dari $BNT_{0,05} = 0,21$, disimpulkan tidak berbeda signifikan.

Hasil perhitungan sebagai berikut :

Perlakuan	Kesembuhan luka (%)	Beda dengan			
		Dasar salep	Salep Gentamisin	Salep EEDSr 2,5%	Salep EEDSr 5%
Dasar salep	72,90	-	-	-	-
Salep Gentamisin	100,00	27,10	-	-	-
Salep EEDSr 2,5%	78,60	5,70	21,40	-	-
Salep EEDSr 5%	92,80	19,90	7,20	14,20	-
Salep EEDSr 7,5%	97,40	24,50	2,60	18,80	4,60
BNT _{0,05} =		0,217	BNT _{0,01} =	0,296	

Kesimpulan :

Terdapat perbedaan yang sangat signifikan antara kelompok dasar salep dan seluruh kelompok perlakuan lain, sebanyak kelompok gentamisin terlihat telah sembuh sempurna (100%).

Lampiran 29. Uji ANAVA dan BNT kesembuhan luka buatan pada hari ke-19

Uji analisa Varian (ANAVA) dan Beda Nyata Terkecil (BNT) dilakukan Untuk melihat perbedaan % kesembuhan luka buatan pada kulit tikus diabetes pengobatan dengan dasar salep, gentamisin, EEDSr 2,5%, 5% dan 7% pada hari ke-19 setelah perlakuan.

Formulasi Hipotesis

1. Taraf nyata (α) dan nilai F tabel

Perlakuan (k) = 5

Ulangan ulangan $n_1 = 5$; $n_2 = 5$; $n_3 = 5$; $n_4 = 5$; $n_5 = 5$

Jumlah perlakuan (N) = $5 + 5 + 5 + 5 + 5 = 25$

Derajat Bebas (DB) perlakuan (v_1) = $k - 1 = 5 - 1 = 4$

Derjat Bebas (DB) error (v_2) = $k (n-1) = 5 \times (5-1) = 20$

Pada tabel uji F (4;20), 1% = 4,43 ; 5% = 2,87

2. Kriteria Pengujian

Apabila F- hitung lebih kecil dari F uji, kesimpulannya tidak berbeda.

Bila lebih kecil dari 2,87 tidak berbeda nyata

Bila lebih besar dari 4,43 berbeda sangat nyata

Bila lebih kecil dari 4,43 dan lebih besar dari 2,87 berbeda nyata.

3. Analisa Varian

$k = 5$

jumlah perlakuan (N) = $5 + 5 + 5 + 5 + 5 = 25$

Perhitungan sebagai berikut :

Bahan Uji	% Peningkatan kesembuhan luka pada kulit tikus							(T) ²
	U L A N G A N					Total (T)	Rata - rata	
	1	2	3	4	5			
Dasar salep	78,50	79,00	77,00	77,00	78,00	390,00	78,00	152,100.00
Salep Gentamisin	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	500,00	100,00	250,000.00
Salep EEDSr 2,5%	82,00	82,00	82,00	82,50	82,00	410,50	82,10	168,510.25
Salep EEDSr 5%	95,50	96,50	96,00	96,00	97,00	481,00	96,20	231,361.00
Salep EEDSr 7,5%	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	500,00	100,00	250,000.00
JUMLAH						2,281.50	456,30	1,051,971.25

$$\text{Jumlah (Total T)}^2 = (1,051,971.25)^2 = 5,205,242.25$$

Lampiran 29. (lanjutan)

Total (Hasil dari pengulangan)² =

$$\{(78,50)^2 + (79,00)^2 + (77,00)^2 + (77,00)^2 + (78,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (82,00)^2 + (82,00)^2 + (82,00)^2 + (82,50)^2 + (82,00)^2 + (95,50)^2 + 96,50)^2 + (96,00)^2 + (96,00)^2 + (97,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2\} = 210,398.25$$

$$\text{Faktor koreksi (FK)} = \frac{(Total T)^2}{\text{jumlah pengulangan (N)}} = \frac{5,205,242.25}{25} = 208,209.69$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} = \text{Total (Hasil dari pengulangan)}^2 - \text{FK}$$

$$\text{Jumlah Koreksi Total (JKT)} = 210,398.25000 - 208,209.69 = 2,188.5600$$

$$\text{Jumlah Koreksi Kolom(JKK)} = \frac{Total (T)^2}{Replikasi} - \text{FK} = \frac{1,051,971.25}{5} - 208,209.69 = 2,184.5600$$

$$\text{Jumlah Koreksi Error (JKE)} = \text{JKT} - \text{JKK} = 2,188.5600 - 2,184.5600 = 4,0000$$

Tabel ANAVA : Analisa sidik ragam dengan uji F

SK	JK	DB	RK	F0	F Tabel	
					5%	1%
Rata- rata kolom	2,184.56	4	546,14	2730,70	2,87	4,43
Error		20	0,20			
Total	2,188.56	24				

Kesimpulan :

Oleh karena $F_0 = 2730,70 > F_{5\%} (2,87) = 2,53$ dan $F_{1\%} (4,20) = (4,43)$, maka terdapat perbedaan % kesembuhan luka dari seluruh yang diuji.

Selanjutnya dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

$$\text{Koreksi Total Galat (KTG)} = 0,20$$

$$V = 20$$

$$r = 5$$

$$t_{0,05} (20) = 2,086$$

$$t_{0,01} (20) = 2,845$$

Lampiran 29. (lanjutan)

$$S_d = \frac{\sqrt{2 KTG}}{r} = \frac{\sqrt{2 \times 0,20}}{5} = 0,105$$

$$BNT_{0,05} = 2,086 \times 0,105 = 0,220$$

$$BNT_{0,01} = 2,845 \times 0,105 = 0,300$$

Bila hasil perhitungan lebih besar dari $BNT_{0,01} = 0,30$, disimpulkan terdapat perbedaan yang sangat signifikan.

Bila hasil perhitungan lebih besar dari $BNT_{0,01} = 0,30$ dan lebih kecil dari $BNT_{0,05} = 0,22$ disimpulkan berbeda signifikan.

Bila lebih kecil dari $BNT_{0,05} = 0,22$, disimpulkan tidak berbeda signifikan.

Hasil perhitungan sebagai berikut :

Perlakuan	Kesembuhan luka (%)	Beda dengan			
		Dasar salep	Salep Gentamisin	Salep EEDSr 2,5%	Salep EEDSr 5%
Dasar salep	78,00	-	-	-	-
Salep Gentamisin	100,00	22,00	-	-	-
Salep EEDSr 2,5%	82,10	4,10	17,90	-	-
Salep EEDSr 5%	96,20	18,20	3,80	14,10	-
Salep EEDSr 7,5%	100,00	22,00	0,00	17,90	3,80
BNT _{0,05} =		0,220	BNT _{0,01} =	0,300	

Kesimpulan :

1. Terdapat perbedaan yang sangat signifikan antara kelompok dasar salep, kelompok salep EEDSr 2,5% dan kelompok salep EEDSr 5%.
2. Tidak terdapat perbedaan antara kelompok salep EEDSr 7,5% dengan kelompok salep gentamisin. Maka pada hari ke-19 terlihat daya penyembuhan luka yang sama antara salep gentamisin, dan EEDSr 7,5%.

Lampiran 30. Uji ANAVA dan BNT kesembuhan luka buatan pada hari ke-21

Uji analisa Varian (ANAVA) dan Beda Nyata Terkecil (BNT) dilakukan Untuk melihat perbedaan % kesembuhan luka buatan pada kulit tikus diabetes pengobatan dengan dasar salep, gentamisin, EEDSr 2,5%, 5% dan 7% pada hari ke-21 setelah perlakuan.

Formulasi Hipotesis

1. Taraf nyata (α) dan nilai F tabel

Perlakuan (k) = 5

Ulangan ulangan $n_1 = 5$; $n_2 = 5$; $n_3 = 5$; $n_4 = 5$; $n_5 = 5$

Jumlah perlakuan (N) = $5 + 5 + 5 + 5 + 5 = 25$

Derajat Bebas (DB) perlakuan (v_1) = $k - 1 = 5 - 1 = 4$

Derjat Bebas (DB) error (v_2) = $k (n-1) = 5 \times (5-1) = 20$

Pada tabel uji F (4;20), 1% = 4,43 ; 5% = 2,87

2. Kriteria Pengujian

Apabila F- hitung lebih kecil dari F uji, kesimpulannya tidak berbeda.

Bila lebih kecil dari 2,87 tidak berbeda nyata

Bila lebih besar dari 4,43 berbeda sangat nyata

Bila lebih kecil dari 4,43 dan lebih besar dari 2,87 berbeda nyata.

3. Analisa Varian

$k = 5$

jumlah perlakuan (N) = $5 + 5 + 5 + 5 + 5 = 25$

Perhitungan sebagai berikut :

Bahan Uji	% Peningkatan kesembuhan luka pada kulit tikus							(T) ²
	U L A N G A N					Total	Rata	
	1	2	3	4	5	(T)	-rata	
Dasar salep	87,50	87,50	87,50	88,00	88,00	438,50	87,70	192,282.25
Salep Gentamisin	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	500,00	100,00	250,000.00
Salep EEDSr 2,5%	93,00	92,00	92,50	92,50	92,00	462,00	92,40	213,444.00
Salep EEDSr 5%	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	500,00	100,00	250,000.00
Salep EEDSr 7,5%	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	500,00	100,00	250,000.00
JUMLAH						2,400.50	480,10	1,155,726.25

$$\text{Jumlah (Total T)}^2 = (1,155,726.25)^2 = 5,762,400.25$$

Lampiran 30. (lanjutan)

Total (Hasil dari pengulangan)² =

$$\{(87,50)^2 + (87,50)^2 + (87,50)^2 + (88,00)^2 + (88,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (93,00)^2 + (92,00)^2 + (92,50)^2 + (92,50)^2 + (92,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2\} = 231,146.25$$

$$\text{Faktor koreksi (FK)} = \frac{(Total\ T)^2}{\text{jumlah pengulangan (N)}} = \frac{5,762,400.25}{25} = 230,496.01$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} = \text{Total (Hasil dari pengulangan)}^2 - \text{FK}$$

$$\text{Jumlah Koreksi Total (JKT)} = 231,146.25000 - 230,496.01 = 650.2400$$

$$\text{Jumlah Koreksi Kolom (JKK)} = \frac{Total\ (T)^2}{Replikasi} - \text{FK} = \frac{1,155,726.25}{5} - 230,496.01 = 649,2400$$

$$\text{Jumlah Koreksi Error (JKE)} = \text{JKT} - \text{JKK} = 650,2400 - 649,2400 = 1,0000$$

Tabel ANAVA : Analisa sidik ragam dengan uji F

SK	JK	DB	RK	F0	F Tabel	
					5%	1%
Rata- rata kolom	649,24	4	162,31	3246,20	2,87	4,43
Error	1,00	20	0,50			
Total	650,24	24				

Kesimpulan :

Oleh karena $F_0 = 3246,20 > F\ 5\% (2,87) = 2,53$ dan $F\ 1\% (4,20) = (4,43)$, maka terdapat perbedaan % kesembuhan luka dari seluruh yang diuji.

Selanjutnya dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

$$\text{Koreksi Total Galat (KTG)} = 0,05$$

$$V = 20$$

$$r = 5$$

$$t\ 0,05 (20) = 2,086$$

$$t\ 0,01 (20) = 2,845$$

Lampiran 30. (lanjutan)

$$Sd = \frac{\sqrt{2 KTG}}{r} = \frac{\sqrt{2 \times 0,05}}{5} = 0,053$$

$$BNT_{0,05} = 2,086 \times 0,105 = 0,110$$

$$BNT_{0,01} = 2,845 \times 0,105 = 0,150$$

Bila hasil perhitungan lebih besar dari $BNT_{0,01} = 0,15$, disimpulkan terdapat perbedaan yang sangat signifikan.

Bila hasil perhitungan lebih besar dari $BNT_{0,01} = 0,15$ dan lebih kecil dari $BNT_{0,05} = 0,11$ disimpulkan berbeda signifikan.

Bila lebih kecil dari $BNT_{0,05} = 0,11$, disimpulkan tidak berbeda signifikan.

Hasil perhitungan sebagai berikut :

Perlakuan	Kesembuhan luka (%)	Beda dengan			
		Dasar salep	Salep Gentamisin	Salep EEDSr 2,5%	Salep EEDSr 5%
Dasar salep	87,70	-	-	-	-
Salep Gentamisin	100,00	12,30	-	-	-
Salep EEDSr 2,5%	92,40	4,70	7,60	-	-
Salep EEDSr 5%	100,00	12,30	0,00	7,60	-
Salep EEDSr 7,5%	100,00	12,30	0,00	7,60	00,00
BNT _{0,05} =		0,220	BNT _{0,01} =	0,300	

Kesimpulan :

1. Terdapat perbedaan yang sangat signifikan antara kelompok dasar salep dengan kelompok salep 2,5%.
2. Tidak terdapat perbedaan yang sangat signifikan antara kelompok EEDSr 5%, EEDSr 7,5% dan gentamisin. Maka pada hari ke-21 terlihat daya penyembuhan luka yang sama antara salep gentamisin, EEDSr 7,5% dan juga EEDSr 5%.