

SKRIPSI

**PEMBUATAN SCAFFOLD KOLAGEN-KITOSAN SEBAGAI
SISTEM PENGHANTARAN EKSTRAK DAUN TOPPASPARA
(*Mikania micrantha* Kunth) DAN UJI EFEKTIVITAS
TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA PADA TIKUS**

OLEH:
RIZKY ANANDA
NIM. 1905012



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

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN INDAH MEDAN

TANDA PERSETUJUAN SKRIPSI

Nama : Rizky Ananda
NIM : 1905012
Program Studi : Sarjana Farmasi
Jenjang Pendidikan : Strata Satu (S-1)
Judul Skripsi : Pembuatan *Scaffold* Kolagen-Kitosan Sebagai Sistem Penghantaran Ekstrak Daun Toppaspara (*Mikania micrantha* Kunth) Dan Uji Efektivitas Terhadap Penyembuhan Luka Pada Tikus.

Pembimbing I



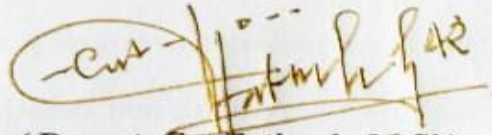
(apt. Drs. M. Gunawan, M.Si.)
NIDK. 0003056711

Pembimbing II



(apt. Safriana, S.Farm., M.S)
NIDN. 0116099102

Penguji



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

DI UJI PADA TANGGAL : 23 November 2024
YUDISIUM : 23 November 2024

Ketua



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

Sekretaris



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

(*Mikania micrantha* Kunth) DAN Uji Efektivitas Terhadap Penyembuhan Luka Pada Tikus

RIZKY ANANDA

NIM 1905012

ABSTRAK

Luka adalah kerusakan pada kulit disertai hilangnya kontinuitas jaringan epitel dengan atau tanpa adanya kerusakan pada jaringan lainnya seperti otot, tulang dan nervus. *Scaffold* dengan struktur berpori penting dalam memanipulasi fungsi sel dan mendukung pembentukan organ baru. Kriteria desain *scaffold* untuk rekayasa jaringan harus memenuhi beberapa hal, di antaranya yaitu permukaan harus dapat menjadi tempat adhesi sel, merangsang pertumbuhan sel, dan menjadi retensi sel yang telah berdiferensiasi. Tujuan penelitian ini kitosan telah mampu memacu proliferasi sel, meningkatkan kolagenisasi, dan mengakselerasi regenerasi sel (reepitelisasi) pada kulit yang terluka. Kolagen diketahui sebagai material yang paling menjanjikan dan telah ditemukan pada berbagai aplikasi dalam rekayasa jaringan karena memiliki sifat biokompatibilitas yang baik, *biodegradable*, dan antigenitas yang rendah.

Metode pada penelitian ini pembuatan *scaffold* dilakukan dengan menggunakan kitosan dan kolagen dengan penambahan gliserol dan ditambahkan ekstrak daun toppaspara konsentrasi 1%, 2%, 3%. Dan hasilnya diuji mutu karakteristik *scaffold* meliputi uji sem, uji tarik, ujii sitotoksitas. Selanjutnya diuji terhadap penyembuhan luka buatan pada kulit tikus.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun toppaspara dapat diformulasikan menjadi sediaan *scaffold* kolagen-kitosan penambahan gliserol, mempunyai karakteristik mutu fisik uji SEM, uji tarik, uji sitotoksitas, uji degradasi dan uji ketebalan yang baik. Dan dapat menyembuhkan luka buatan pada tikus adalah pada hari ke-19 tidak terdapat perbedaan yang signifikan perentase penyembuhan luka pada kelompok yang diberikan salep Binasol, dengan EEDTp 2% dan EEDTp 3%, dan antara yang diberikan EEDTp 2% dan EEDTp 3%.

Kata kunci : Kitosan, kolagen, luka, scaffold, ekstrak daun toppaspara

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan

penelitian dan penyusunan skripsi ini yang berjudul “Pembuatan *Scaffold* Kolagen - Kitosan Sebagai Sistem Penghantaran Ekstrak Daun Toppaspara (*Mikania micrantha* Kunth.) Dan Uji Efektivitas Terhadap Penyembuhan Luka Pada Tikus”.

Skripsi ini merupakan salah satu syarat yang diwajibkan STIKes Indah Medan bagi setiap mahasiswa dan mahasiswi tingkat akhir dalam menyelesaikan studinya. Skripsi ini disusun berdasarkan atas perolehan materi perkuliahan dan buku-buku yang sesuai dengan hasil penelitian ini.

Penulis menyadari tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak sangat tidak mungkin penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini. Untuk itu dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada kedua orang tua penulis, Ayahanda Supriadi dan Ibunda Sulastri yang telah mencurahkan kasih sayang dan telah banyak berkorban baik material maupun spiritual sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan dengan baik.

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. M. Riski Ramadhan Hasibuan, SH., SE., M.K.M., selaku ketua Yayasan Indah Medan yang telah menyediakan sarana dan prasarana selama penulis mengikuti pendidikan di STIKes Indah Medan.
2. Bapak Andilala, S.Kep., Ners., M.K.M., selaku Ketua STIKes Indah Medan yang telah memberi bimbingan dan arahan selama penulis mengikuti pendidikan di STIKes Indah Medan
3. Ibu Dr. apt. Hj. Cut Fatimah., M.Si., selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi STIKes Indah Medan yang telah memberikan masukan kepada penulis.

4. Bapak apt. Drs M. Gunawan, M.Si., selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan arahan dan bimbingan kepada penulis dalam melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
5. Ibu apt. Safriana, S. Farm., M.Si., selaku pembimbing II yang telah memberikan arahan dan bimbingan kepada penulis dalam melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
6. Seluruh Dosen dan Staf Program Studi S1 Farmasi STIKes Indah Medan yang turut memberikan bantuannya selama penyusunan skripsi ini.
7. Kepada sahabat penulis terutama teman seperjuangan *circle* kita tetap kita yaitu Dina Khairani, Sindy Andriani, Silvia Fransiska, dan Dimas Syhadikop yang turut memberikan bantuannya selama penyusunan skripsi ini..
8. Rekan-rekan mahasiswa dan mahasiswi Program Studi S1 Farmasi STIKes Indah Medan yang telah membantu dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari atas kekurangan dalam penyusunan skripsi, untuk itu diharapkan kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga hasil penelitian ini menjadi sumbangan berarti bagi ilmu pengetahuan pada umumnya dan ilmu farmasi pada khususnya.

Akhir kata semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada kita semua dan penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi kita semua khususnya bagi Farmasi.

Medan, 23 November 2024

Rizky Ananda

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Hipotesis	4
1.4 Tujuan Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
1.6 Kerangka Pikir Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Luka.....	7
2.1.1 Penyebab terjadinya luka.....	8
2.1.2 Tahap penyembuhan luka.....	9
2.1.3 Mekanisme penyembuhan luka	9
2.2 Tanaman Toppaspara	10
2.2.1 Nama lain tumbuhan Toppaspara	10
2.2.2 Morfologi Toppaspara	12
2.3 Simplisia	13
2.3.1 Definisi simplisia	13
2.3.2 Jenis simplisia	13
2.3.3 Tahap pembuatan simplisia	14
2.3.4 Karakterisasi simplisia	16
2.4 Ekstraksi	17
2.4.1 Pengertian ekstraksi	18
2.4.2 Metode ekstraksi	18

2.5 Senyawa Metabolit Sekunder	20
2.5.1 Alkaloid	21
2.5.2 Flavonoid	22
2.5.3 Tanin	23
2.5.4 Steroid/triterpenoid	24
2.5.5 Glikosida	24
2.5.6 Saponin	26
2.6 Tikus (<i>Ratus norvegicus</i>)	26
2.7 Kolagen	28
2.8 Kitosan	29
2.9 <i>Scaffold</i>	30
BAB III METODE PENELITIAN	32
3.1 Rancangan Penelitian	32
3.1.1 Jadwal penelitian	32
3.1.2 Lokasi penelitian	32
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	32
3.2.1 Alat penelitian	32
3.2.2 Bahan penelitian	33
3.3 Hewan Percobaan	33
3.4 Pembuatan Larutan Pereaksi	33
3.4.1 Larutan pereaksi Mayer	33
3.4.2 Larutan molish	33
3.4.3 Larutan pereaksi Dragendorff	34
3.4.4 Larutan pereaksi Bouchardat	34
3.4.5 Larutan pereaksi Libermann-Burchard	34
3.4.6 Larutan pereaksi besi (III) korida 4,5%	34
3.4.7 Larutan timbal asetat 0,4 M	34
3.4.8 Larutan natrium hidroksida 2 N	34
3.4.9 Larutan asam klorida 2 N	34
3.4.10 Larutan asam sulfat 2 N	35
3.5 Pengolahan Tumbuhan Toppaspara	35
3.5.1 Identifikasi tumbuhan	35

3.5.2 Pengambilan sampel	35
3.5.3 Proses pembuatan simplisia daun toppaspara.....	35
3.5.4 Pembuatan ekstrak daun toppaspara secara perkolasi	36
3.6 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia	36
3.6.1 Pemeriksaan makroskopik	36
3.6.2 Pemeriksaan mikroskopik	37
3.6.3 Penetapan kadar air simplisia daun toppaspara	37
3.7 Skrining Fitokimia	38
3.7.1 Pemeriksaan alkaloid	38
3.7.2 Pemeriksaan flavonoid	39
3.7.3 Pemeriksaan glikosida	40
3.7.4 Pemeriksaan saponin	40
3.7.5 Pemeriksaan steroid/triterpenoid	41
3.7.6 Pemeriksaan tanin	41
3.8 Pembuatan Kolagen-Kitosan.....	41
3.9 Prosedur Pembuatan <i>Scaffold</i> Kolagen-Kitosan	41
3.9.1 Pembuatan larutan asam sitrat 2%	41
3.9.2 Pembuatan larutan asam asetat 0,2 M	41
3.9.3 Pembuatan larutan kolagen 1%	42
3.9.4 Pembuatan larutan kitosan 3%	42
3.9.5 Cara pembuatan <i>buffer</i> sitrat	42
3.10 Kolagen-Kitosan dengan Penambahan Gliserol.....	42
3.11 Pembuatan <i>Scaffold</i> dengan Penambahan Gliserol	43
3.12 Uji tarik	43
3.13 Uji sitotoksitas.....	44
3.14 Uji degradasi	45
3.15 Uji ketebalan	46
3.16 Pengukuran Penyembuhan Luka Sediaan Pada Hewan Uji	47
3.16.1 Perhitungan presentase penyembuhan luka buatan	48
3.17 Perhitungan Statistik Terhadap Hasil yang Diperoleh	49
3.17.1 Menghitung simpangan baku.....	49
3.17.2 Uji Anava.....	50

BAB VI HASIL DAN PEMBAHASAN	51
4.1 Identifikasi Tumbuhan	51
4.2 Hasil Pemeriksaan Karakteristik Simplisia	51
4.2.1 Hasil pemeriksaan makroskopik	51
4.2.2 Hasil pemeriksaan mikroskopik	51
4.2.3 Hasil pemeriksaan kadar air	51
4.2.4 Hasil pemeriksaan fitokimia	52
4.3 Hasil pembuatan <i>scaffold</i> dengan penambahan gliserol	53
4.3.1 Hasil uji <i>swelling</i>	53
4.3.2 Hasil uji degradasi	55
4.3.3 Hasil uji ketebalan	56
4.5 Hasil Uji Statistik	63
4.5.1 Hasil uji <i>swelling</i>	63
4.5.2 Hasil uji degradasi	64
BAB V KESIMPULAN SARAN	66
5.1 Kesimpulan	66
5.2 Saran	66
DAFTAR PUSTAKA	67
LAMPIRAN	70

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1 Kerangka pikir penelitian	6
Gambar 2.1 Daun toppaspara	11
Gambar 2.2 Struktur kimia alkaloid.....	21
Gambar 2.3 Struktur dasar flavonoid	22
Gambar 2.4 Struktur kimia tanin.....	23
Gambar 2.5 Struktur dasar steroid	24
Gambar 2.6 Struktur glikosida	25
Gambar 2.7 Struktur Saponin.....	26
Gambar 2.8 Hewan coba tikus	27
Gambar 2.9 Kolagen	28
Gambar 2.10 Kitosan	29
Gambar 3.1 Cara mengukur diameter luka buatan.....	48
Gambar 4.1 Grafik hubungan antara % <i>swelling</i> terhadap lama perendaman <i>scaffold</i>	54
Gambar 4.2 Grafik hubungan antara % degradasi terhadap variasi konsentrasi <i>scaffold</i>	55
Gambar 4.3 Grafik presentase luka buatan pada tikus.....	59
Gambar 4.4 Grafik presentase perkembangan penyembuhan luka buatan	61

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Data biologis tikus	27
Tabel 4.1 Hasil srining fitokimia	52
Tabel 4.2 Data hasil pengukuran diameter luka berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun toppaspara	56
Tabel 4.3 Hasil pengukuran ketebalan sampel <i>scaffold</i>	58
Tabel 4.4 Hasil uji variasi (ANAVA)	60
Tabel 4.5 Hasil uji BNT	63

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat hasil identifikasi tumbuhan daun toppaspara	70
Lampiran 2. Surat <i>ethichal clearance</i>	71
Lampiran 3. Gambar tumbuhan toppaspara, simplisia daun toppaspara, dan ekstrak etanol daun toppaspara	72
Lampiran 4. Gambar alat-alat yang digunakan	73
Lampiran 5. Bagan kerja pembuatan simplisia dan ekstrak etanol daun toppaspara	74
Lampiran 6. Bagan alir uji kadar air simplisia daun toppaspara.....	75
Lampiran 7. Hasil penetapan kadar air	76
Lampiran 8. Pembuatan scaffold ekstrak etanol daun toppaspara	77
Lampiran 9. Pengujian efek <i>scaffold</i> ekstrak etanol daun toppaspara	78
Lampiran 10. Hasil skrining fitokimia daun toppaspara.....	79
Lampiran 11. Gambar sediaan <i>scaffold</i> ekstrak etanol daun toppaspara	80
Lampiran 12. Gambar perkembangan penyembuhan luka tanpa pengobatan .	82
Lampiran 13. Gambar perkembangan penyembuhan luka hewan percobaan yang diobati dengan deasar <i>scaffold</i>	83
Lampiran 14. Gambar perkembangan penyembuhan luka hewan percobaan yang diobati dengan EETP 1%.....	84
Lampiran 15. Gambar perkembangan penyembuhan luka hewan percobaan yang diobati dengan EEDTp 2%	85
Lampiran 16. Gambar perkembangan penyembuhan luka hewan percobaan yang diobati dengan EEDTp 3%	86
Lampiran 17. Gambar perkembangan penyembuhan luka hewan percobaan yang diobati dengan salep binasol.....	87
Lampiran 18. Contoh perhitungan statistik persen kesembuhan luka hewan ..	88
Lampiran 19. Data dan hasil perhitungan perkembangan kesembuhan luka pada kulit tikus dengan berbagai perlakuan	90
Lampiran 20. Uji analisa varian (ANAVA).....	99

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu alternatif untuk pengobatan penyembuhan luka yaitu menggunakan obat tradisional. Obat tradisional telah menjadi warisan budaya bangsa yang perlu dikembangkan agar dapat dimanfaatkan secara maksimal untuk peningkatan pelayanan kesehatan (Dewi *et al.*, 2014). Tanaman obat memiliki aktivitas biologis dan medis yang luas, memiliki tingkat keamanan yang baik, mudah didapatkan dan penggunaan biaya yang murah (Pradhan *et al.*, 2013).

Komplikasi yang berbahaya dan mengancam nyawa penderitanya apabila penyakit tersebut tidak segera ditangani dengan tepat. Penatalaksanaan luka secara menyeluruh sangat diperlukan. Perawatan luka yang umumnya dilakukan adalah dengan teknik konvensional, luka dibersihkan dan dibalut dengan kassa yang lembab. Kelemahan teknik ini adalah perlunya mengganti kassa sebelum kassa mengering (Colin dan Listiana, 2022). Selain itu, perawatan luka secara konvensional tidak dapat menjaga kelembaban luka dengan baik (Hutagalung *et al.*, 2023). Metode perawatan luka yang berkembang saat ini dengan metode *modern wound dressing* dengan prinsip *moisture balance*, yang lebih efektif dibandingkan metode konvensional, membuat luka tetap dalam suasana lembab. Pada suasana lembab proliferasi sel lebih cepat, mencegah kematian sel, mempercepat *angiogenesis*, meningkatkan pemecahan jaringan mati dan fibrin, serta mengurangi rasa nyeri (Nabila *et al.*, 2018).

Scaffold adalah struktur yang digunakan dalam rekayasa jaringan dan pemberian obat yang menyediakan kerangka pendukung bagi sel untuk tumbuh,

berkembang biak dan berfungsi. *Scaffold* dapat dibuat dari berbagai bahan, termasuk polimer alami dan sintesis, dan dirancang untuk meniru matriks ekstraseluler (ECM) yang ditemukan dalam jaringan biologis (Garg *et al.*, 2012).

Pada penyembuhan luka, *scaffold* memiliki beberapa fungsi seperti berkontribusi sebagai pengantar dan pemeliharaan sel; membantu terciptanya interaksi serta konektivitas antar sel sehingga mendorong proses regenerasi jaringan; sebagai pengirim nutrisi serta produk sampingan sel yang dibutuhkan dalam area luka sehingga mendukung terciptanya kondisi ideal untuk penyembuhan luka; mempengaruhi tingkah laku sel sehingga memberikan respon penyembuhan yang sesuai; membangun kembali mikro tiga dimensi yang menyerupai matriks ekstraseluler alami yang mendukung suasana yang baik untuk regenerasi dan perbaikan jaringan (Sufiyan *et al.*, 2024).

Karakteristik yang perlu dimiliki *scaffold* agar memastikan efektivitasnya dalam penyembuhan luka yakni *scaffold* harus memiliki kemampuan biokompatibilitas, harus dapat berintegrasi dengan jaringan tubuh tanpa menyebabkan reaksi imun yang merugikan sehingga memungkinkan interaksi yang baik dengan sel-sel di area luka dan biodegradabilitas *scaffold* harus terdegradasi pada tingkat yang selaras dengan proses penyembuhan alami. Ini penting untuk memastikan bahwa bahan *scaffold* tidak tertinggal dalam tubuh setelah penyembuhan luka dan tidak menghambat regenerasi jaringan baru (Sufiyan *et al.*, 2024).

Sufiyan *et al.*, 2024 menunjukkan beberapa penelitian pada luka diabetik, basis hidrogel terbukti dapat membantu mempercepat penyembuhan luka. Matriks hidrogel adalah polimer yang larut dalam air yang terikat silang secara fisik atau

kimia, yang membengkak membentuk zat seperti gel saat terkena air. Hidrogel dapat dibuat dari polimer alami seperti kolagen, dan kitosan. Kelebihan basis ini yakni dapat melindungi obat, terutama protein dari lingkungan yang berpotensi keras di sekitar lokasi pelepasan; memungkinkan waktu tinggal yang lebih lama, dan pelepasan obat terkendali (Susmitha *et al.*, 2017).

Pada penelitian ini digunakan biopolimer gabungan kitosan dan kolagen sebagai bahan pembuatan *scaffold*. Keunggulan biopolimer yakni sangat cocok untuk mengisi peran sebagai komponen struktural dari matriks ekstraseluler dan lingkungan sel kulit. Selain itu, ketika biopolimer mengalami degradasi enzimatik, produk sampingan yang dihasilkan umumnya diterima dengan baik oleh organisme hidup tanpa menimbulkan reaksi toksik (Sufiyan *et al.*, 2024).

Kitosan memiliki banyak keunggulan seperti antibakteri, mempercepat regenerasi jaringan dan sintesis fibroblas dan telah banyak digunakan dalam rekayasa jaringan, juga berfungsi sebagai jembatan untuk meningkatkan kekuatan mekanik kolagen berbasis *scaffold*.

Kolagen, sebagai komponen utama dari matriks ekstraseluler (ECM), sangat penting untuk mendukung perlekatan dan migrasi sel, serta mendorong regenerasi jaringan (Sufiyan *et al.*, 2024).

Metode fabrikasi pada *scaffold* salah satunya adalah *Freeze-Drying*, keunggulannya adalah strukturnya berpori dengan interkoneksi yang baik, yang penting untuk aplikasi rekayasa jaringan, ukuran pori dapat dikontrol dengan mengoptimalkan laju pembekuan dan pH, cocok untuk bahan yang sensitif panas; fleksibel sehingga dapat diaplikasikan pada berbagai polimer, porositas tinggi (Sufiyan *et al.*, 2024).

1.1 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka dibuat rumusan masalah sebagai berikut :

- a. Apakah daun toppaspara simplisia dan ekstrak etanol mengandung berbagai senyawa kimia golongan metabolit sekunder?
- b. Apakah ekstrak etanol daun toppaspara dapat diformulasikan menjadi bentuk sediaan *scaffold*?
- c. Apakah *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol yang mengandung ekstrak daun toppaspara dapat menyembuhkan luka buatan pada tikus?
- d. Berapakah dosis ekstrak etanol daun toppaspara yang diformulasikan dalam bentuk sediaan *scaffold* yang efektif dalam menyembuhkan luka buatan pada tikus?

1.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas maka dibuat hipotesis sebagai berikut :

- a. Ekstrak daun toppaspara simplisia dan ekstrak etanol mengandung berbagai senyawa kimia golongan metabolit sekunder
- b. Ekstrak daun toppaspara dapat diformulasikan menjadi bentuk sediaan *scaffold*
- c. *Scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol yang mengandung ekstrak etanol daun toppaspara dapat menyembuhkan luka buatan pada tikus
- d. Ekstrak etanol daun toppaspara yang diformulasikan dalam bentuk sediaan *scaffold* pada dosis tertentu efektif dalam menyembuhkan luka buatan pada tikus

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah penelitian dan hipotesis, dibuat tujuan penelitian sebagai berikut :

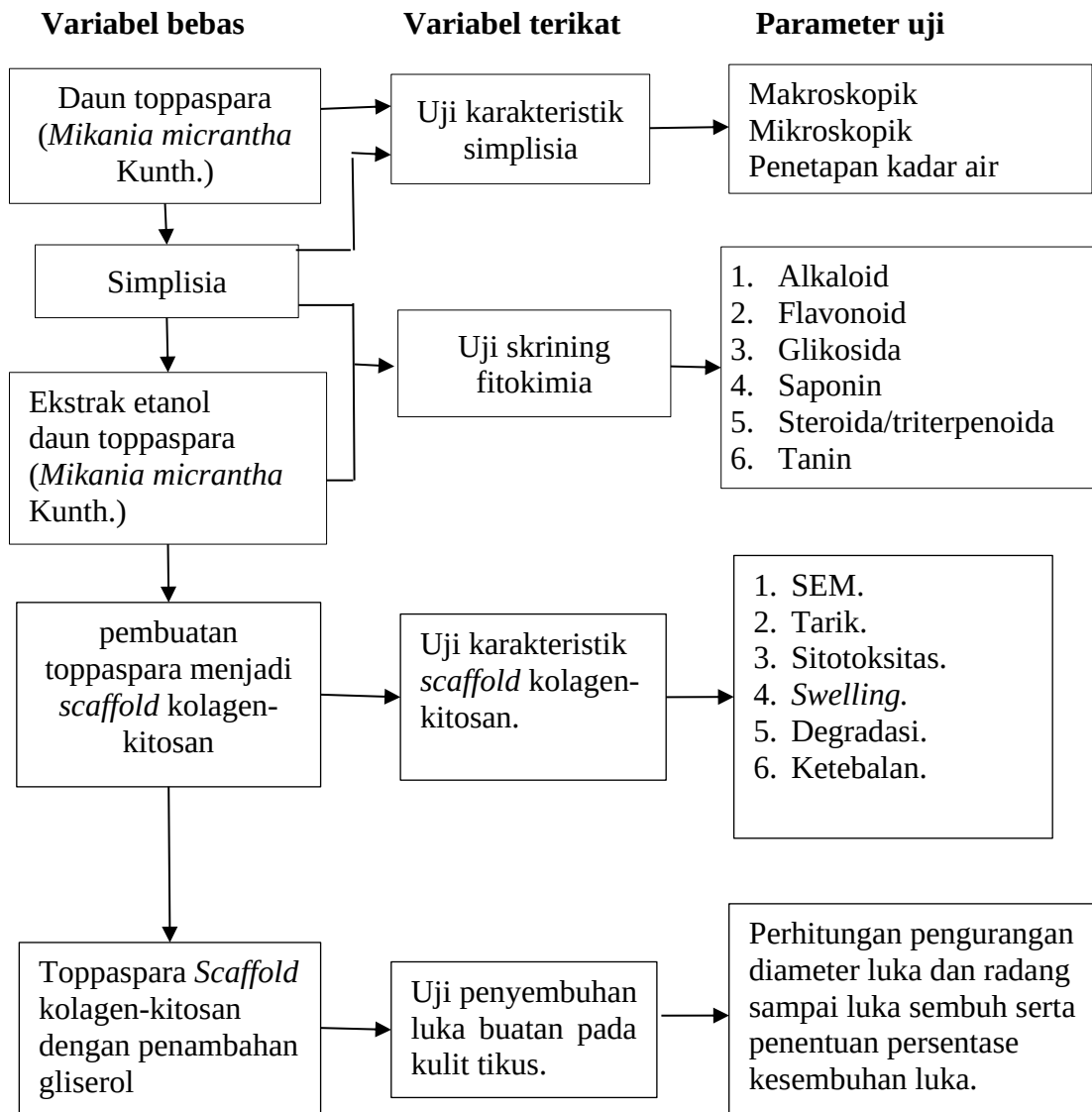
- a. Untuk mengetahui daun toppaspara simplisia dan ekstrak etanol mengandung berbagai senyawa kimia golongan metabolit sekunder?
- b. Untuk mengetahui ekstrak etanol daun toppaspara dapat diformulasikan menjadi bentuk sediaan *scaffold*
- c. Untuk mengetahui penggunaan *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol yang mengandung ekstrak etanol daun toppaspara dapat menyembuhkan luka buatan pada tikus
- d. Untuk mengetahui dosis ekstrak etanol daun toppaspara yang diformulasikan dalam bentuk sediaan *scaffold* yang efektif dalam menyembuhkan luka buatan pada tikus

1.4 Manfaat Penelitian

Sebagai sarana pengembangan pengetahuan ilmu farmasi terutama di bidang Farmakologi mengenai pengaruh ekstrak daun toppaspara yang diformulasikan dalam sediaan *scaffold* kolagen-kitosan terhadap penyembuhan luka buatan pada kulit tikus. Serta dapat menambah wawasan peneliti tentang pengaruh dari ekstrak daun toppaspara yang diformulasikan dalam sediaan *scaffold* kolagen-Kitosan terhadap penyembuhan luka buatan pada kulit tikus.

1.5 Kerangka Pikir Penelitian

Adapun penelitian ini dilakukan dengan kerangka pikir seperti yang dapat dilihat pada Gambar



Gambar 1.1 Kerangka pikir penelitian

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Luka

Luka adalah rusaknya suatu jaringan oleh karena jejas atau sengaja di buat pada saat tindakan medis. Jejas dapat disebabkan oleh berbagai hal, yaitu berasal dari faktor mekanik seperti trauma karena benda tumpul maupun tajam, faktor fisik seperti paparan suhu panas maupun dingin, dan faktor kimia oleh karena zat asam atau basa (Mardiantoro *et al*, 2018).

Rusaknya struktur dan fungsi anatomi kulit maka tubuh akan merespon dan memicu proses penyembuhan luka (Yunanda, 2016). Penyembuhan luka dapat diartikan sebagai proses fisiologi tubuh untuk menormalkan kembali struktur dan fungsi anatomi kulit. Proses penyembuhan luka melalui tiga tahapan yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase maturasi (Palumpun dan Wiraguna, 2017). Luka akan mengalami kegagalan penyembuhan jika ada faktor yang menghambat. Faktor yang menghambat penyembuhan luka seperti infeksi, hematoma dan benda asing. Pengobatan dari luka bertujuan untuk mengurangi faktor-faktor risiko yang menghambat penyembuhan luka, mempercepat proses penyembuhan dan menurunkan kejadian luka yang terinfeksi (Soni dan Singhai, 2013).

Myofibroblast memainkan peranan penting dalam perbaikan jaringan dengan memproduksi dan mengatur matriks ekstraseluler selanjutnya mendorong kontraksi luka. Berdasarkan study ini, kondisi hiperglikemia dapat mengganggu jalur pensinyalan sitokin (seperti jalur faktor pertumbuhan- β) yang mempengaruhi diferensiasi *fibroblast*, mengubah apoptosis *fibroblast*, mendisregulasi lipolisis dermal, dan meningkatkan kerusakan hipoksia, sehingga menyebabkan lingkungan

mikro yang rusak untuk pembentukan *myofibroblast*, ekstraseluler yang tidak sesuai. Juga modulasi matriks, dan kontraksi luka yang melemah (Zainab,2023).

2.1.1 Penyebab terjadinya luka

Jenis luka terbuka dan penyebabnya adalah sebagai berikut:

- a. Luka abrasi atau luka lecet: merupakan luka dangkal dan tidak teratur pada lapisan kulit lapisan kulit yang paling atas atau epidermis. Luka ini dapat terjadi akibat gesekan pada permukaan kasar atau permukaan halus dengan kecepatan tinggi.
- b. Laserasi: merupakan luka seperti robekan dengan tepi robekan tidak teratur yang biasanya lebih dalam dari luka abrasi dan menimbulkan nyeri lebih besar serta menimbulkan pendarahan. Laserasi umumnya disebabkan oleh trauma akibat benda tajam atau kontak dengan suatu objek, yang mungkin disebabkan oleh pukulan keras, benturan, atau kecelakaan.
- c. Insisi atau sayatan: luka ini kemungkinan besar merupakan akibat dari prosedur pembedahan atau sayatan kulit dengan benda tajam seperti pisau atau pisau bedah.
- d. Tusukan: merupakan luka bulat kecil yang diakibatkan oleh benda dengan ujung runcing tipis, seperti jarum, paku atau gigi (dalam kasus gigitan manusia atau hewan).
- e. Luka paneterasi: merupakan luka yang dapat disebabkan oleh objek atau tekanan yang menembus kulit hingga ke organ atau jaringan bawahnya.
- f. Luka tembak: merupakan jenis luka panetrasi yang hanya disebabkan oleh peluru dari senjata api (Devi, *et al*, 2023).

2.1.2 Tahapan penyembuhan luka

Adapun tahapan penyembuhan luka terbagi menjadi 3 tipe yaitu sebagai berikut ini:

a. Penyembuhan luka Primer

Tipe ini, tepi luka akan menyatu sempurna karena tidak ada bagian yang hilang sehingga penyembuhan akan bergerak dari internal ke eksternal.

b. Penyembuhan luka sekunder

Tipe ini terdapat kehilangan sebagian jaringan, sehingga penyembuhan akan dimulai dengan terbentuknya granulasi pada dasar luka hingga ke permukaan.

c. Penyembuhan luka tertier

Tipe ini merupakan penyembuhan luka yang terganggu oleh karena adanya infeksi atau gangguan penyembuhan karena faktor lain, penyembuhan akan berjalan lambat dan lama (Mardiantoro, 2018).

2.1.3 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 keadaerah luka yang selanjutnya akan mengalami penyembuhan luka (proses sel-sel yang atau 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 di netralkan 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).

2.2 Tanaman Toppaspara

Toppaspara termasuk dalam famili asterace. Tanamaman ini merupakan gulma invasif yang sulit dikendalikan. Tumbuh merambat menutupi inangnya dan berkompetensi untuk mendapatkan nutrisi tanah, cahaya matahari dan air (Sankaran, 2015). Tanaman toppaspara merupakan tanaman asli Amerika Selatan dan Amerika Tengah. Tanaman ini memiliki potensi penyebaran di negara dengan iklim tropis dan subtropis serta daerah timur laut india, banyak tumbuh di daerah lembab dan sering dijumpai di daerah Asia Tenggara biasanya tumbuh pada lahan-lahan perkebunan dan pertanian seperti kelapa sawit, teh, kopi, jeruk dan karet (Tripathi *et al.*, 2011).

2.2.1 Nama lain tumbuhan Toppaspara

Toppaspara (Indonesia), blukar (Sumatera), brojo lego (Jawa), hila hitu lama (Ambon), akar bulou (Kalimantan), caputuheun (Sunda), siroppaspara,

american rope (Amerika), *chinese creeper* (Cina), *dhritarashtra pacha* (India), ulam tikus (Malaysia), siroppasparah (Tapanuli Selatan).

Mikania micrantha sangat mudah didapatkan di alam, menurut Sellers *et al.*, (2010) habitat yaitu daerah basah, hutan, lahan terbuka, kanal, sungai, pinggir jalan, padang rumput dan wilayah pertanian. *Mikania micrantha* dapat tumbuh dengan baik pada keadaan lingkungan yang terpapar sinar matahari tinggi, suhu $>21^{\circ}\text{C}$, pH tanah 4,15- 8,35 serta kelembapan tanah $>15\%$ (Tripathi *et al.*, 2011).

Klasifikasi Toppaspara (*Mikania mikrantha*) menurut Sankaran (2012) yaitu sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Super divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Asteridea
Ordo	: Asterales
Famili	: Asteraceae
Genus	: Mikania
Spesies	: <i>Mikania micrantha</i> Kunth.



Gambar 2.1 Daun Toppaspara

2.2.2 Morfologi tanaman toppaspara

Toppaspara (*Mikania micrantha*) memiliki akar tunggang primer atau akar lembaga yang terus membesar dan memanjang. Batang *Mikania micrantha* berwarna hijau muda, berambut, tumbuh menjalar, memiliki banyak cabang dan panjang batang bisa mencapai 3-6 m. Tanaman ini dikatakan gulma yang berdaun lebar dengan bentuk daun segitiga (*cordate*) ujung meruncing dan tepi bergerigi yang terdapat pada ruas batang dengan letak saling berhadapan. Bunga *Mikania micrantha* berwarna putih, tumbuh dari ketiak daun atau ujung tunas, bunga berukuran kecil dengan panjang 4,5-6 mm. Biji *Mikania micrantha* berwarna coklat kehitaman panjangnya 2 mm, biji dihasilkan dalam jumlah yang cukup besar (Haryanto, 2016).

Mikania micrantha merupakan tumbuhan perdu yang membelit atau merambat dan bercabang banyak. Daunnya yang berbentuk hati tersusun berhadapan dan bertangkai agak panjang. Daun tersusun berhadapan, bentuk oval sampai oval-triangular dengan dasar daun membelah dalam dan tipis, ujung meruncing; tepi daun bergigi kasar atau dangkal, bergelombang atau rata; kedua permukaan berambut halus. Memiliki bunga dengan panjang 4,5 - 6 mm dan berjumlah banyak. Bunganya kecil-kecil berwarna merah muda keputihan, berkelompok di ujung percabangan atau ketiak daun. Tumbuhan ini memiliki batang yang tumbuh menjalar berwarna hijau muda, bercabang dan ditumbuhi rambut-rambut halus. Panjang batang dapat mencapai 3-6m. Pada tiap ruas terdapat dua helai daun yang saling berhadapan, tunas baru dan bunga. Permukaan daun seperti mangkok dengan tepi daun bergerigi. Biji dihasilkan dalam jumlah besar,

berwarna coklat kehitaman dengan panjang 2mm. Tumbuhan ini termasuk ke dalam kelompok liana pembelit (Twiner) (Deddy,2013).

Mikania micrantha telah digunakan Di Amerika Selatan dan Asia Tenggara sebagai obat tradisonal untuk mengobati beberapa penyakit. Daun *Mikania micrantha* dikonsumsi sebagai jus dan sebagai tapal untuk mengobati gigitan serangga atau sengatan kalajengking. Tumbuhan ini juga digunakan untuk mengobati penyakit kulit seperti ruam dan gatal-gatal (Ishak *et al.*, 2016). *Mikania micrantha* telah dikonsumsi di Malaysia sebagai jus (dibuat dengan metode rebusan) untuk mengobati diabetes, stroke, hiperkolestrolemia dan hipertensi. *Mikania micrantha* di Fiji digunakan untuk penyembuhan luka dan menghentikan pendarahan eksternal minor, sedangkan di Bangladesh *Mikania micrantha* telah digunakan sebagai antiseptik (Dev *et al.*, 2015).

2.3 Simplisia

2.3.1 Definisi Simplisia

Simplisia adalah bahan berasal dari alam yang belum mengalami pengolahan dan telah dikeringkan terlebih dahulu yang digunakan untuk pengobatan, juga merupakan bahan alami yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun dan berupa bahan yang telah dikeringkan.

2.3.2 Jenis Simplisia

Simplisia sendiri dibagi menjadi tiga golongan yaitu, simplisia nabati, simplisia hewani serta simplisia pelikan atau mineral. Menurut (Utami *et al.*, 2013) simplisia terbagi menjadi tiga, yaitu:

- a. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman (isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau

dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya ataupun zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni).

- b. Simplisia hewani adalah simplisia yang merupakan hewan utuh, sebagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni yang berasal dari hewan.
- c. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah dengan cara yang sederhana dan belum berupa zat kimia murni.

2.3.3 Tahap pembuatan simplisia

Pembuatan simplisia merupakan tahap awal yang dilakukan untuk menghasilkan serbuk simplisia, yang akan digunakan sebagai bahan obat. Menurut (Depkes, 1985) pembuatan simplisia sebagai berikut:

- a. Pengumpulan bahan baku

Kadar senyawa aktif dalam suatu simplisia berbeda-beda, antara lain tergantung pada bagian tanaman yang digunakan, umur tanaman atau bagian tanaman saat panen, waktu panen, dan lingkungan tempat tumbuh.

- b. Sortasi basah

Sortasi basah bertujuan untuk memisahkan bahan-bahan asing yang tidak berguna atau berbahaya saat pembuatan simplisia. Misalnya rumput, kotoran binatang, bahan-bahan yang busuk, dan benda lain yang mempengaruhi kualitas simplisia.

c. Pencucian

Pencucian berguna untuk menghilangkan kotoran dan mengurangi mikroorganisme yang menempel pada bahan.

d. Perajangan

Beberapa jenis bahan simplisia perlu mengalami proses perajangan. Perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan, dan penggilingan. Tanaman yang baru diambil sebaiknya tidak langsung dirajang, tetapi di jemur dalam keadaan utuh selama 1 hari. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau atau mesin perajangan khusus, sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki dan seragam.

e. Pengeringan

Faktor yang mempengaruhi pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan (cepat), dan luas permukaan bahan.

f. Sortasi kering

Tujuan sortasi adalah memisahkan benda asing, seperti bagian bagian yang tidak diinginkan dan kotoran lain yang masih ada tertinggal.

g. Pengemasan dan penyimpanan

Tujuan pengemasan adalah untuk melindungi agar simplisia tidak rusak atau berubah mutunya karena beberapa faktor, baik dari dalam maupun dari luar seperti cahaya, oksigen, reaksi kimia intern, dehidrasi, penyerapan air, kotoran dan serangga. Sebaiknya penyimpanan simplisia pada tempat yang kering, dan terhindar dari sinar matahari langsung.

2.3.4 Karakterisasi simplisia

Karakterisasi simplisia berarti simplisia yang akan digunakan sebagai bahan baku obat harus memenuhi persyaratan yang tercantum dalam monografi yang diterbitkan oleh Kementerian Kesehatan. Sedangkan sebagai produk yang langsung dikonsumsi misalnya serbuk jamu yang masih harus memenuhi persyaratan produk farmasi sesuai ketentuan yang berlaku (Depkes, 2000).

Menurut Departemen Kesehatan Republik Indonesia (2000), karakterisasi simplisia meliputi:

a. Pemeriksaan makroskopik

Dilakukan dengan menggunakan kaca pembesar atau tanpa menggunakan alat untuk mencari kekhususan morfologi, ukuran dan warna simplisia yang diuji. Pemeriksaan yang dilakukan meliputi warna, bentuk, ukuran, permukaan, pangkal, dan ujung.

Parameter organoleptis simplisia adalah pendeskripsian menggunakan pancaindra meliputi warna, bentuk, bau dan rasa. Penentuan parameter ini bertujuan untuk memberikan pengenalan awal yang sederhana pada simplisia.

b. Pemeriksaan mikroskopik

Dilakukan dengan menggunakan mikroskop yang derajat perbesarannya disesuaikan dengan keperluan untuk mencari unsur-unsur anatomi jaringan yang khas, sehingga akan diketahui jenis simplisia berdasarkan fragmen pengenal yang spesifik untuk setiap simplisia. Simplisia yang diuji dapat berupa sayatan melintang, radial, paradermal maupun membujur atau berupa serbuk.

c. Kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam

Parameter kadar abu simplisia adalah simplisia dipanaskan pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi serta menguap. Sehingga tinggal unsur mineral dan anorganik. Tujuannya memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya simplisia. Sedangkan kadar abu tidak larut asam tujuannya ialah untuk mengetahui jumlah abu yang di peroleh dari faktor luar, bersumber dari pengotor yang berasal dari pasir atau tanah silikat. Parameter kadar abu total adalah 6%, untuk kadar abu tidak larut asam adalah 1,5%.

d. Kadar air

Pengukuran kandungan air yang berada didalam bahan, dilakukan dengan cara tepat di antara titrasi, destilasi atau gravimetri. Tujuan memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air di dalam bahan. Parameter kadar air daun adalah 5%.

e. Kadar sari larut air dan etanol

Parameter ekstrak larut air dan etanol adalah melarutkan simplisia dengan pelarut (alkohol atau air) untuk menentukan jumlah zat terlarut yang identik dengan jumlah kandungan senyawa secara gravimetri. Dalam kasus tertentu, senyawa terlarut dalam pelarut lain seperti heksan, diklorometana, metanol dapat diukur. Tujuannya untuk memberikan gambaran awal jumlah kandungan senyawa. Parameter sari larut dalam air adalah 18% dan parameter sari larut dalam etanol adalah 12,5%.

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan yang dilakukan untuk menarik kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan

menggunakan pelarut cair. Mutu dari ekstrak dalam proses ekstraksi dipengaruhi oleh banyak faktor, diantaranya yaitu teknik ekstraksi, waktu ekstraksi, suhu, jenis pelarutan, konsentrasi dan konsentrasi perbandingan bahan-pelarut (Rosidah *et al.*, 2015).

2.4.1 Pengertian ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu cara penarikan kandungan kimia yang terdapat dalam suatu simplisia yang dapat larut pada pelarut tertentu, sehingga dapat dipisahkan dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair sehingga menghasilkan ekstrak. Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes, 2000).

2.4.2 Metode ekstraksi

Metode ekstraksi merupakan cara yang digunakan untuk menghasilkan ekstrak kental. Tujuan ekstraksi adalah menarik atau memisahkan senyawa dari campurannya atau simplisia. Ekstraksi sendiri terbagi menjadi dua, yaitu ekstraksi cara dingin dan ekstraksi cara panas (Hanani, 2016).

a) Ekstraksi cara dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah cara ekstraksi simplisia dengan merendam dalam pelarut pada suhu kamar sehingga atau degradasi metabolit dapat diminimalisasi dan dilakukan beberapa kali pengadukan atau pengocokan pada temperatur kamar. Pada maserasi, terjadi proses keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di

dalam sel sehingga diperlukan penggantian pelarut secara berulang (Hanani, 2016).

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan suatu metode ekstraksi yang dilakukan dengan menggunakan pelarut yang selalu baru. Umumnya perkolasi dilakukan pada suhu ruangan. Prinsip dari metode perkolasi yaitu tempatkan serbuk simplisia dalam suatu wadah bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Proses perkolasi terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Depkes, 2000).

b) Ekstraksi cara panas

a.Refluks

Refluks merupakan suatu metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut pada suhu titik. Memang, selama waktu tertentu dengan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Metode refluks umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Depkes, 2000).

b. Sokletasi

Sokletasi adalah metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru dan pada umumnya dilakukan dengan menggunakan alat khusus sehingga proses ekstraksi terjadi secara kontinu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Biomasa ditempatkan dalam suatu wadah soklet yang terbuat dari kertas saring, melalui alat ini pelarut akan terus diarahkan. Alat soklet akan mengkosongkan isinya ke dalam labu alas bulat setelah pelarutnya

mencapai kadar tertentu. Setelah pelarut segar melewati alat ini dan melalui pendingin refluks, ekstraksi berlangsung sangat efisien dan senyawa dari biomasa secara efektif ditarik ke dalam pelarut karena konsentrasi awalnya rendah dalam pelarut (Depkes, 2000).

c. Digesti

Digesti merupakan metode ekstraksi suatu dengan maserasi kinetik (dengan pengadukan terus-terus menerus), dan dilakukan pada suhu ruangan (kamar). Ekstraksi dengan metode digesti secara umum dilakukan pada suhu 40-50°C (Depkes, 2000).

d. Infudasi

Infundasi adalah proses penyarian yang umumnya dilakukan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Proses ini dilakukan pada suhu 90°C selama 15 menit (Depkes, 2000).

e. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan suhu sampai titik didih air, yakni 30 menit pada suhu 90-100°C (Depkes, 2000).

2.5 Senyawa Metabolit Sekunder

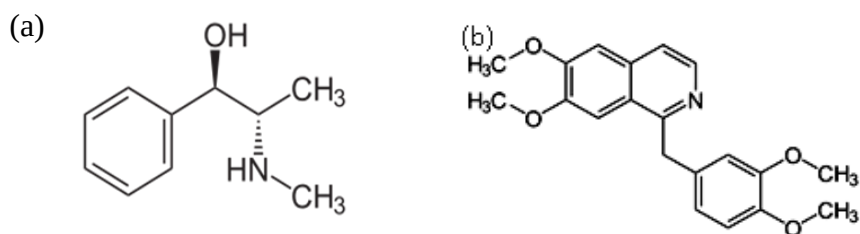
Salah satu kandungan yang jumlahnya sangat melimpah pada tanaman adalah senyawa metabolit sekunder. Senyawa ini berperan penting dalam perlindungan diri. Selain itu, senyawa metabolit sekunder ini sangat mempengaruhi hubungan organisme dengan lingkungan sekitarnya misalnya dalam melindungi diri dari gangguan hama yang dapat mengganggu kelangsungan hidupnya. Adapun beberapa penggolongan senyawa ini yaitu alkaloid, flavonoid, terpenoid, tannin, saponin dan poliketida.

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.

2.5.1 Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa organik mengandung unsur nitrogen (N) dan secara umum terletak pada cincin heterosiklis memiliki efek farmakologi pada manusia dan hewan. Secara alamiah alkaloid disimpan di dalam biji, buah, batang, akar, daun dan organ lain. Penamaan alkaloid berasal dari kata alkalin, terminologi ini menjelaskan adanya atom basa nitrogen. Alkaloid ditemukan di dalam tanaman (contoh vinca dan datura), hewan (kerang) dan fungi. Alkaloid biasanya diturunkan dari asam amino serta banyak alkaloid yang bersifat racun. Alkaloid juga banyak ditemukan untuk pengobatan. Dan hampir semua alkaloid memiliki rasa yang pahit (Endarini, 2016)

Senyawa alkaloid terdapat dalam 2 bentuk, yaitu bentuk bebas/bentuk basa dan dalam bentuk garamnya. Alkaloid dalam bentuk basa akan mudah larut dalam pelarut organik seperti eter, kloroform, sedangkan senyawa alkaloid dalam bentuk garam lebih mudah larut dalam air. Alkaloid biasanya berasa pahit dan memiliki aktivitas farmakologis tertentu (Endarini, 2016).



Gambar 2.2 Struktur kimia alkaloid

(a) Efedrin (Golongan non heterosiklik) (b) Kofein (Golongan heterosiklik)

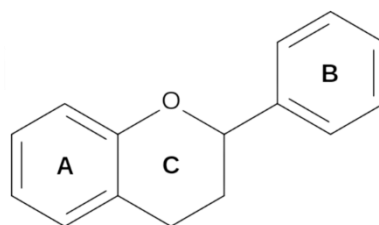
(Sumber: Harbone, 1984)

2.5.2 Flavonoid

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa flavonoid ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagian zat warna kuning yang terdapat dalam tanaman. Sebagai pigmen bunga, flavonoid jelas berperan dalam menarik serangga untuk membantu proses penyerbukan. Beberapa kemungkinan fungsi flavonoid yang lain bagi tumbuhan adalah sebagai zat pengatur tumbuh, pengatur proses fotosintesis, zat antimikroba.

antivirus dan antiinsektisida. Senyawa flavonoid merupakan golongan senyawa fenol, mekanisme kerjanya dengan mendenaturasikan protein sel dan merusak membran sel mikroorganisme. Substansi yang dapat mendenaturasikan protein dan merusak sel tanpa dapat diperbaiki lagi sehingga pertumbuhan mikroba terhambat. Beberapa flavonoid sengaja dihasilkan oleh jaringan tumbuhan sebagai respon terhadap infeksi atau luka yang kemudian berfungsi menghambat fungsi menyeranganya (Endarini, 2016).

Telah banyak flavonoid yang diketahui memberikan efek fisiologis tertentu. Oleh karena itu, tumbuhan yang mengandung flavonoid banyak dipakai dalam pengobatan tradisional. Berdasarkan strukturnya, terdapat beberapa jenis flavonoid yang bergantung pada tingkat oksidasi rantai propan, yaitu kalkon, flavan, flavanol (katekin), flavanon, flavanonol, flavon, flavanon, antosianidin, auron (Endarini, 2016).

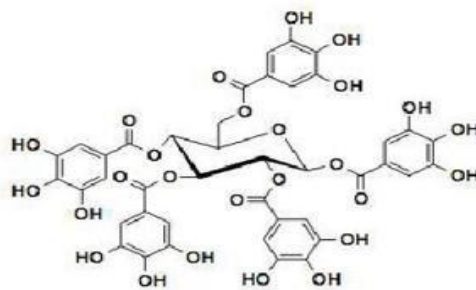


Gambar 2.3 Struktur kimia flavonoid (Harbone, 1987)

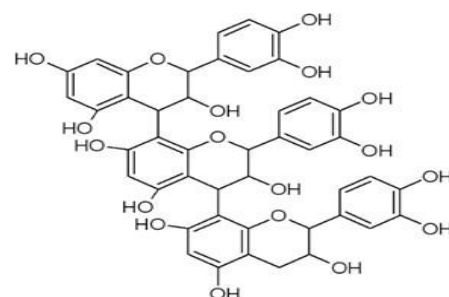
2.5.3 Tanin

Tanin merupakan suatu senyawa polifenol yang tersebar luas dalam tumbuhan, dan pada beberapa tanaman terdapat terutama dalam jaringan kayu seperti kulit, batang, dan jaringan lain, yaitu daun dan buah. Beberapa pustaka mengelompokkan tanin dalam senyawa golongan fenol, sering digunakan sebagai antiseptik yang memiliki aktivitas antibakteri, dalam konsentrasi tinggi dapat menembus dan mengganggu dinding sel dan protein dalam sel bakteri. Sifat tannin sebagai astringen dapat dimanfaatkan sebagai antidiare, menghentikan pendarahan, dan mencegah peradangan terutama pada mukosa mulut, serta digunakan sebagai antidotum pada keracunan logam berat dan alkaloid (Hanani, 2016).

- a. Tanin terhidrolisa terdiri dari polihidrik yang mengandung ester glikosida. Tanin dapat terhidrolisa dengan asam atau enzim dan bila dihidrolisa tanin ini menghasilkan warna biru kehitaman. Contohnya asam gallat dan asam ellagat, maka disebut gallotanin. Gallotanin terdapat pada mawar merah, kacang, daun eucaplitis, dan lain-lain.
- b. Tanin terkondensasi merupakan polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon-karbon berupa *cathecin* dan *gallocthecin*, hampir terdapat semesta di dalam paku-pakuan dan gymnospermae, serta tersebar luas dalam angiospermae, terutama pada jenis tanaman berkayu (Endarini, 2016).



Tanin terhidrolisis (Galotanin)

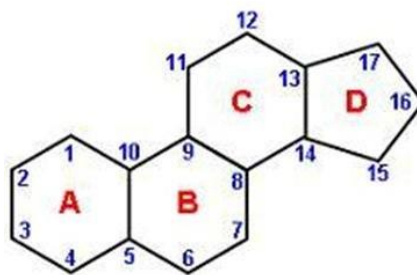


Tanin terkondensasi (Prosiandin)

Gambar 2.4 Contoh struktur kimia tanin (Harbone, 1987)

2.5.4 Steroid/triterpenoid

Steroid merupakan suatu golongan senyawa triterpenoid yang memiliki struktur inti siklopentana perhidrofenantren yang terdiri dari tiga cincin sikloheksana dan sebuah cincin siklopentana. Nama sterol dipakai khusus untuk steroid alkohol, tetapi karena semua steroid tumbuhan sering disebut sterol. Sterol biasa terdapat dalam bentuk bebas atau sebagai glikosida, umumnya senyawa terpenoid di ekstraksi dari simplisia tumbuhan menggunakan pelarut yang bersifat non polar (eter, heksana, kloroform), sedangkan dalam bentuk glikosida (umumnya dari triterpen), kelarutannya lebih besar dalam pelarut polar (Harbone, 1987).



Gambar 2.5 Contoh struktur dasar steroid (Harborne, 1987)

Terpenoid adalah suatu senyawa alam yang terbentuk dengan proses biosintesis, terdistribusi luas dalam dunia tumbuhan dan hewan. Terpenoid terdiri atas beberapa macam senyawa, mulai dari komponen minyak atsiri, yaitu monoterpen dan seskuiterpen yang mudah menguap, diterpen yang lebih sukar menguap, sampai ke senyawa yang tidak menguap, triterpenoid dan sterol serta pigmen karotenoid. Masing-masing golongan terpenoid itu penting, baik pada pertumbuhan dan metabolisme maupun pada ekologi tumbuhan (Endarini, 2016).

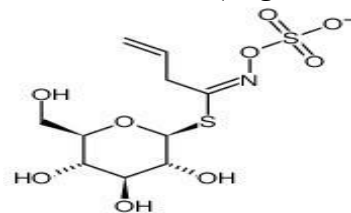
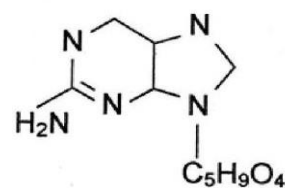
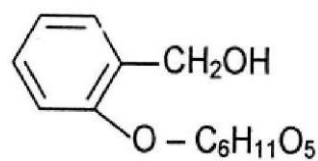
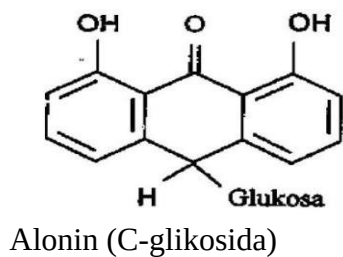
2.5.5 Glikosida

Glikosida adalah senyawa yang tersusun dari satu atau lebih gula (glikon) dan komponen non gula (aglikon). Gula yang sering terdapat pada glikosida adalah

glukosa (disebut glukosida), pentosa (disebut pentosida), fruktosa (disebut fruktosida), galaktosa (disebut galaktosida), dan lain-lain (Robinson, 1995).

Secara kimia glikosida adalah asetal, yaitu gugus hidroksil dari komponen non-gulanya dan gugus hidroksil lain berkondensasi ke dalam gulanya membentuk cincin oksida. Sebagai senyawa hidroksil, mampu membentuk eter dengan alkohol lain. Sifat yang paling penting dari eter tersebut adalah mudah dihidrolisis bagian gula terlepas dari bagian aglikon. Berdasarkan aglikonnya, dikenal beberapa macam glikosida yaitu: kardioaktif, fenol, alkohol, aldehyd, lakton, saponin, antrakinon, isotiosinat, sianogenik, dan flavonol. Berdasarkan atom penghubung bagian gula (glikon) dan bukan gula (aglikon), glikosida dapat dibedakan menjadi (Robinson, 1995):

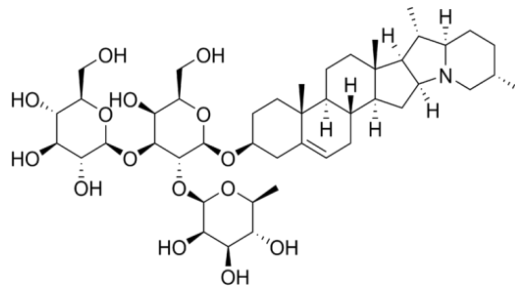
- C-glikosida, jika atom C menghubungkan bagian aglikon dan aglikon, contohnya: alonin.
- N-glikosida, jika atom N menghubungkan bagian glikon dan aglikon, contohnya: guanosin.
- O-glikosida, jika atom O menghubungkan bagian glikon dan aglikon, contohnya: salisin.
- S-glikosida, jika atom S menghubungkan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



Gambar 2.6 Struktur Glikosida (Robinson, 1995)

2.5.6 Saponin

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Dalam larutan yang sangat encer saponin sangat beracun untuk ikan, dan tumbuhan yang mengandung saponin telah digunakan sebagai racun ikan selama beratus-ratus tahun. Beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba. Sifat-sifat saponin: berasa pahit, berbusa dalam air, mempunyai sifat deterjen yang baik, beracun bagi binatang berdarah dingin, mempunyai aktivitas haemolisis, merusak sel darah merah, tidak beracun bagi binatang berdarah panas, mempunyai sifat antieksudatif, mempunyai sifat antiinflamasi (Robinson, 1995).



Gambar 2.7 Struktur saponin (Harborne, 1987)

2.6 Tikus (*Rattus norvegicus*)

Tikus jantan banyak digunakan dibandingkan dengan tikus betina karena tikus jantan menunjukkan periode pertumbuhan yang lebih lama dibandingkan dengan betina.

Taksonomi dari tikus putih adalah sebagai berikut (Moore, 2000):

Kingdom	: Animalia
Divisi	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>



Gambar 2.8 Hewan Coba Tikus (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) atau yang disebut dengan *norway rat* yang berasal dari negeri China yang kemudian menyebar di daerah Eropa bagian barat. Dan pada wilayah Asia Tenggara, tikus putih ini berkembang biak di Filipina, Indonesia, Laos, Singapura dan Malaysia (Moore, 2000). Tikus putih (*Rattus norvegicus*) atau yang disebut dengan *norway rat* yang berasal dari negeri China yang kemudian menyebar di daerah Eropa bagian barat. Dan pada wilayah Asia Tenggara, tikus putih ini berkembang biak di Filipina, Indonesia, Laos Singapura dan Malaysia (Moore, 2000). Tikus wistar ini adalah salah satu jenis *strain* tikus yang hampir banyak digunakan sebagai penelitian laboratorium. Tikus wistar memiliki ciri khas yaitu telinga panjang, kepala lebar, dan memiliki panjang ekor yang selalu kurang dari panjang tubuhnya. Tikus wistar lebih agresif dari pada dengan tikus *sprague Dawley*.

Tabel 2.1 Data Biologis Tikus (Kusumawati, 2004)

No.	Kriteria	Jumlah
1	Berat badan jantan	300 - 400 g
2	Berat badan betina	250 - 300 g
3	Lama hidup	2,5 - 3 tahun
4	Temperatur	37,5 °C
5	Kebutuhan makanan	5 g / 100 g BB
6	Kebutuhan air	8 – 11
7	Kolesterol	10,0 – 54,0 mg/dl
8	Glukosa	50 – 135 mg/dl

2.7 Kolagen



Gambar 2.9 Kolagen

Kolagen adalah protein struktural yang melimpah di semua hewan. Pada manusia, kolagen dalam tubuh manusia berjumlah sepertiga dari total protein dalam tubuh, menyumbang sepertiga dari berat kering kulit, dan merupakan komponen umum sebagian matriks ekstraseluler (Shoulder dan Raines, 2009). Kolagen memiliki potensi sebagai biomaterial untuk teknik jaringan, biokompatibilitas, porositas tinggi, fasilitas untuk kombinasi dengan bahan lainnya, pengolahan mudah, hidrofilisitas, antigenisitas rendah, dan dapat diserap dalam tubuh (Glowacki dan Mizuno, 2008).

Kolagen merupakan proteu=in yang unik karena komposisi asam aminonya yang tinggi yaitu kandungan akan asam amino siklik, prolin dan hidroksiprolin, disamping sejumlah besar glisin dan alanin yang merupakan asam amino nonpolar gugus pendek (Ichsan, 2012). Kolagen memiliki struktur yang terdiri dari karbon, hidrogen, gugus hidroksi (OH), gugus karbonil (C=O), gugus C=N, gugus amina (N-H) (Marsaid, 2010).

Kolagen memiliki tiga rantai polipeptida (α -chains), setiap bagian asam amino terdapat (-Gly-X-Y)_n. Gly- adalah glisin yang menjadi materi dasar dari ketiga asam amino, sehingga ketiga rangkaian α berikatan kuat dalam molekul tropokolagen. X adalah asam amino lain dan banyak mengandung prolin (pro) dan

Y adalah asam amino lain yang banyak mengandung hidroksiprolin (Hyp). Pada daging dan kulit ikan kandungan hidroksipolin lebih sedikit dibandingkan dengan daging sapi (Singh *et al*, 2011).

Kolagen merupakan protein yang melimpah pada ekstraseluler matrik dan memiliki struktur molekul yang khas, yang berkontribusi untuk ekstraseluler *Scaffolding*. Kolagen berperan penting dalam menjaga integritas biologis dan struktural ekstraseluler matrik dan memberikan dukungan fisik pada jaringan (Dong dan Lc, 2016).

2.8 Kitosan



Gambar 2.10 Kitosan

Kitosan merupakan kitin yang telah dihilangkan gugus asetilnya melalui proses deasetilasi. Jadi kitosan adalah suatu senyawa polimer dari glukosamin pada ikatan 1-4 atau 2-amino-2-deoksi-D-glukosa. Suatu molekul dikatakan kitin bila mempunyai derajat deasetilasi (DD) sampai 10% dan kandungan nitrogennya kurang dari 7% dan dikatakan kitosan bila nitrogen yang terkandung pada molekulnya lebih besar dari 7% berat dan derajat deasetilasi (DD) lebih dari 70%. Proses utama dalam pembuatan kitosan, meliputi penghilangan protein dan kandungan mineral melalui proses deproteinasi dan demineralisasi, yang masing-masing dilakukan dengan menggunakan larutan basa dan asam. Selanjutnya,

kitosan diperoleh melalui proses deasetilasi dengan cara memanaskan dalam larutan basa. (Siregar, *et al.*, 2017).

Kitosan ($C_6H_{11}NO_4$)_n adalah senyawa yang berbentuk padatan amorf berwarna putih kekuningan, bersifat polielektrolit. Umumnya larut dalam asam organik, pH sekitar 4–6,5 tidak larut pada pH yang lebih rendah atau lebih tinggi (Dompeipen *et al.*, 2016). Kualitas dari kitosan dan kitin ditentukan oleh besar derajat deasetilasi, berat molekul dan viskositas bahan kitosan. Semakin tinggi derajat deasetilasi maka semakin semakin tinggi kualitas bahan kitosan (Sularsih, 2013).

Kitosan merupakan senyawa alami yang dapat mengikat lemak di saluran pencernaan. Ini sangat aman, tetapi khasiatnya belum terbukti pada banyak hewan. Kitosan tidak boleh diberikan bersamaan dengan vitamin larut lemak atau lipid terapeutik seperti minyak ikan. Mekanisme kerja obat mungkin karena peroksidasi antioksidan dan antilipid. Dalam beberapa tahun terakhir, penelitian internasional telah mengungkapkan bahwa kitosan adalah zat bioaktif yang ideal dan pelindung saraf yang efektif, anti kanker, antibakteri, antiinflamasi, hipoglikemik, antioksidan, dan agen perlindungan hati. Selain itu, kitosan digunakan dalam bidang pangan dan gizi untuk menurunkan kadar lipid, berfungsi sebagai suplemen diet penurun lipid yang efektif (Chiu *et al.*, 2020).

2.9 Scaffold

Scaffold adalah template sel yang digunakan untuk pertumbuhan jaringan baru. *Scaffold* memberikan lingkungan fisikokimia dan biologis tiga dimensi untuk pertumbuhan sel dan diferensiasi, merangsang adhesi dan migrasi sel. Fungsi penting *Scaffold* adalah penghantaran rangsangan faktor pertumbuhan. Scaffold

harus efektif untuk transport nutrisi, oksigen, dan sampah metabolik. *Scaffold* juga harus bertahap terdegradasi digantikan dengan jaringan regeneratif dan selanjutnya mempertahankan struktur jaringan. *Scaffold* harus biokompatibel, tidak toksik, serta memberikan kekuatan mekanik dan fisik kepada *stem* sel (Hakim, 2020).

Scaffold dapat dikembangkan baik menggunakan polimer alam maupun sintetik. Mengingat *scaffold* untuk rekayasa jaringan baru memiliki kriteria sebagai berikut (O'Brien, 2011 dan Hoque *et al*, 2015):

1. Mampu memfasilitasi adhesi sel, membantu pertumbuhan sel serta memungkinkan terjadinya pembelahan sel.
 2. Biokompatibel
 3. Biodegradable
 4. Porositas harus cukup tinggi untuk tempat adhesi sel dan regenerasi matriks ekstraseluler serta struktur yang berpori memungkinkan terjadinya pembentukan jaringan yang homogen.
 5. Memiliki sifat mekanik yang sesuai dengan jaringan kulit yang diperbaiki
 6. *Template* 3D membantu pembentukan jaringan baru
- Permukaan sesuai untuk penempelan sel, proliferasi dan differensiasi.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian berupa eksperimental di laboratorium, yaitu berbagai konsentrasi kitosan kolagen dalam pembuatan *scaffold* dan pada uji penyembuhan luka sebagai variabel bebas dengan tahapan kerja penelitian meliputi pengumpulan dan pembuatan simplisia daun toppaspara, pembuatan ekstrak daun toppaspara,

pembuatan ekstrak daun toppaspara diformulasikan sebagai *scaffold* bersama kolagen-kitosan, dilakukan uji karakteristik sediaan meliputi uji SEM, uji tarik, uji sitotoksitas, uji *swelling*, uji degradasi dan uji ketebalan. Setelah itu, selanjutnya dilukai kulit tikus, dan pengobatan dengan menggunakan *scaffold* topasppara dengan kolagen-kitosan pada luka buatan pada tikus.

3.1.1 Jadwal Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2024 sampai Oktober 2024.

3.1.2 Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Laboratorium Farmakologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Indah Medan.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *aluminium foil* (Clin Pak), batang pengaduk, *beaker glass*, *blender* (Miyako[®]), gelas ukur, glukometer (*Easy Touch*[®]), *Hotplate-stirrer*, jangka sorong, jarum suntik, kain kasa, larutan steril NaCl, neraca digital, pisau cukur, perkolator, pH meter, pisau bedah, spatula, dan alat untuk uji karakteristik: *tenstile strenght* (Autograph Imada HV-500NII[®]), MTT Assay (*Elisa reader*[®]), SEM (inspect S50, FEI Crop[®]), *freeze dryer*.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan yaitu pakan tikus, akuades, asam aetat anhidrat, asam klorida pekat, asam klorida 2 N, asam nitrat, asam sulfat pekat, barium klorida, besi (III) klorida, bismut (III) nitrat, etanol 80%, etil asetat, iodium, pereaksi Fehling A, Fehling B, iso propanol, kalium iodida, kloralhidrat, raksa (II) klorida, preaksi

molish, toluen, alkohol swab, daun toppaspara, gliserol 2%, kolagen, kitosan, natrium sitrat, streptozotosin.

3.3 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.

3.4 Pembuatan Larutan Pereaksi

3.4.1 Pereaksi Mayer

Larutan raksa (II) klorida 2,266% b/v sebanyak 60 ml dicampur dengan 10 ml larutan kalium iodida 50% b/v, kemudian ditambahkan air suling hingga 100 ml (Ditjen POM, 1978).

3.4.2 Pereaksi Molish

Sebanyak 3 g α -naftol ditimbang kemudian dilarutkan asam nitrat 0,5 N hingga diperoleh larutan 100 ml (Ditjen POM, 1978).

3.4.3 Pereaksi Dragendroff

Larutan bismut nitrat 40% b/v dalam asam nitrat sebanyak 20 ml dicampur dengan 50 ml larutan kalium iodida 54,4% b/v, didiamkan sampai memisah sempurna, lalu diambil lapisan jernihnya dan diencerkan dengan air suling hingga 100 ml (Ditjen POM, 1978).

3.4.4 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).

3.4.5 Pereaksi Liebermann-Burchard

Asam asetat anhidrat sebanyak 20 ml dicampurkan dengan 1 ml asam sulfat pekat dan 50 ml kloroform, larutan dibuat baru (Ditjen POM, 1978).

3.4.6 Larutan besi (III) klorida 4,5%

Sebanyak 4,5 g besi (III) klorida ditimbang kemudian dilarutkan dalam air suling hingga 100 ml, lalu disaring (Ditjen POM, 1978).

3.4.7 Larutan timbal asetat 0,4 M

Sebanyak 15,17 g timbal asetat ditimbang kemudian dilarutkan dalam air bebas karbondioksida hingga 100 ml (Ditjen POM, 1978)

3.4.8 Larutan natrium hidroksida 2 N

Sebanyak 8 g natrium hidroksida ditimbang kemudian dilarutkan dalam air bebas CO₂ hingga 100 ml (Ditjen POM, 1978).

3.4.9 Larutan asam klorida 2 N

Sebanyak 16,6 ml asam klorida pekat diencerkan dalam air suling hingga 100 ml (Ditjen POM, 1978).

3.4.10 Larutan asam sulfat 2 N

Asam sulfat pekat sebanyak 5,4 ml ditambahkan air suling secukupnya hingga 100 ml (Ditjen POM, 1978).

3.5 Pengolahan tumbuhan toppaspara

3.5.1 Identifikasi tumbuhan

Identifikasi tumbuhan dilakukan di *Herbarium Medanense (MEDA)*,

Universitas Sumatera Utara, Medan.

3.5.2 Pengambilan sampel

Sampel yang digunakan adalah daun toppaspara yang segar berwarna hijau, diambil dipagi hari sekitar pukul 9, di kebun sekitar Kelurahan Sudirejo Kecamatan Medan Kota, tepatnya di daerah Jalan Jaya II Medan. Sampel yang diambil secara *purposive sampling* yaitu tanpa membandingkan dengan daerah lain.

3.5.3 Proses pembuatan simplisia daun toppaspara

Pengumpulan daun toppaspara dilakukan pada pagi hari, daun yang dipetik dalam keadaan masih segar, berwarna hijau. Daun toppaspara dibersihkan dari tanah, kerikil, dan bagian tanaman yang rusak. Daun toppaspara dicuci dibawah air yang mengalir dan keringkan di atas kertas yang mudah menyerap air seperti kertas perkamen, di ruangan terbuka terlindung dari sinar matahari. Dilakukan sortasi kering untuk daun toppaspara yang rusak dan tua berwarna kecoklatan. Daun toppaspara diserbukkan dengan menggunakan *blender*. Kemudian serbuk simplisia ditimbang sebanyak 1.000 gram. Serbuk daun toppaspara disimpan dalam wadah tertutup (Gunawan dan Sri, 2004).

3.5.4 Pembuatan ekstrak daun toppaspara dengan cara perkolasi

Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 1.000 gram dimasukkan ke dalam bejana tertutup dan direndam dengan etanol 70% selama 3 jam terlindung dari cahaya matahari sambil sering diaduk, lalu dipindahkan ke dalam perkolator perlahan sambil ditekan, dan penyari dituangkan secukupnya sampai mulai menetes dan diatas simplisia masih terdapat selapis cairan penyari, perkolator ditutup dan dibiarkan selama 24 jam. Selanjutnya cairan dibiarkan menetes dengan kecepatan

satu ml tiap menit, cairan penyari ditambahkan berulang-ulang secukupnya melalui tabung reservoir, sehingga selalu terdapat selapis cairan penyari diatas simplisia, lakukan penetetas atau perkolasi sampai diperoleh tetesan perkolat yang terakhir tidak berwarna, atau jika diambil 5 ml diuapkan diatas cawan porselin tidak meninggalkan sisa, atau jika direaksikan dengan beberapa pereaksi tidak memberikan hasil yang positif. Selanjutnya kumpulan perkolat didiamkan selama 2 hari, dienaptuangkan atau disaring, diperoleh ekstrak cair, kemudian didestilasi atau diuapkan menggunakan *Rotary evaporator* pada suhu tidak lebih dari 40°C, diperoleh ekstrak kental. Kemudian dikeringkan menggunakan *freeze dryer* pada suhu -40°C, selama lebih kurang 24 jam kemudian diperoleh ekstrak kering (Depkes, 2008).

3.6 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

Pemeriksaan karakteristik simplisia meliputi pemeriksaan makroskopik, mikroskopik, dan penetapan kadar air.

3.6.1 Pemeriksaan makroskopik

Pemeriksaan makroskopik dilakukan dengan mengamati bentuk ukuran, bau, dan warna dari daun toppaspara segar dan simplisia.

3.6.2 Pemeriksaan mikroskopik

Pemeriksaan mikroskopik dilakukan terhadap daun toppaspara segar dan simplisia, lalu diletakkan di kaca objek yang telah ditetesi dengan larutan kloralhidrat dan ditutupi dengan kaca penutup selanjutnya diamati di bawah mikroskop.

3.6.3 Penetapan Kadar Air Simplisia Daun Toppaspara

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 dijenuhkann. 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 (Depkes RI, 1995). Kadar air dihitung dengan persen (WHO, 1995). Persen kadar air dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar air (\%)} = (\text{Volume akhir} - \text{Volume awal}) / \text{Berat simplisia (g)} \times 100\%$$

3.7 Skrining fitokimia

Skrining fitokimia merupakan pemeriksaan terhadap golongan senyawa kimia yang dikandung oleh tumbuhan daun toppaspara. Golongan senyawa yang diperiksa adalah: alkaloid, glikosida, saponin, steroida/triterpenoid, dan tanin. (Depkes RI, 1989).

3.7.1 Pemeriksaan alkaloida

Sebanyak 0,5 gram daun segar, simplisia dan sedikit ekstrak etanol daun toppaspara, masing masing 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. Diambil 3 ml filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer, akan terbentuk endapan berwarna putih atau kuning jika mengandung alkaloid.
- b. Diambil 3 ml filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Bauchardat, akan terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam jika mengandung alkaloid.
- c. Diambil 3 ml filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendroff, 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 (Depkes RI, 1989).

3.7.2 Pemeriksaan flavonoid

Sebanyak 0,5 gram daun segar, simplisia dan sedikit ekstrak etanol daun toppaspara, masing masing 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 1-2 ml etanol 96% lalu tambahkan 0,5 gram serbuk seng dan 2 ml asam klorida 2 N. didiamkan selama 1 menit. Kemudian ditambahkan asam klorida pekat. Jika dalam waktu 2-5 menit terjadi warna merah intensif menunjukkan adanya flavonoid (Depkes RI, 1989).
- b. Sebanyak 1 ml filtrat larutan di atas diuapkan sampai kering, sisanya dilarutkan dalam 1-2 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 (Depkes RI, 1989).

3.7.3 Pemeriksaan glikosida

Sebanyak 3 gram daun segar, simplisia dan sedikit ekstrak etanol daun toppaspara masing masing disari dengan 20 ml campuran dari 7 bagian etanol 96% dan 3 bagian air suling. Kedalam campuran ditambahkan H₂SO₄ 2 N dan direfluks selama kurang lebih 10 menit, didinginkan dan disaring. Diambil 10 ml filtrat, ditambahkan 10 ml air suling 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 sebanyak 0,1 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi, diuapkan di atas penangas air. Pada sisi tabung tambahkan 2 ml akuades dan ditambahkan 5 tetes pereaksi Molish. Kemudian secara perlahan-lahan ditambahkan 2 ml asam sulfat pekat. Glikosida positif bila terbentuk cincin berwarna ungu pada batas cairan (Depkes RI, 1989).

3.7.4 Pemeriksaan saponin

Sebanyak 0,5 gram daun segar, simplisia dan sedikit ekstrak etanol daun toppaspara 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 (Depkes RI, 1989).

3.7.5 Pemeriksaan steroida/triterpenoida

Sebanyak 1 gram daun segar, simplisia dan sedikit ekstrak etanol daun toppaspara masing masing dimasukkan kedalam tabung reaksi, pada sisi tabung ditambahkan 2 tetes pereaksi Liberman-Burchard. Apabila timbul warna hijau atau biru hijau menunjukkan adanya steroida, sedangkan warna merah, merah muda atau ungu menunjukkan adanya triterpenoida (Depkes RI, 1989).

3.7.6 Pemeriksaan tanin

Sebanyak 0,5 gram daun segar, simplisia dan sedikit ekstrak etanol daun *toppaspara* masing masing diencerkan dengan akuades sampai tidak berwarna. Larutan diambil sebanyak 2 ml dan ditambahkan 1-2 tetes larutan besi (III) klorida 1%. Apabila terjadi warna hijau kehitaman atau biru kehitaman menunjukkan adanya tanin (Depkes RI, 1989).

Sekeping kaca yang lain dan ditutup, lalu diamati sediaan menunjukkan susunan yang homogen jika tidak adanya butiran kasar (Ditjen POM, 1979).

3.8 Persiapan kolagen-kitosan

Kolagen dan kitosan yang digunakan didapatkan dan dibeli dari CV Rudang, Medan, Sumatera Utara.

3.9 Prosedur pembuatan *scaffold* kolagen-kitosan

3.9.1 Pembuatan larutan asam sitrat 2%

Timbang sebanyak 2 mg asam sitrat dimasukkan ke dalam beaker glass berisi 25 ml akuades diencerkan dengan akuades sampai 100 ml (Depkes RI, 1995).

3.9.2 Pembuatan larutan asam asetat 0,2 M

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

3.9.3 Pembuatan larutan kolagen 1%

Pembuatan larutan kolagen 1% (b/v), tahap pertama menimbang 1 gram kolagen yang berupa serbuk dengan menggunakan neraca digital, kemudian dilarutkan dalam asam sitrat 2%. Kolagen dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam *beaker glass* yang telah berisi asam asetat dengan menggunakan *magnetic stirrer* sampai kolagen terlarut secara homogen.

3.9.4 Pembuatan larutan kitosan 3%

Pembuatan larutan kitosan dengan konsentrasi 3%, kitosan berupa serbuk seberat 3 gram di timbang di neraca digital, kemudian dimasukkan sedikit demi sedikit kedalam *beaker glass* yang terisi asam asetat 0,2 M, kitosan dilarutkan dengan *magnetic stirrer* hingga homogen.

3.9.5 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 $C_6H_5O_7Na_3 \cdot 2H_2O$ 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 Formulasi Kombinasi Kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol

Larutan kolagen dengan konsentrasi 1% dan larutan kitosan dengan konsentrasi 3% diukur volumenya pada gelas ukur dengan variasi komposisi kolagen-kitosan 8:2 (v/v) dan dicampurkan dengan ditambahkan gliserol 2% sebanyak 2 ml hingga homogen. Setelah itu campuran kolagen-kitosan gliserol ditambahkan ekstrak dengan konsentrasi 1%, 2%, 3%. Campuran kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol dan ekstrak didiamkan terlebih dahulu sekitar 3 jam hingga tidak ada gelembung udara yang terperangkap lagi yang mengakibatkan proses pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* dan dicetak pada plat.

Campuran kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol yang telah dicetak dilakukan pembekuan sebelum di *freeze drying*. Pembekuan awal dilakukan pada suhu 4°C selama 2 jam, lalu kemudian disimpan pada suhu -20°C selama 24 jam,

3.11 Uji SEM

Uji morfologi (SEM) dilakukan dengan menggunakan alat *Scanning Electron Microscopy*. Uji morfologi bertujuan untuk melihat struktur permukaan, diameter pori, lapisan berpori, dan lapisan tidak berpori membrane *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol. Sampel dilakukan preparasi pemotongan dengan ukuran sesuai sampel *holder* yaitu 12 mm atau 25 mm, kemudian dilakukan pelapisan dengan Au atau Pd dengan menggunakan metode *sputtering coating* sehingga sampel tidak mengalami kerusakan saat dilakukan *scanning*.

3.12 Uji tarik

Uji tarik dilakukan dengan membentuk sampel terlebih dahulu lalu ditarik hingga putus (Sartika *et al*,2013). Sampel dicetak dengan ukuran standar untuk pengujian sampel polimer, yang mana dipotong sesuai cetakan atau dumbel, pada kedua ujung sampel dikaitkan pada alat uji tarik lalu kedua ujung sampel akan diberikan gaya tarik yang berlawanan hingga sampel terputus. Dari perlakuan tersebut akan didapatkan berapa besaran yang dapat dihitung dengan menggunakan persamaan dibawah ini untuk menghitung *stress*.

$$\sigma = \frac{F}{A}$$

Keterangan:

σ = *stress* (N/m²)

F = beban (N)

A = luas permukaan (m²)

3.13 Uji sitotoksitas (MTT Assay)

Pada tahap uji ini dilakukan metode pengujian MTT (*Microculture Tetrazolium Technique*) assay dengan pembacaan persentase sel hidup menggunakan *Elisa Reader*. Kultur sel BHK-21 pada media eagle sebagai tempat tumbuh sel yang kemudian dipindahkan pada *microwell plate* dengan jumlah tiap sumur sebanyak 100 μ dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah itu, peletakan sampel pada *microwell plate* yang telah diinkubasi dan diinkubasi kembali selama 24 jam. Media dibuang dan cuci dengan PBS sebanyak 250 μ l untuk membersihkan sisa hasil metabolisme sel dan sisa sampel yang tersisa. Diberikan sebanyak 30 μ l dan larutan MTT [3-(2,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] sebanyak 10 μ l sebagai pewarnaan lalu didiamkan selama 3 jam dan dibuang kembali. Larutan DMSO sebanyak 10 μ l di tambahkan pada *microwell plate* dan *dishaker* selama 5 menit agar percampuran dengan larutan DMSO homogen.

Selanjutnya diamati dengan *ELISA Reader* pada panjang gelombang 630 nm. Hasil persamaan dihitung dengan persamaan di bawah ini dan suatu bahan dikatakan tidak toksik apabila persentase sel hidup dinyatakan lebih dari 50%. (Khoswanto *et al*, 2008).

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{OD \text{ kontrol sampel} - OD \text{ kontrol Media}}{OD \text{ kontrol sel} - OD \text{ kontrol Media}} \times 100\%$$

Keterangan:

% sel hidup = persentase *swelling scaffold*.

OD kontrol Sampel = nilai densitas optik formazan pada setiap sampel setelah pengujian.

OD kontrol Media = nilai densitas optik formazan pada kontrol media.

OD kontrol sel = nilai densitas optik formazan pada kontrol sel.

3.14 Uji swelling

Perhitungan *swelling* dilakukan dengan cara merendam *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol pada cairan *phosphate buffer saline* dengan pH 7. Sebelumnya *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol dipotong kecil-kecil dengan ukuran 1 cm x 1 cm berbentuk persegi. Berat *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan *plastizer* gliserol sebelum dilakukan perendaman diukur berat keringnya terlebih dahulu. Kemudian catat berat sampel setelah dilakukan perendaman perendaman setiap 1 menit pengujian untuk sampel *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol. Perhitungan untuk mengetahui *swelling* yang terjadi pada *scaffold* kolagen kitosan dapat dihitung dengan persamaan berikut.

$$E_{sw} = \frac{W_e - W_o}{W_o} \times 100\%$$

Keterangan:

E_{sw} = presentase *swelling scaffold*.

W_o = berat awal sebelum dilakukan perendaman.

W_e = berat sampel ketika telah dilakukan perendaman.

3.14 Uji degradasi

Uji degradasi merupakan parameter yang dibutuhkan untuk melihat waktu yang dibutuhkan oleh *scaffold* terdegradasi sesuai dengan pembentukan jaringan baru. Pengujian degradasi dari *scaffold* dapat dilakukan dengan cara perendaman sampel pada larutan *phosphate buffer saline* dengan pH 7. Sampel *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan *plasticizer* gliserol dibentuk dengan ukuran 1 x 1 cm, kemudian dimasukkan ke dalam wadah yang telah beirisi larutan PBS sebanyak 15 ml dan ditutup rapat serta disimpan pada suhu 37°C selama 7-14 hari untuk

dilakukan pengamatan degradasi pada sampel *scaffold* (Rosdiani *et al*,2017). Rasio degradasi dihitung dengan persamaan sebagai berikut.

$$\% \text{ Mass Loss} = \frac{W_o - W_t}{W_o} \times 100\%$$

Keterangan:

% mass loss = presentase berat.

Wt = berat akhir *scaffold* setelah dilakukan perendaman pada PBS.

Wo = berat awal pada keadaan kering.

3.15 Uji ketebalan

Mikrometer sekrup merupakan alat ukur panjang yang paling teliti dibandingkan dengan jangka sorong dan mistar. Mikrometer sekrup mempunyai ketelitian 0,01 mm atau 0,001 cm. Mikrometer sekrup dapat digunakan untuk mengukur ketebalan dan diameter benda yang mempunyai ukuran kecil dan tipis (Utomo, 2007). berikut cara menggunakan mikrometer sekrup:

1. Putar poror besar berlawanan arah jarum jam sehingga rahang terbuka dan cukup diletakan benda yang akan di ukur.
2. Letakkan benda yang akan di ukur di antara rahang tersebut.
3. Putar kembali searah jarum jam sehingga rahang tertutup kembali.
4. Putar poros kecil searah jarum jam sehingga skala nonius pada bidal besar tidak bisa bergeser lagi.
5. Baca hasil skala utama dan skala nonius.

Skala panjang terdapat pada poros tetap merupakan skala utama sedangkan skala panjang yang terdapat pada poros ulir merupakan skala nonius (Iradaty, 2017). Preparasi sampel *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan *plasticizer*

gliserol dibentuk dengan ukuran 1 x 1 cm. hasil perhitungan dihitung dengan persamaan: $d = \text{Skala utama} + (\text{Skala nonius} \times \text{Skala terkecil mikrometer sekrup})$.

3.16 Pengukuran penyembuhan luka dari sediaan 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 : Dasar *Scaffold*

Kelompok II : Diobati dengan ekstrak 1%

Kelompok III : Diobati dengan ekstrak 2%

Kelompok VI : Diobati dengan ekstrak 3%

Kelompok V : Diobati dengan salap binasol

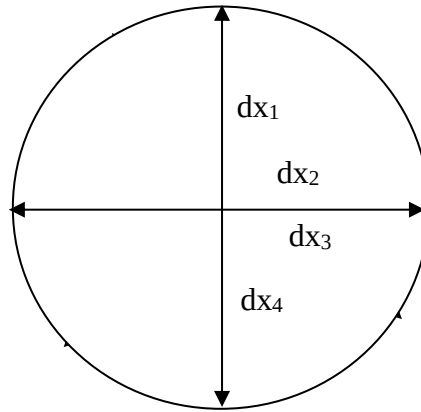
Masing-masing hewan percobaan yang telah dilukai, pada sebelah kanan atau di kiri tulang belakang dicukur dan diberi tanda lingkaran berdiameter 2 cm. pada sekitar tanda tersebut disuntikkan injeksi lidokain sebanyak 0,7 ml secara subkutan, dibiarkan lebih kurang selama 5 menit, kemudian dibuat luka 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%, diolesi dengan bahan uji sebanyak 1 gram, ditutup dengan pkasa steril dan diplester, lalu dibiarkan selama 24 jam. Setelah 24 jam diukur kembali diameter luka dan diamati tebal udema. Demikian dikerjakan seterusnya, untuk seluruh

kelompok hewan sesuai masing-masing bahan uji, secara berulang dengan interval waktu 24 jam sekali sampai luka tertutup (sembuh).

3.16.1 Perhitungan persentase penyembuhan luka buatan

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



Gambar 3.1 Cara mengukur diameter luka buatan.

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

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:

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

Keterangan:

px = persentase luka hari ke-x

d₁ = diameter rata-rata luka mula-mula

dx = diameter luka hari ke-x (Suratman *et al*, 1996).

3.17 Perhitungan statistik terhadap hasil yang diperoleh

3.17.1 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 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)

3.17.2 Uji ANOVA

Pengujian efektivitas penyembuhan luka buatan pada kulit tikus dengan berbagai kelompok perlakuan pemberian *scaffold* kolagen-kitosan dengan konsentrasi terbaik, kelompok kontrol dengan pemberian kitosan dan kelompok kontrol tanpa pengobatan, 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*), satu arah dengan taraf kepercayaan 95% menggunakan SPSS (*Statistical Product and Service Solution*). Tujuan dari ANOVA yaitu untuk mengetahui ada perbedaan yang bermakna atau tidak penyembuhan luka antar kelompok perlakuan. Kemudian dilanjutkan dengan uji Tukey, untuk mengetahui perbedaan bermakna signifikan atau tidak antar dua kelompok perlakuan yang dibandingkan.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Identifikasi Tumbuhan

Hasil identifikasi atau determinasi tumbuhan yang dilakukan di Laboratorium *Herbarium Medanense* (MEDA) Universitas Sumatera Utara, menyatakan bahwa tumbuhan yang digunakan pada penelitian ini yaitu tumbuhan daun Toppaspara (*Mikania micrantha* Kunth) dengan famili *Asteraceae*. Hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 1.

4.2 Hasil Pemeriksaan Karakteristik Simplisia Daun Toppaspara

4.2.1 Hasil pemeriksaan makroskopik

Hasil pemeriksaan makroskopik yang dilakukan pada daun Toppaspara (*Mikania micrantha* Kunth) yang masih segar dengan cara mengamati bentuk, bau, warna, dan rasa. Bentuk daun Toppaspara berbentuk lonjong dengan ujung runcing serta memiliki susunan menyirip, bau khas daun Toppaspara, warna hijau, rasa pahit. Gambar dapat dilihat pada lampiran 2

4.2.2 Hasil pemeriksaan mikroskopik

Hasil pemeriksaan mikroskopik simplisia daun Toppaspara (*Mikania micrantha* Kunth), serabut skerenkim, parenkim mesokarp, stomata Gambar hasil pemeriksaan mikroskopik simplisia daun rambutan dilihat pada lampiran 4.

4.2.3 Hasil pemeriksaan kadar air

Salah satu bagian dari karakterisasi simplisia adalah dengan melakukan penetapan kadar air simplisia, hasil yang didapatkan setelah dilakukan penetapan kadar air pada sampel daun toppaspara adalah sebesar 7,32%. Hal ini sudah sesuai dengan persyaratan kadar air oleh MMI, yaitu tidak lebih dari 10%. Tujuan

pengeringan adalah untuk mengurangi kadar air yang ada pada sampel, hal ini dikarenakan jika kadar air tinggi pada simplisia akan mempengaruhi kualitas simplisia seperti mudah terkontaminasi oleh mikroba serta terjadi proses enzimatik. Metode yang digunakan untuk penetapan kadar air pada penelitian ini adalah dengan metode azeotropi. Bagan alir penetapan kadar air simplisia dapat dilihat pada lampiran.

4.2.4 Hasil skrining fitokimia

Penentuan golongan senyawa kimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam daun Toppaspara simplisia dan ekstrak etanol daun rambutan. Pemeriksaan yang dilakukan adalah pemeriksaan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid/triterpenoid dan glikosida. Hasil skrining fitokimia dapat terlihat Tabel 4.1 di bawah ini.

Tabel 4.1 Hasil skrining fitokimia daun Toppaspara simplisia dan ekstrak etanol daun Toppaspara

No	Pemeriksaan	Hasil daun Toppaspara simplisia	Hasil ekstrak etanol daun Toppaspara
1.	Alkaloid	Positif	Positif
2.	Flavonoid	Positif	Positif
3.	Saponin	Positif	Positif
4.	Tanin	Positif	Positif
5.	Steroid/triterpenoid	Positif	Positif
6.	Glikosida	Positif	Positif

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

ekstrak etanol daun Toppaspara, terutama golongan flavonoid, saponin, tanin dan steroid sehingga ekstrak etanol daun sembung rambat dapat memberikan efek terhadap penyembuhan luka dan sebagai antibakteri. 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 glikon memberikan hasil positif dengan terbentuknya cincin coklat dengan penambahan pereaksi Molish sedangkan glikosida aglikon memberikan hasil positif dengan terbentuknya warna hijau pekat setelah penambahan asam asetat anhidrat (Harborne, 1996).

Pada pemeriksaan alkaloid memberikan hasil positif dengan penambahan pereaksi Mayer memberikan warna endapan putih kekuningan, dengan penambahan penambahan pereaksi Dragendorf dan Bouchardat 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).

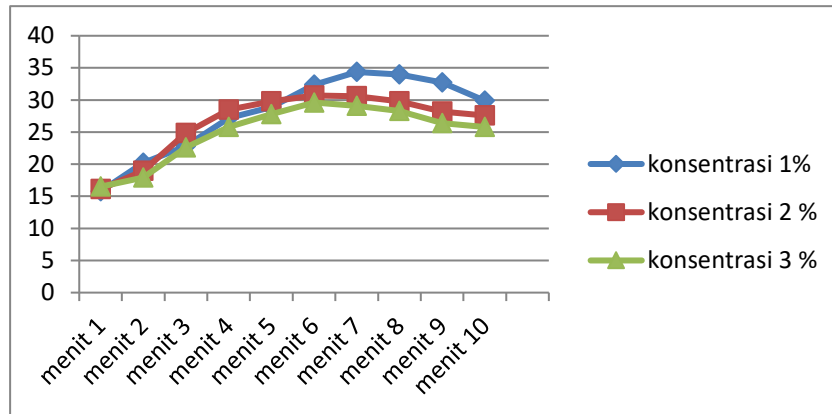
4.3 Hasil pembuatan *scaffold* dengan penambahan gliserol

Pembuatan *scaffold* dibuat dari Campuran kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol dan hasilnya di uji berbagai parameter mutu fisik, diperoleh hasil pengamatan sebagai berikut

4.3.1 Hasil Uji *swelling*

Pengujian *swelling* dilakukan untuk mengetahui kemampuan absorpsi dari *scaffold* dengan cara merendam sampel pada larutan *Phosphate Buffered Saline*. Perhitungan sampel dilakukan setiap 1 menit dengan menimbang sampel yang

belum direndam terlebih dahulu, kemudian setelah direndam selama 1 menit sampel ditimbang kembali dan didapatkan persentase *swelling*



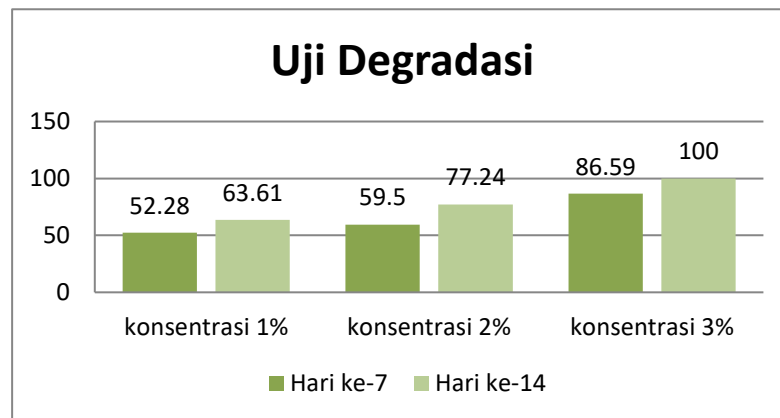
Gambar 4.1 Grafik hubungan antara % *swelling* terhadap lama perendaman *scaffold* EEDTp

Semua sampel telah mencapai kesetimbangan setelah mengalami perendaman selama 7 menit ke dalam larutan *Phosphate Buffer Saline*. Kesetimbangan terjadi di saat sampel sudah mengalami fase jenuh di dalam larutan larutan PBS. Fase jenuh terjadi saat sampel sudah tidak bisa mengabsorpsi larutan PBS secara maksimal. Berdasarkan Gambar 4.3 terlihat bahwa pada menit ke 6 sudah mulai mengalami penurunan hasil persentase *swelling*. Penurunan persentase *swelling* terjadi pada menit ke 7, 8, 9 dan 10 dikarenakan pada menit tersebut sampel sudah mengalami kerusakan. Hal tersebut dikarenakan interaksi hidrogen yang terjadi antara EEDTp pada menit tersebut saat proses perendaman larutan PBS sampel sudah melampaui batasmaksimal untuk mengikat air (Peng *et al.*, 2006). Sampel 1 %, 2%, dan 3% yang telah mengalami kesetimbangan didapatkan hasil presentasi *swelling* sebesar 34,36%; 33,76% dan 32,72%.

Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi EEDTp dapat meningkatkan hasil presentasi *swelling*. EEDTp dapat bertindak sebagai

pengubah permukaan kitosan yang dapat menyebabkan nilai dari hasil *swelling* menjadi tinggi (Peng *et al.*, 2006). Besarnya konsentrasi EEDTp yang diberikan dapat meningkatkan nilai persentase *swelling*, dikarenakan sifat hidrofilik yang dimiliki kolagen (Peng *et al.*, 2006).

4.3.2 Hasil Uji degradasi



Gambar 4.2 Grafik hubungan antara % degradasi terhadap variasi konsentrasi *scaffold* EEDTp

Pengujian ini berfungsi untuk mengetahui lamanya sampel dapat terurai dalam tubuh, sehingga sel kemudian dapat menghasilkan matriks ekstraseluler (O'Brian, 2011). Uji degradasi dilakukan sebagai simulasi ketika *scaffold* diaplikasikan pada bagian luka. Utamanya perubahan fisik yang diamati adalah saat material luruh akibat interaksi dengan lingkungan. Proses degradasi yang terjadi pada sampel diamati selama 7 hari dan 14 hari dengan cara merendam sampel pada larutan *Phosphate Buffer Saline* dan disimpan pada suhu 37° C. *Phosphate Buffer Saline* merupakan media cairan yang memiliki komposisi mirip dengan cairan tubuh manusia. Hasil perhitungan persentase degradasi sampel ditampilkan pada Lampiran 9

Pada Gambar 4.3 tampak bahwa *scaffold* EEDTp dengan penambahan *plasticizer* gliserol untuk sampel konsentrasi 3% mengalami persentase degradasi

sebesar 100% pada hari ke 19. Dapat dikatakan bahwa semakin banyak komposisi EEDTp pada *scaffold* menyebabkan semakin cepat waktu terdegradasi. EEDTp memiliki sifat mudah kehilangan bentuk dan ukuran karena degradasi yang cepat ketika berhubungan dengan cairan tubuh atau media kultur sel (Peng *et al.*, 2006). Hal ini dikarenakan sifat hidrofilisitas yang dimiliki oleh kolagen cukup tinggi. Sifat hidrofilisitas merupakan kemampuan EEDTp untuk mengikat air melalui ikatan hidrogen, sehingga kolagen lebih mudah larut terhadap air. Jika ikatan hidrogen bertemu dengan air (H_2O), maka terjadi gaya tarik antar molekul pada atom H yang terikat dengan atom yang sangat elektronegatif (N, O, dan F).

4.3.3 Hasil Uji Ketebalan

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui ketebalan *scaffold* EEDTp dengan penambahan *plasticizer* gliserol. Uji ketebalan pada sampel dilakukan menggunakan alat mikrometer sekrup dengan ketelitian 0,01 mm. Preparasi sampel dilakukan dengan memotong sampel yang berukuran 1x1 cm. Data yang diperoleh dianalisa menggunakan Persamaan 2.5 sehingga dapat diketahui nilai ketebalan dari *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan *plasticizer* gliserol pada masing-masing variasi komposisi.

Tabel 4.2 Hasil pengukuran ketebalan sampel *scaffold* EEDTp dengan penambahan *plasticizer* gliserol

Sampel dengan EEDTp berbagai konsentrasi	Ukuran ketebalan (mm)
Konsentrasu 1%	1,05 mm
Konsentrasu 2%	1,6 mm
Konsentrasi 3%	2,65 mm.

Keterangan:

EEDTp : Menggunakan ekstrak etanol daun toppaspara

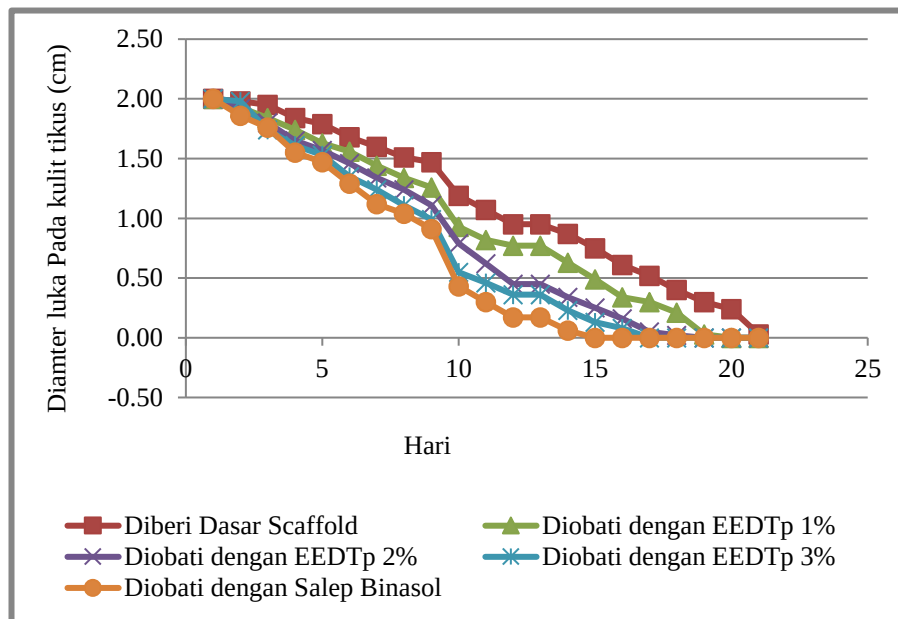
Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui ketebalan *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan *plasticizer* gliserol. Uji ketebalan pada sampel dilakukan menggunakan alat mikrometer sekrup dengan ketelitian 0,01 mm. Preparasi sampel dilakukan dengan memotong sampel yang berukuran 1x1 cm. Data yang diperoleh dianalisa menggunakan Persamaan pengujian ketebalan sehingga dapat diketahui nilai ketebalan dari *scaffold* EEDTp dengan penambahan *plasticizer* gliserol pada masing-masing variasi komposisi. Data nilai ketebalan ditampilkan pada Tabel 4.3 Hasil pengukuran ketebalan pada semua sampel yaitu konsentrasi 1%, konsentrasi 2% dan konsentrasi 3% memenuhi untuk standar aplikasi untuk pengobatan luka yaitu penutup luka yang ideal harus dapat memelihara lingkungan yang lembab di permukaan luka, memungkinkan pertukaran gas, bertindak sebagai penghalang bagi mikroorganisme dan menghilangkan kelebihan eksudat, harus tidak beracun, tidak menimbulkan alergi, dan memiliki sifat anti mikroba (Jayakumar *et al.*,2011).

4.4 Hasil Uji Efektivitas Penyembuhan Luka Buatan Yang Diinfeksi Pada Kulit Tikus

Hasil pengujian efektivitas sediaan *scaffold* yang mengandung ekstrak etanol daun Toppaspara 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.

Keterangan:

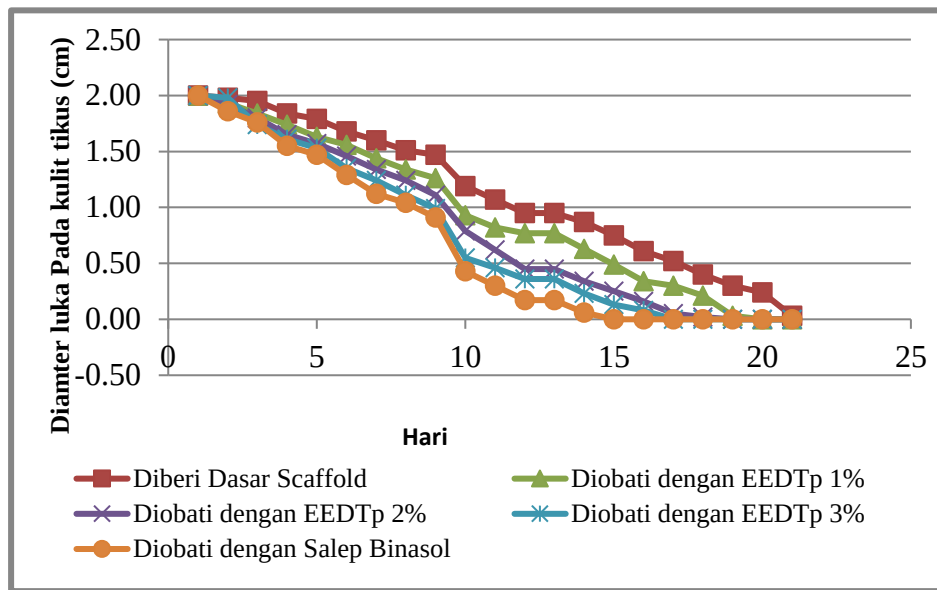
EEDTp : Menggunakan ekstrak etanol daun toppaspara



Gambar 4.3 Grafik diameter luka buatan pada kulit tikus

Tabel 4.4 Hasil perhitungan persentase kesembuhan luka berbagai konsentrasi scaffold ekstrak etanol daun toppaspara

Hari- ke	% kesembuhan luka				
	DASAR SCAFFOLD	EEDTp 1%	EEDTp 2%	EEDTp 3%	Salep Binasol
1	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
2	1,20 ± 0,45	3,70 ± 0,45	4,20 ± 0,45	5,70 ± 0,45	6,80 ± 0,45
3	2,70 ± 0,45	7,90 ± 0,90	9,90 ± 0,90	12,90 ± 0,90	12,20 ± 0,45
4	7,90 ± 0,90	12,90 ± 0,90	17,60 ± 0,90	19,60 ± 0,90	22,40 ± 0,90
5	10,60 ± 0,90	18,40 ± 0,90	21,40 ± 0,90	23,40 ± 0,90	26,40 ± 0,90
6	16,20 ± 0,45	22,20 ± 0,45	26,90 ± 0,37	32,60 ± 1,35	35,60 ± 0,90
7	19,90 ± 0,90	27,90 ± 0,90	32,90 ± 0,90	38,10 ± 0,90	43,80 ± 1,80
8	24,40 ± 0,90	33,10 ± 0,90	37,90 ± 0,90	44,60 ± 0,90	48,00 ± 1,84
9	26,40 ± 0,90	36,80 ± 0,45	44,60 ± 1,35	50,40 ± 0,90	54,30 ± 4,06
10	31,40 ± 1,35	41,40 ± 0,90	48,00 ± 2,25	60,60 ± 1,47	66,60 ± 1,35
11	40,70 ± 1,10	53,40 ± 0,90	60,50 ± 1,16	72,70 ± 1,25	78,60 ± 1,69
12	46,50 ± 1,16	59,20 ± 1,60	68,80 ± 1,80	76,90 ± 1,35	84,80 ± 1,25
13	52,50 ± 1,54	61,40 ± 4,25	77,40 ± 0,90	81,90 ± 1,35	91,60 ± 1,35
14	56,70 ± 1,38	68,50 ± 5,99	82,80 ± 1,10	88,40 ± 1,35	96,80 ± 1,25
15	62,60 ± 0,69	75,40 ± 4,41	87,40 ± 1,07	93,30 ± 1,80	100,00 ± 0,00
16	67,00 ± 1,10	82,90 ± 0,69	92,20 ± 0,45	95,80 ± 0,45	
17	74,10 ± 1,35	85,20 ± 3,84	97,70 ± 0,74	100,00 ± 0,00	
18	80,10 ± 1,35	89,40 ± 0,69	99,20 ± 0,45		
19	84,90 ± 4,41	98,70 ± 0,45			
20	87,90 ± 0,69	100,00 ± 0,00			
21	98,30 ± 0,45				



Gambar 4.4 Grafik persentase perkembangan penyembuhan luka buatan pada kulit tikus

Tabel 4.3 dan Gambar 4.2 di atas menunjukkan bahwa waktu penyembuhan luka untuk kelompok tikus yang tidak diobati adalah selama 21 hari. Untuk tikus dengan pemberian dasar scaffold tanpa ekstrak membutuhkan waktu selama 21 hari, sedangkan pada kelompok tikus yang diberikan sediaan scaffold yang mengandung ekstrak etanol daun toppaspara penyembuhan luka semakin cepat yaitu pada konsentrasi 1% membutuhkan waktu 20 hari, pada konsentrasi 2% membutuhkan waktu 19 hari sedangkan pada konsentrasi 3% membutuhkan waktu 18 hari, semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun toppaspara yang terdapat di dalam sediaan *scaffold* maka waktu penyembuhan luka semakin cepat. Untuk kelompok tikus yang diberi pengobatan dengan sediaan *scaffold* kitosan menunjukkan waktu penyembuhan selama 17 hari.

Berdasarkan hasil skrining fitokimia yang dilakukan daun toppaspara 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; Mills dan Bone, 2000).

Selain flavonoid senyawa saponin juga berperan dalam proses penyembuhan karena, saponin memacu pembentukan kolagen, yaitu protein struktur 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. Asam askorbat memperkuat dan mempercepat pertumbuhan jaringan ikat (kolagen). Saponin mempunyai kemampuan kemampuan sebagai antiseptik yang berfungsi membunuh pertumbuhan mikroorganisme. Sementara senyawa tanin berfungsi sebagai adstrigen yang dapat menciutkan pori-pori kulit membentuk jaringan baru dan antibakteri (Taqwim *et al*, 2011; Mills dan Bone, 2000).

Hal ini dapat membuktikan bahwa sediaan *scaffold* yang mengandung ekstrak etanol daun toppaspara dapat menyembuhkan luka. Oleh karena terlihat adanya perbedaan persen penyembuhan luka pada berbagai waktu, maka dilakukan uji statistik untuk mengetahui terdapatnya perbedaan yang signifikan dari berbagai kelompok perlakuan tersebut.

4.5 Uji Statistik

4.5.1 Uji ANAVA

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 tidak diobati, diberi dasar *scaffold* tanpa mengandung bahan uji, kelompok yang diberi *scaffold* yang mengandung ekstrak etanol daun toppaspara 1%, 2%, 3%, dan kelompok yang diberi *scaffold* kitosan dilakukan uji statistik, yaitu uji Analisa Varian (ANOVA) dan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Data dan hasil perhitungan Uji ANOVA dapat dilihat pada Tabel 4.3 sebagai berikut:

Tabel 4.5 Hasil Uji analisa variansi (ANOVA)

No	Hari ke-	F_0	F_{tabel}	
			5%	1%
1	2	303,13	2,87	4,43
2	3	3661,49		
3	15	3661,49		
4	17	3661,49		
5	19	151,64		

Tabel di atas menunjukkan perolehan harga F_0 pada hari ke-2 = 303,13, pada hari ke-2 = 3661,49, hari ke-15 = 3661,49, pada hari ke-17 = 3661,49, dan pada hari ke-19 = 151,64 semuanya harga F_0 yang diperoleh $> F_{\text{tabel}}$ (5;30), 1% = 3,70 ; 5% = 2,53, 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

4.5.2 Uji BNT

Uji BNT dilakukan untuk mengetahui kelompok yang mempunyai perbedaan dan tidak mempunyai perbedaan yang signifikan diantara berbagai kelompok perlakuan. Hasil perhitungan dapat dilihat pada tabel 4.9 sebagai berikut.

Tabel 4.6 Hasil perhitungan uji BNT

Hari ke-	Perlakuan	Persen Kesembuhan luka rata-rata (%)	Beda dengan			
			Dasar Scaffold	Binasol	EEDTp 1%	EEDTp 2%
2	Dasar Scaffold	1,20		-		-
	Salap Binasol	6,80	5,60			-
	EEDTp 1%	3,70	2,50	3,10		
	EEDTp 2%	4,20	3,00	2,60	0,50	
	EEDSr 3%	5,70	4,50	1,10	2,00	1,50
	BNT 0,05	= 0,16	BNT 0,01	= 0,22		
3	Dasar Scaffold	2,70		-		-
	Salap Binasol	12,20	9,50			-
	EEDTp 1%	7,90	5,20	4,30		
	EEDTp 2%	9,90	7,20	2,30	2,00	
	EEDSr 3%	12,90	10,20	0,70	5,00	3,00
	BNT 0,05	= 0,22	BNT 0,01	= 0,30		
15	Dasar Scaffold	62,60		-		-
	Salap Binasol	100,00	37,40			-
	EEDTp 1%	75,40	12,80	24,60		
	EEDTp 2%	87,40	24,80	12,60	12,00	
	EEDSr 3%	93,30	30,70	6,70	17,90	5,90
	BNT 0,05	= 0,65	BNT 0,01	= 0,89		
17	Dasar Scaffold	74,10		-		-
	Salap Binasol	100,00	25,90			-
	EEDTp 1%	85,20	11,10	14,80		
	EEDTp 2%	96,70	22,60	3,30	11,50	
	EEDSr 3%	100,00	25,90	0,00	14,80	3,30
	BNT 0,05	= 0,71	BNT 0,01	= 0,97		
19	Dasar Scaffold	84,90		-		-
	Salap Binasol	100,00	15,10			-
	EEDTp 1%	98,70	13,80	1,30		
	EEDTp 2%	100,00	15,10	0,00	1,30	
	EEDSr 3%	100,00	15,10	0,00	1,30	0,00
	BNT 0,05	= 0,59	BNT 0,01	= 0,80		

Tabel 4.6 diatas menunjukkan bahwa hasil uji BNT dapat dilihat sebagai berikut:

1. Pada hari ke-3 sampai hari ke-15 menunjukkan terdapat perbedaan perentase penyembuhan luka yang signifikan pada tikus seluruh kelompok perlakuan.
2. Pada hari ke-17 menunjukkan terdapat perbedaan perentase penyembuhan luka yang signifikan pada tikus seluruh kelompok perlakuan kecuali salep binasol dengan EEDTp 3%.
3. Pada hari ke-19 menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan perentase penyembuhan luka pada tikus kelompok perlakuan yang diberikan Salep Binasol, dengan EEDTp 2% dan EEDTp 3%, dan anantara kelompok yang diberikan EEDTp 2% dan EEDTp 3%.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

- a. Daun toppaspara simplisia dan ekstrak etanolnya mengandung berbagai golongan senyawa kimia metabolit sekunder yaitu aklkoid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid/steroid, dan glikosida.
- b. Ekstrak etanol daun toppaspara dapat diformulasikan menjadi bentuk sediaan *scaffold* kolagen-kitosan, mempunyai karakteristik mutu fisik uji sem, uji tarik, uji sitotoksitas, uji degradasi, uji ketebalan, yang baik.
- c. *Scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol yang mengandung ekstrak etanol daun toppaspara dapat menyembuhkan luka buatan pada tikus
- d. *Scaffold* kolagen-kitosan yang mengandung ekstrak etanol daun toppaspara menyembuhkan luka buatan, hari ke-19 tidak terdapat perbedaan yang signifikan perentase penyembuhan luka pada kelompok yang diberikan Salep Binasol, dengan EEDTp 2% dan EEDTp 3%, dan anatara kelompok yang diberikan EEDTp 2% dan EEDTp 3%.

5.2 SARAN

Diharapkan kepada peneliti selanjutnya perlu dilakukan pengontrolan pada saat proses *freeze drying* agar hasil *scaffold* yang diinginkan lebih baik dan pengontrolan pada pH pelarut kolagen dan kitosan agar mendapatkan hasil uji degradasi yang lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- Susmitha, Naik, V. V., & Rao, A. A. (2017). Scaffolds For Pharmaceutical Use: A Review. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*. Vol 7(03): 8005.
- Chiu, C.Y., Yen, T.E., Liu, S.H., & Chiang, M.T. (2020). *Comparative effects and mechanisms of chitosan and its derivatives on hypercholesterolemia in high-fat diet-fed rats*. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(1).
- Colin, V., & Listiana, D. (2022). Efektivitas Perawatan Luka Dengan Metode Perawatan Luka Modern Dan Perawatan Luka Konvensional Pada Pasien Diabetes Melitus. *Care : Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan*. Vol 10(3): 521.
- Depkes RI. (2000). *Obat., Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Makanan, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan*. Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Dev, U. K., Hossain, M. T., & Islam, M. D. (2015). Phytochemical investigation, antioxidant activity and anthelmintic activity of *Mikania micrantha* leaves. *World Journal of Phamaceutical Research*, 4(5), 121-133.
- Devi, Ni Luh Putu shinta *et al.* (2023). *Mengenali Esensi Luka(Pengenalan, Penilaian dan Penangan yang Tepat)*. Bandung : Kaizen Media Publishing.
- Dong, C., and Lv, Y. (2016). *Application of Collagen Scaffold in Tissue Engineering: Recent Advances and New Perspectives*. *Polymers*, 8(2), 1-20.
- Ditjen POM. (1979). *Farmakope Indonesia. Edisi III*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Halaman 649,748.
- Endarini, L. H., & Sadjati, I. M. (2016). *Farmakognosi dan fitokimia* (p. 215).
- Garg, T., Singh, O., Arora, S., & Murthy, R. S. R. (2012). Scaffold: A novel carrier for cell and drug delivery. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*. Vol 29(1): 2.
- Glowacki, J., Mizuno, S., (2008). *Collagen Scaffold for Tissue Engineering*. *Biopolymers*, 89:338-44.
- Hakim, Rachmi Fanani. (2020). *Stem Sel dan Regenerasi Jaringan Dalam Bidang Kedokteran Gigi*. Banda Aceh : Syiah Kuala University Press.
- Hanani E., 2016. *Analisis Fitokimia*. Penerbit Buku Kedokteran ECG. Jakarta.

- Hutagalung, D. K., Simatupang, M., & Simatupang, R. (2023). Pengaruh Perawatan Luka Modern Dressing Terhadap Percepatan Penyembuhan Luka Diabetik Di Praktek Keperawatan Mandiri Kecamatan Sarudik Tahun 2022. *Journal of Innovation Research and Knowledge*. Vol. 3(3): 627.
- Ishak, A. H., Shafie. N. H., Esa, N.M., & Bahari, H. (2016). Nutritional, phytochemical and pharmacological properties of *Mikania micrantha* Kunth. *Pertanika Journal of Reaserch Riview*, 2(3), 123-132.
- Lestari, Zulkarnain, Sijid, & Aisyah, S. (2021). Diabetes Melitus: Review Etiologi, Patofisiologi, Gejala, Penyebab, Cara Pemeriksaan, Cara Pengobatan dan Cara Pencegahan. *UIN Alauddin Makassar*. Vol. 1(2): 237.
- Mardiantoro, Fredy *et al.* (2018). *Penyembuhan Luka Rongga Mulut*. Malang : UB Press.
- Marsaid, A. L. (2010). *Karakterisasi Sifat Kimia, Fisik dan Termal Ekstraksi Gelatindari ikan Tuna (Thunnus sp) pada Variasi Larutan Asam untuk Perendaman*. Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya.
- Nabila, N. P., Efendi, P., & Husni. (2018). Proses Penyembuhan Luka Ulkus Diabetikum Dengan Metode Modern Dressing Diklinik Maitis Efrans Wound Care. *Jurnal Media Kesehatan*. Vol. 10(2): 147.
- O'Brien, F. J. (2011). *Biomaterials and Scaffold for Tissue Engineering*. Materials Today Vol. 14, No 2 ISSN:13697021 Elseiver Ltd.
- Palumpun, E.F., dan A.A.G.P. Wiraguna. 2017. Pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle*) secara topikal meningkatkan ketebalan epidermis, jumlah fibroblas, dan jumlah kolagen dalam proses penyembuhan luka pada tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*). *Jurnal E-Biomedik (eBm)*, 5 (1):1-7.
- Robinson T., 1995. *Kandungan Organic Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Institute Teknologi Bandung. Jakarta.
- Rosidah, I., Bahua, H., Mufidah, R., & Pongtuluran, O. B. (2015). Pengaruh Kondisi Proses Ekstraksi Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L) Hook.f & Thomson) Terhadap Aktivitas Hambatan Enzim Alfa Glukosidase. *Media Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan*, 25(4).
- Sankaran. 2015. *Mikania micrantha* Mile-a-minute weed. the Asia-Pacific Forest Invasive Species Network (APFISN). India. 9 (4). 10 – 19.
- Sahid, N., *et al.* (2016). *Pengaruh Bubuk Daun Kenikir (Kosmos caudatus) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Diabetes di Induksi Streptozotocin*. Universitas Diponegoro Vol.5. No.2 Hlm 51-57.

- Sankaran. 2015. *Mikania micrantha* Mile-a-minute weed. the Asia-Pacific Forest Invasive Species Network (APFISN). India. 9 (4). 10 – 19.
- Seller, B., & Elloe Stephen. (2010). Mile-A-Minute (*Mikania micrantha*): A New Weed in South Florida. Agronomi Departemen UF, Florida.
- Singh, P., *et al.* (2011). *Isolation and Characterization Extraced from The Skin of Striped Catfish (pangasianodon Hypophthalmus)*. Food Chemistry 124; 97-105. Thailand.
- Siregar, E.C., Suryati, S., dan Hakim, L. (2017). *Pengaruh Suhu dan Waktu Reaksi pada Pembuatan Kitosan dari Tulang Sotong (Sepia officinalis)*. Jurnal Teknologi Kimia Unimal, 5(2),37.
- Sufiyan, M., Kushwaha, P., Ahmad, M., Mandal, P., & Vishwakarma, K. K. (2024). Scaffold-Mediated Drug Delivery for Enhanced Wound Healing: A Review. *AAPS PharmSciTech*. Vol. 25(5): 1.
- Sularsih, S. (2013). *Pewngaruh Fiskositas Kitosan Gel Terhadap Penggunaanny di Proses Penyembuhan Luka*.Jurnal Material Kedokteran gigi.2 (1): 60-67.
- Soni, H., dan A.K. Singhai. 2013. A recent update of botanicals for wound healing activity. *Int Res J Pharm*, 3(7):1-6.
- Tripathi, K.K., Govila, O.P., Wrrier, R. And Ahuja, V.2011. Biology of *Abelmoschus esculentus* L (Okra). Series of crop specific biology Documents (35p). Department of Biotechnology, Ministry f Science & Technology & Ministry of Environment and Forest, Govt of India.
- Utami, F. M., Elektro, F. T., Telkom, U., Magdalena, R., Elektro, F. T., Telkom, U.,Wajah, K. (2022). Deteksi Jenis Kulit Wajah Menggunakan *Convolutional Neural Network* *Arsitektur Mobilenet* *Detection Of Facial Skin Type Classification Using Convolutional Neural Network With Mobilenet Architecture*, 8(6), 2897–2903.
- Yunanda,V., dan R. Tristia. 2016. Aktifitas penyembuhan luka sediaan topikal ekstrak bawang merah (*Allium cepa*) terhadap luka sayat kulit mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Veteriner*, 17 (4): 606-614.

Lampiran 1. Hasil identifikasi tumbuhan daun toppaspara (*Mikania micrantha* Kunth.)



**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, 19 Agustus 2024

No. : 2637/MEDA/2024
Lamp. : -
Hal : Hasil Identifikasi

Kepada YTH,

Sdr/i : Rizky Ananda

NIM : 1905012

Instansi : Fakultas Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan 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 : *Mikania Micrantha Kunth*

Nama Lokal: Daun Toppaspara

Demikian, semoga berguna bagi saudara.

Kepala Herbarium Medanense.

Prof. Dr. Etti Sartina Siregar S.Si., M.Si.
NIP. 197211211998022001

Lampiran 2. Surat *ethichal clearance*



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 : 1334/KEPK/FKUMSU/2024

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The Research protocol proposed by

Peneliti Utama : Rizky Ananda
Principal in investigator

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

Dengan Judul
Title

**"PEMBUATAN SCAFFOLD KOLAGEN - KITOSAN SEBAGAI SISTEM PENGHANTARAN EKSTRAK DAUN TOPPASPARA
 (Mikania micrantha kunth) DAN EFEKNYA TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA PADA TIKUS DIABETES"**

**"MAKING COLLAGEN - CHITOSAN SCAFFOLDS AS A DELIVERY SYSTEM FOR TOPPASPARA (mikania micrantha kunth) LEAF
 EXTRACT AND ITS EFFECT ON WOUND HEALING IN 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 Assesment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion / Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guadelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicator of each standard

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 26 Oktober 2024 sampai dengan tanggal 26 Oktober 2025
The declaration of ethics applies during the periode Oktober 26, 2024 until Oktober 26, 2025



Medan, 26 Oktober 2024
 Ketua

 Assoc. Prof. Dr. dr. Nurfadly, MKT

Lampiran 3. Gambar tumbuhan toppaspara, simplisia daun toppaspara, dan ekstrak etanol daun toppaspara



Tumbuhan toppaspara



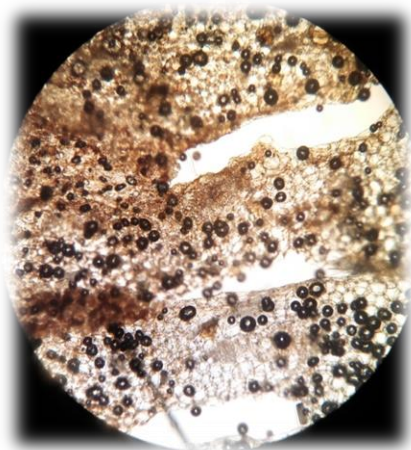
Simplisia toppaspara



Maserasi toppaspara



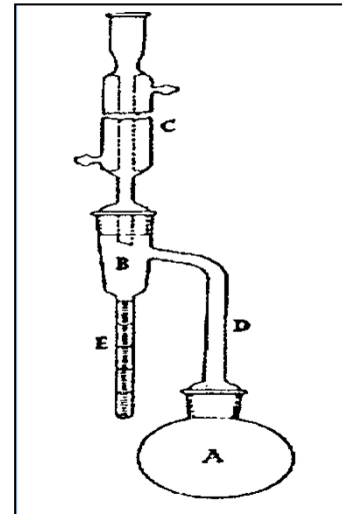
Ekstrak toppaspara



Lampiran 4. Gambar alat-alat yang digunakan

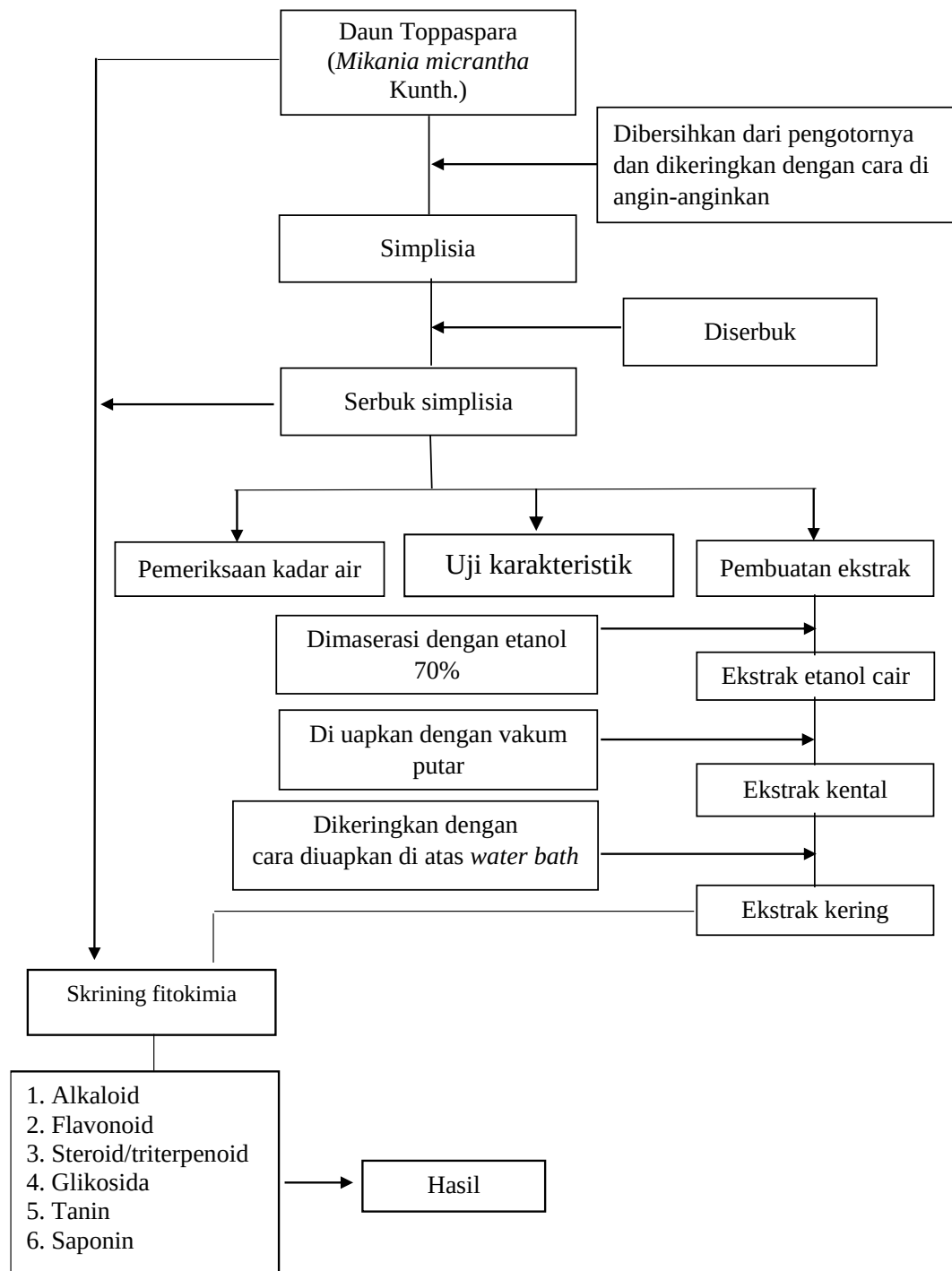


Alat penguapan *rotary evaporato*

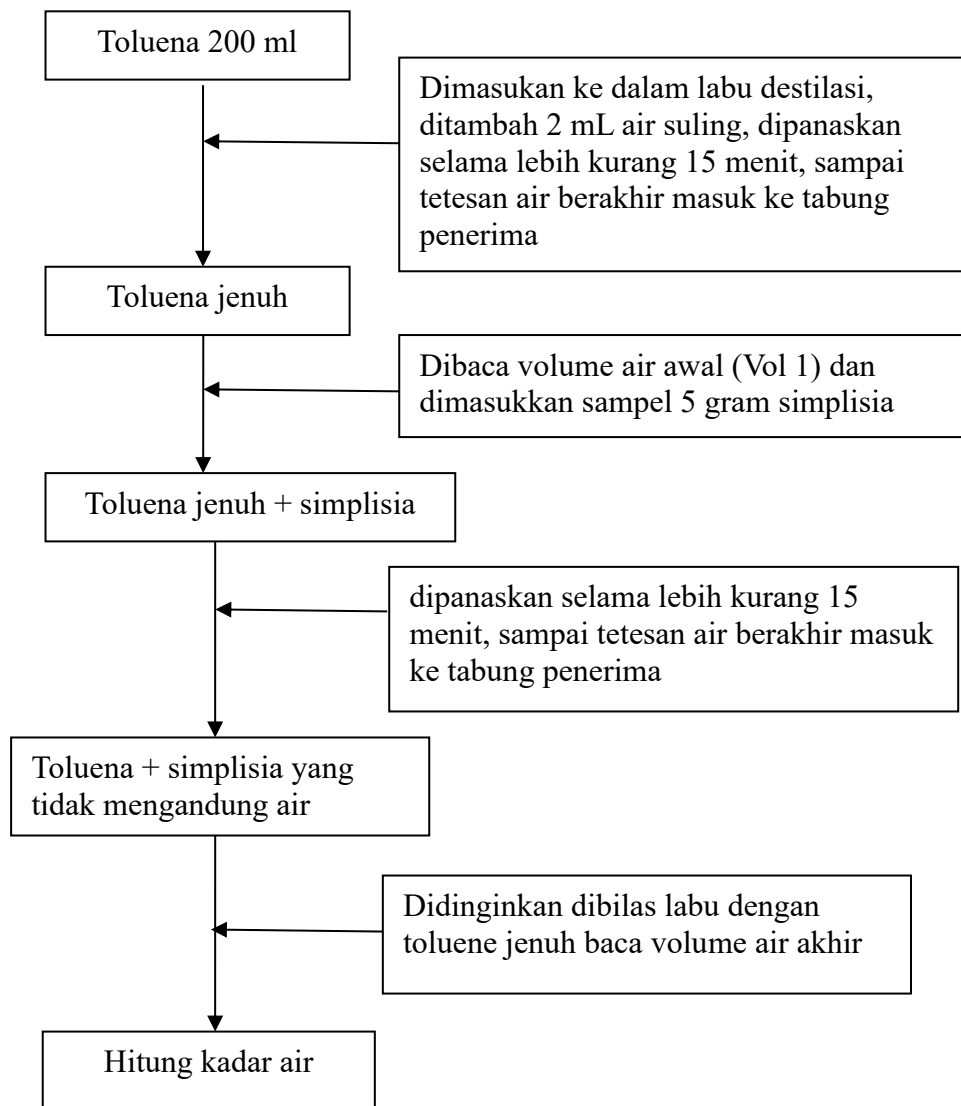


Alat Stahl

Lampiran 5. Bagan kerja pembuatan simplisia dan ekstrak etanol daun Toppaspara (*Mikania micrantha* Kunth.)



Lampiran 6. Bagan alir uji kadar air simplisia daun toppaspara.



Lampiran 7. Hasil penetapan kadar air**1. Sampel I**

$$\begin{aligned}
 \text{Berat sampel} &= 5 \text{ gram} \\
 \text{Volume awal} &= 3,3 \text{ ml} \\
 \text{Volume akhir} &= 3,7 \text{ ml} \\
 \text{Volum air} &= 3,3 \text{ ml} - 3,7 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml} \\
 \text{Kadar air} &= \frac{\text{volume air (ml)} \times 100\%}{\text{berat sampel (gram)}} \\
 &= \frac{0,4 \text{ ml}}{5,0000} \times 100\% = 8,00\%
 \end{aligned}$$

2. Sampel II

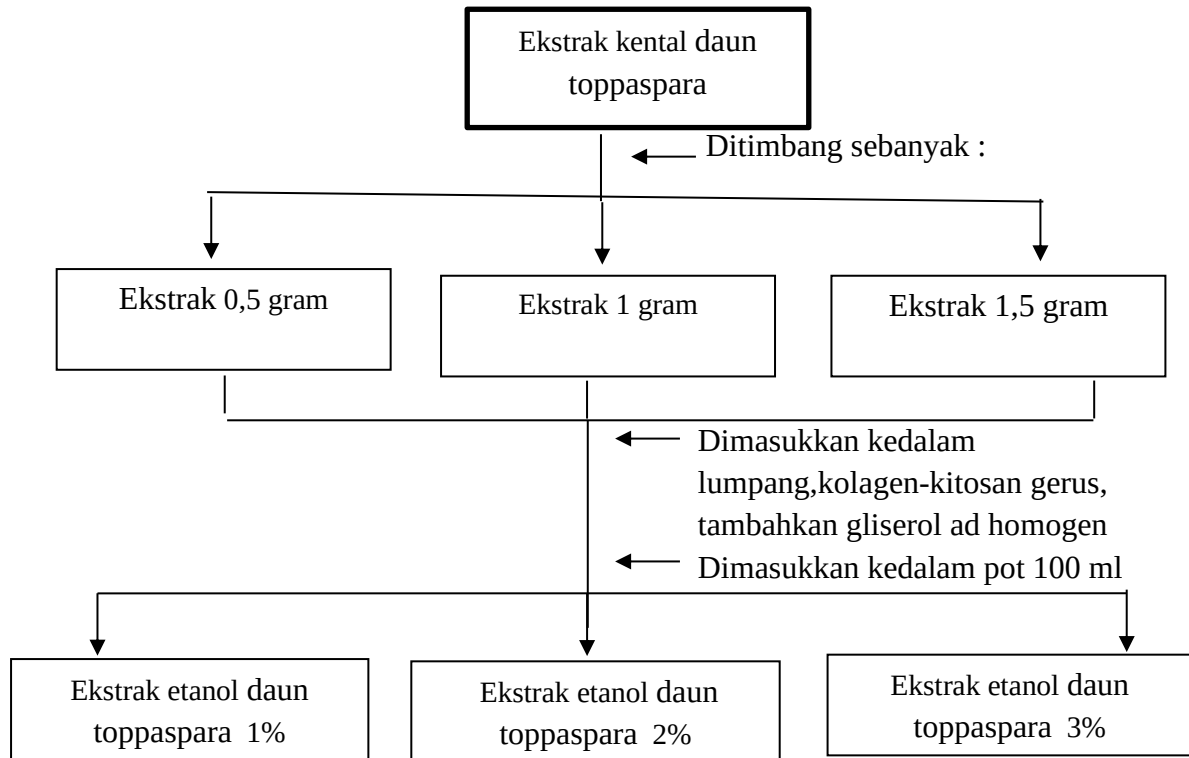
$$\begin{aligned}
 \text{Berat sampel} &= 5 \text{ gram} \\
 \text{Volume awal} &= 3,3 \text{ ml} \\
 \text{Volume akhir} &= 3,6 \text{ ml} \\
 \text{Volum air} &= 3,3 \text{ ml} - 3,6 \text{ ml} = 0,3 \text{ ml} \\
 \text{Kadar air} &= \frac{\text{volume air (ml)} \times 100\%}{\text{berat sampel (gram)}} \\
 &= \frac{0,3 \text{ ml}}{5,0003} \times 100\% = 5,99\%
 \end{aligned}$$

3. Sampel III

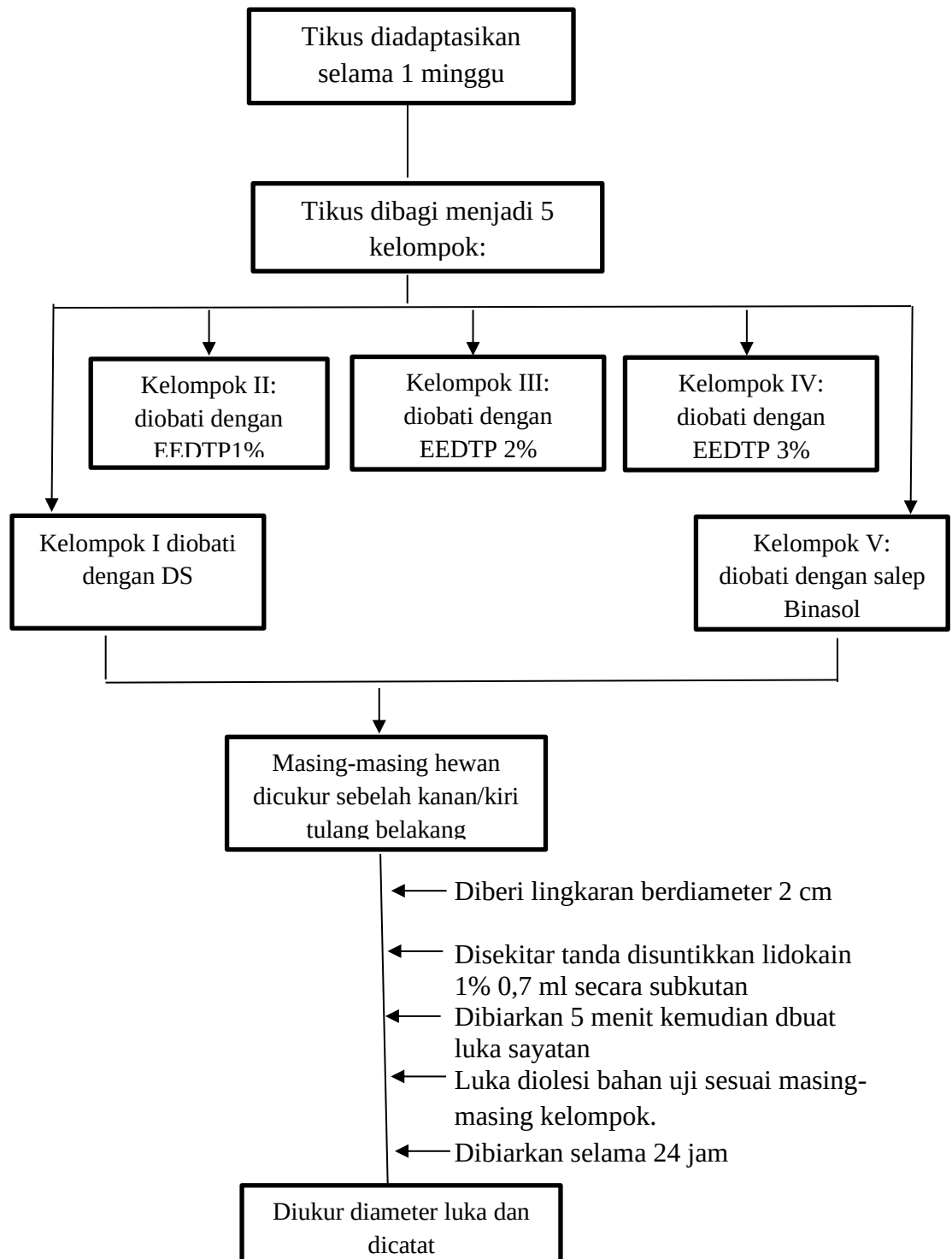
$$\begin{aligned}
 \text{Berat sampel} &= 5 \text{ gram} \\
 \text{Volume awal} &= 3,3 \text{ ml} \\
 \text{Volume akhir} &= 3,7 \text{ ml} \\
 \text{Volum air} &= 3,3 \text{ ml} - 3,7 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml} \\
 \text{Kadar air} &= \frac{\text{volume air (ml)} \times 100\%}{\text{berat sampel (gram)}} \\
 &= \frac{0,4 \text{ ml}}{5,0002} \times 100\% = 7,99\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ rata-rata kadar air} &= \frac{\text{sampel 1} + \text{sampel 2} + \text{sampel 3}}{3} \\
 &= \frac{8,00\% + 5,99\% + 7,99\%}{3} = 7,33\%
 \end{aligned}$$

Lampiran 8. Pembuatan *scaffold* ekstrak etanol daun Toppaspara (*Mikania micrantha* Kunth.)



Lampiran 9. Pengujian efek *Scaffold* ekstrak etanol daun toppaspara (*Mikania micrantha* Kunth.)



Lampiran 10. Hasil skrining fitokimia daun Toppaspara (*Mikania micrantha* Kunth.)



Pemeriksaan alkaloid



Pemeriksaan flavonoid



Pemeriksaan saponin



Pemeriksaan glikosida aglikon



Pemeriksaan glikosida glikon

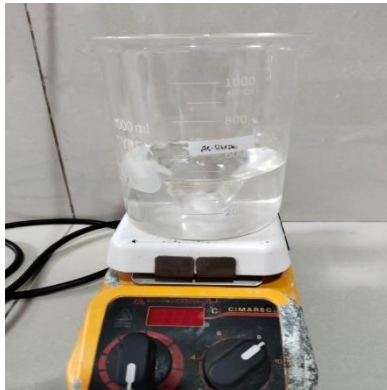


Pemeriksaan steroid/triterpenoid

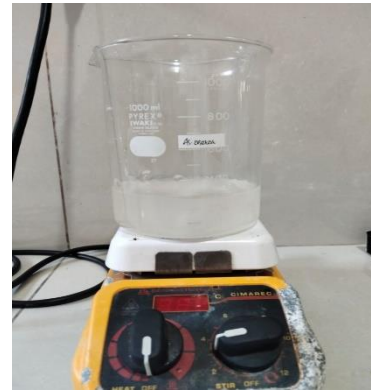


Pemeriksaan tanin

Lampiran 11. Gambar sediaan *Scaffold* ekstrak etanol daun toppaspara



Gambar. 6
Proses melarutkan kolagen
dengan asam sitrat



Gambar. 7
Proses melarutkan kitosan
dengan asam asetat



Gambar. 8
Pembuatan larutan *scaffold*



Gambar. 9
Pembuatan larutan *scaffold*



Gambar. 10
Pembuatan larutan *scaffold*
80:20:20



Gambar. 11
Larutan *scaffold* 60:40:20, 70:30:20,
dan 80:20:20

Lampiran 11. (Lanjutan) Gambar sediaan *scaffold* ekstrak etanol daun Toppaspara



Gambar. 12

Scaffold 60:40:20 setelah di freeze dry selama 38 jam



Gambar. 13

Scaffold 70:30:20 setelah di freeze dry selama 38 jam



Gambar. 14

Scaffold 80:20:20 setelah di freeze dry selama 38 jam

Lampiran 12. Gambar perkembangan penyembuhan luka hewan percobaan tanpa pengobatan



Pengujian hari ke 5



pengujian hari ke 14

Lampiran 13. Gambar perkembangan penyembuhan luka hewan percobaan yang diobati dengan dasar *Scaffold*



Pengujian hari ke 5

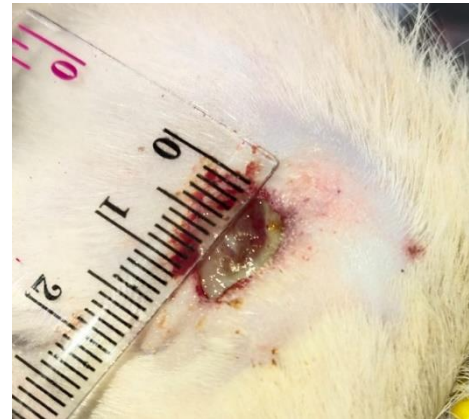


pengujian hari ke 14

Lampiran 14. Gambar perkembangan penyembuhan luka hewan percobaan yang diobati dengan EEDTp 1%

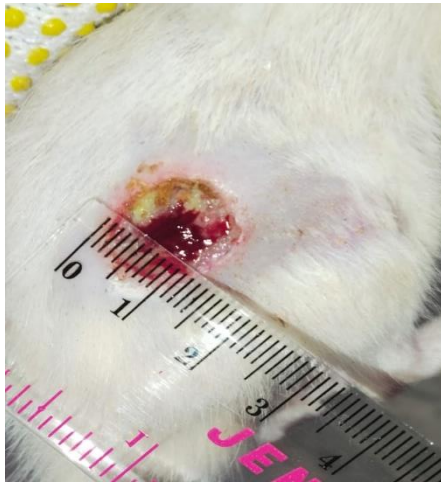


Pengujian hari ke 5



pengujian hari ke 14

Lampiran 15. Gambar perkembangan penyembuhan luka hewan percobaan yang diobati dengan EEDTp 2%

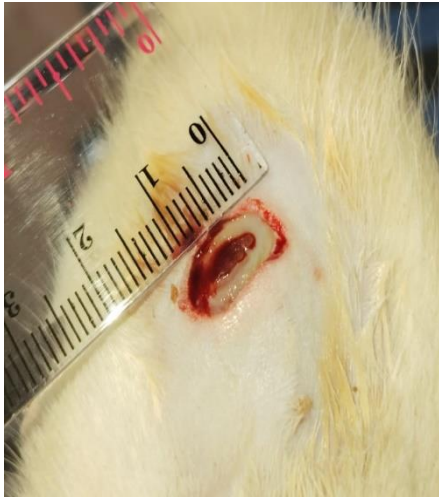


Pengujian hari ke 10



pengujian hari ke 15

Lampiran 16. Gambar perkembangan penyembuhan luka hewan percobaan yang diobati dengan EEDTp 3%

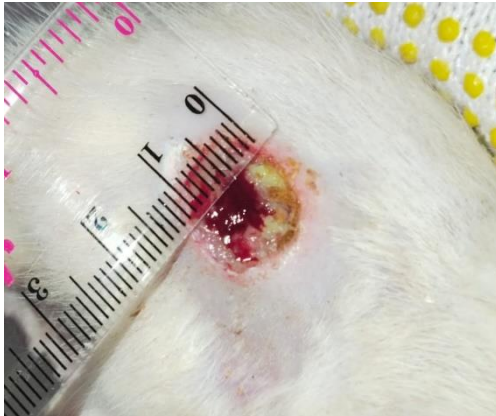


Pengujian hari ke 8



pengujian hari ke 14

Lampiran 17. Gambar perkembangan penyembuhan luka hewan percobaan yang diobati dengan salep binasol



pengujian hari ke 5



pengujian hari ke 10

Lampiran 18. Contoh perhitungan statistik persen kesembuhan luka hewan sebagai contoh diambil data dari persen kesembuhan luka hewan pada pemberian krim EEDR 3% hari ke-2

No.	Persen kesembuhan luka (%) (X)	$X - \bar{X}$	$(X - \bar{X})^2$
1	1,88	0,0017	0,0000
2	1,91	0,0317	0,0010
3	1,84	-0,0383	0,0015
4	1,85	-0,0283	0,0008
5	1,90	0,0217	0,0005
6	1,89	0,0117	0,0001
n = 6	$\sum X = 11,27$ $\bar{X} = 1,88$		$\sum (X - \bar{X})^2 = 0,0039$

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

$$\text{Standar deviasi (SD)} = \sqrt{\frac{0,0039}{5}} = 0,03$$

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

$\alpha = 0,01$; $n = 6$, $dk = 5$ dan $t_{Tabel} = 4,032$

$$1. \quad t_{hitung} = \frac{|X - \bar{X}|}{\frac{SD}{\sqrt{n}}} = \frac{|1,88 - 1,88|}{\frac{0,028}{\sqrt{6}}} = \frac{0,00}{0,0114} = 0,15$$

$$2. \quad t_{hitung} = \frac{|X - \bar{X}|}{\frac{SD}{\sqrt{n}}} = \frac{|1,91 - 1,88|}{\frac{0,028}{\sqrt{6}}} = \frac{0,03}{0,0114} = 2,78$$

$$3. \quad t_{hitung} = \frac{|X - \bar{X}|}{\frac{SD}{\sqrt{n}}} = \frac{|1,88 - 1,84|}{\frac{0,028}{\sqrt{6}}} = \frac{0,04}{0,0114} = 3,37$$

$$4. \quad t_{hitung} = \frac{|X - \bar{X}|}{\frac{SD}{\sqrt{n}}} = \frac{|1,88 - 1,85|}{\frac{0,028}{\sqrt{6}}} = \frac{0,03}{0,0114} = 2,49$$

$$5. \quad t_{hitung} = \frac{|X - \bar{X}|}{\frac{SD}{\sqrt{n}}} = \frac{|1,90 - 1,88|}{\frac{0,028}{\sqrt{6}}} = \frac{0,02}{0,0114} = 1,90$$

$$6. \quad t_{hitung} = \frac{|X - \bar{X}|}{\frac{SD}{\sqrt{n}}} = \frac{|1,89 - 1,88|}{\frac{0,028}{\sqrt{6}}} = \frac{0,01}{0,0114} = 1,03$$

Seluruh t_{hitung} dari ke-6 perlakuan $< t_{tabel}$, berarti semua data ini dapat diterima.

Lampiran 18. (Lanjutan)**Menghitung persen kesembuhan sebenarnya =**

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

$$\text{Persen kesembuhan luka rata-rata } (\bar{X}) = 1,88\%$$

$$\text{Standar deviasi (SD)} = 0,03$$

$$\text{Persen kesembuhan luka sebenarnya} = \bar{X} \pm t_{(1 - \frac{1}{2} \alpha \text{ dk})} \times \frac{Sd}{\sqrt{6}}$$

$$\text{Persen kesembuhan luka sebenarnya} = 1,88 \% \pm 4,032 \times \frac{0,03}{2,449}$$

$$\text{Persen kesembuhan luka sebenarnya} = (1,88 \pm 0,05)$$

Lampiran 19. Data dan Hasil Perhitungan Perkembangan Kesembuhan Luka Pada Kulit tikus Dengan Berbagai Perlakuan

Hari ke	Ulgan	DASAR SCAFFOLD		EEDTp 1 %		EEDTp 2 %		EEDTp 3 %		Salap Binasol	
		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	1,98	1,00	1,93	3,50	1,92	4,00	1,88	6,00	1,87	6,50
	Tikus 2	1,97	1,50	1,93	3,50	1,91	4,50	1,89	5,50	1,86	7,00
	Tikus 3	1,98	1,00	1,92	4,00	1,92	4,00	1,89	5,50	1,87	6,50
	Tikus 4	1,97	1,50	1,92	4,00	1,92	4,00	1,88	6,00	1,86	7,00
	Tikus 5	1,98	1,00	1,93	3,50	1,91	4,50	1,89	5,50	1,86	7,00
	Rata-rata	1,98	1,20	1,93	3,70	1,92	4,20	1,89	5,70	1,86	6,80
	Std.deviasi	0,00	0,27	0,01	0,27	0,01	0,27	0,01	0,27	0,01	0,27
	Hasil sebenarnya	1,98 ± 0,01	1,20 ± 0,45	1,93 ± 0,01	3,70 ± 0,45	1,92 ± 0,01	4,20 ± 0,45	1,89 ± 0,01	5,70 ± 0,45	1,86 ± 0,01	6,80 ± 0,45
3	Tikus 1	1,95	2,50	1,85	7,50	1,81	9,50	1,75	12,50	1,76	12,00
	Tikus 2	1,95	2,50	1,83	8,50	1,79	10,50	1,73	13,50	1,76	12,00
	Tikus 3	1,94	3,00	1,83	8,50	1,79	10,50	1,75	12,50	1,75	12,50
	Tikus 4	1,95	2,50	1,85	7,50	1,81	9,50	1,73	13,50	1,76	12,00
	Tikus 5	1,94	3,00	1,85	7,50	1,81	9,50	1,75	12,50	1,75	12,50
	Rata-rata	1,95	2,70	1,84	7,90	1,80	9,90	1,74	12,90	1,76	12,20
	Std.deviasi	0,00	0,27	0,01	0,55	0,01	0,55	0,01	0,55	0,01	0,27
	Hasil sebenarnya	1,95 ± 0,01	2,70 ± 0,45	1,84 ± 0,02	7,90 ± 0,90	1,80 ± 0,02	9,90 ± 0,90	1,74 ± 0,02	12,90 ± 0,90	1,76 ± 0,01	12,20 ± 0,45

Lampiran 19. Lanjutan

Hari ke	Ulgan	DASAR SCAFFOLD		EEDTp 1%		EEDTp 2%		EEDTp 3%		Salap Binasol	
		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
4	Tikus 1	1,85	7,50	1,75	12,50	1,66	17,00	1,62	19,00	1,56	22,00
	Tikus 2	1,83	8,50	1,73	13,50	1,64	18,00	1,60	20,00	1,54	23,00
	Tikus 3	1,85	7,50	1,75	12,50	1,64	18,00	1,60	20,00	1,56	22,00
	Tikus 4	1,83	8,50	1,75	12,50	1,64	18,00	1,62	19,00	1,54	23,00
	Tikus 5	1,85	7,50	1,73	13,50	1,66	17,00	1,60	20,00	1,56	22,00
	Rata-rata	1,84	7,90	1,74	12,90	1,65	17,60	1,61	19,60	1,55	22,40
	Std.deviasi	0,01	0,55	0,01	0,55	0,01	0,55	0,01	0,55	0,01	0,55
	Hasil sebenarnya	1,84 ± 0,02	7,90 ± 0,90	1,74 ± 0,02	12,90 ± 0,90	1,65 ± 0,02	17,60 ± 0,90	1,61 ± 0,02	19,60 ± 0,90	1,55 ± 0,02	22,40 ± 0,90
5	Tikus 1	1,80	10,00	1,64	18,00	1,58	21,00	1,54	23,00	1,48	26,00
	Tikus 2	1,78	11,00	1,64	18,00	1,56	22,00	1,52	24,00	1,46	27,00
	Tikus 3	1,80	10,00	1,62	19,00	1,58	21,00	1,52	24,00	1,48	26,00
	Tikus 4	1,78	11,00	1,62	19,00	1,56	22,00	1,54	23,00	1,48	26,00
	Tikus 5	1,78	11,00	1,64	18,00	1,58	21,00	1,54	23,00	1,46	27,00
	Rata-rata	1,79	10,60	1,63	18,40	1,57	21,40	1,53	23,40	1,47	26,40
	Std.deviasi	0,01	0,55	0,01	0,55	0,01	0,55	0,01	0,55	0,01	0,55
	Hasil sebenarnya	1,79 ± 0,02	10,60 ± 0,90	1,63 ± 0,02	18,40 ± 0,90	1,57 ± 0,02	21,40 ± 0,90	1,53 ± 0,02	23,40 ± 0,90	1,47 ± 0,02	26,40 ± 0,90
6	Tikus 1	1,68	16,00	1,56	22,00	1,46	27,00	1,36	32,00	1,30	35,00
	Tikus 2	1,67	16,50	1,56	22,00	1,47	26,50	1,36	32,00	1,28	36,00
	Tikus 3	1,68	16,00	1,55	22,50	1,46	27,00	1,33	33,50	1,28	36,00
	Tikus 4	1,67	16,50	1,56	22,00	1,46	27,00	1,36	32,00	1,30	35,00
	Tikus 5	1,68	16,00	1,55	22,50	1,46	27,00	1,33	33,50	1,28	36,00
	Rata-rata	1,68	16,20	1,56	22,20	1,46	26,90	1,35	32,60	1,29	35,60
	Std.deviasi	0,00	0,27	0,01	0,27	0,00	0,22	0,02	0,82	0,01	0,55
	Hasil sebenarnya	1,68 ± 0,01	16,20 ± 0,45	1,56 ± 0,01	22,20 ± 0,45	1,46 ± 0,01	26,90 ± 0,37	1,35 ± 0,03	32,60 ± 1,35	1,29 ± 0,02	35,60 ± 0,90

Lampiran 19 Lampiran lanjutan

Hari ke	Ulgan	DASAR SCAFFOLD		EEDTp 1%		EEDTp 2%		EEDTp 3%		Salap Binasol	
		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
7	Tikus 1	1,61	19,50	1,45	27,50	1,35	32,50	1,25	37,50	1,14	43,00
	Tikus 2	1,61	19,50	1,45	27,50	1,35	32,50	1,23	38,50	1,10	45,00
	Tikus 3	1,59	20,50	1,43	28,50	1,33	33,50	1,23	38,50	1,14	43,00
	Tikus 4	1,59	20,50	1,43	28,50	1,35	32,50	1,25	37,50	1,10	45,00
	Tikus 5	1,61	19,50	1,45	27,50	1,33	33,50	1,23	38,50	1,14	43,00
	Rata-rata	1,60	19,90	1,44	27,90	1,34	32,90	1,24	38,10	1,12	43,80
	Std.deviasi	0,01	0,55	0,01	0,55	0,01	0,55	0,01	0,55	0,02	1,10
	Hasil sebenarnya	1,60 ± 0,02	19,90 ± 0,90	1,44 ± 0,02	27,90 ± 0,90	1,34 ± 0,02	32,90 ± 0,90	1,24 ± 0,02	38,10 ± 0,90	1,12 ± 0,04	43,80 ± 1,80
8	Tikus 1	1,52	24,00	1,35	32,50	1,25	37,50	1,12	44,00	1,05	47,50
	Tikus 2	1,52	24,00	1,33	33,50	1,23	38,50	1,10	45,00	1,05	47,50
	Tikus 3	1,50	25,00	1,33	33,50	1,25	37,50	1,12	44,00	1,00	50,00
	Tikus 4	1,50	25,00	1,35	32,50	1,23	38,50	1,10	45,00	1,05	47,50
	Tikus 5	1,52	24,00	1,33	33,50	1,25	37,50	1,10	45,00	1,05	47,50
	Rata-rata	1,51	24,40	1,34	33,10	1,24	37,90	1,11	44,60	1,04	48,00
	Std.deviasi	0,01	0,55	0,01	0,55	0,01	0,55	0,01	0,55	0,02	1,12
	Hasil sebenarnya	1,51 ± 0,02	24,40 ± 0,90	1,34 ± 0,02	33,10 ± 0,90	1,24 ± 0,02	37,90 ± 0,90	1,11 ± 0,02	44,60 ± 0,90	1,04 ± 0,04	48,00 ± 1,84
9	Tikus 1	1,48	26,00	1,27	36,50	1,12	44,00	1,00	50,00	0,95	52,50
	Tikus 2	1,46	27,00	1,26	37,00	1,09	45,50	0,98	51,00	0,86	57,00
	Tikus 3	1,46	27,00	1,26	37,00	1,12	44,00	1,00	50,00	0,95	52,50
	Tikus 4	1,48	26,00	1,27	36,50	1,09	45,50	0,98	51,00	0,86	57,00
	Tikus 5	1,48	26,00	1,26	37,00	1,12	44,00	1,00	50,00	0,95	52,50
	Rata-rata	1,47	26,40	1,26	36,80	1,11	44,60	0,99	50,40	0,91	54,30
	Std.deviasi	0,01	0,55	0,01	0,27	0,02	0,82	0,01	0,55	0,05	2,46
	Hasil sebenarnya	1,47 ± 0,02	26,40 ± 0,90	1,26 ± 0,01	36,80 ± 0,45	1,11 ± 0,03	44,60 ± 1,35	0,99 ± 0,02	50,40 ± 0,90	0,91 ± 0,08	54,30 ± 4,06

Lampiran 19. Lampiran lanjutan

Hari ke	Ulgan	DASAR SCAFFOLD		EEDTp 1%		EEDTp 2%		EEDTp 3%		Salap Binasol	
		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
11	Tikus 1	1,20	40,00	0,94	53,00	0,80	60,00	0,57	71,50	0,45	77,50
	Tikus 2	1,18	41,00	0,92	54,00	0,78	61,00	0,53	73,50	0,41	79,50
	Tikus 3	1,20	40,00	0,92	54,00	0,80	60,00	0,55	72,50	0,45	77,50
	Tikus 4	1,17	41,50	0,94	53,00	0,77	61,50	0,54	73,00	0,41	79,50
	Tikus 5	1,18	41,00	0,94	53,00	0,80	60,00	0,54	73,00	0,42	79,00
	Rata-rata	1,19	40,70	0,93	53,40	0,79	60,50	0,55	72,70	0,43	78,60
	Std.deviasi	0,01	0,67	0,01	0,55	0,01	0,71	0,02	0,76	0,02	1,02
	Hasil sebenarnya	1,19 ± 0,02	40,70 ± 1,10	0,93 ± 0,02	53,40 ± 0,90	0,79 ± 0,02	60,50 ± 1,16	0,55 ± 0,02	72,70 ± 1,25	0,43 ± 0,03	78,60 ± 1,69
12	Tikus 1	1,08	46,00	0,83	58,50	0,64	68,00	0,48	76,00	0,32	84,00
	Tikus 2	1,06	47,00	0,79	60,50	0,60	70,00	0,45	77,50	0,30	85,00
	Tikus 3	1,08	46,00	0,80	60,00	0,64	68,00	0,45	77,50	0,32	84,00
	Tikus 4	1,05	47,50	0,83	58,50	0,60	70,00	0,48	76,00	0,29	85,50
	Tikus 5	1,08	46,00	0,83	58,50	0,64	68,00	0,45	77,50	0,29	85,50
	Rata-rata	1,07	46,50	0,82	59,20	0,62	68,80	0,46	76,90	0,30	84,80
	Std.deviasi	0,01	0,71	0,02	0,97	0,02	1,10	0,02	0,82	0,02	0,76
	Hasil sebenarnya	1,07 ± 0,02	46,50 ± 1,16	0,82 ± 0,03	59,20 ± 1,60	0,62 ± 0,04	68,80 ± 1,80	0,46 ± 0,03	76,90 ± 1,35	0,30 ± 0,02	84,80 ± 1,25
13	Tikus 1	0,97	51,50	0,79	60,50	0,46	77,00	0,38	81,00	0,18	91,00
	Tikus 2	0,94	53,00	0,72	64,00	0,44	78,00	0,38	81,00	0,15	92,50
	Tikus 3	0,97	51,50	0,79	60,50	0,46	77,00	0,35	82,50	0,18	91,00
	Tikus 4	0,93	53,50	0,72	64,00	0,44	78,00	0,35	82,50	0,15	92,50
	Tikus 5	0,94	53,00	0,84	58,00	0,46	77,00	0,35	82,50	0,18	91,00
	Rata-rata	0,95	52,50	0,77	61,40	0,45	77,40	0,36	81,90	0,17	91,60
	Std.deviasi	0,02	0,94	0,05	2,58	0,01	0,55	0,02	0,82	0,02	0,82
	Hasil sebenarnya	0,95 ± 0,03	52,50 ± 1,54	0,77 ± 0,09	61,40 ± 4,25	0,45 ± 0,02	77,40 ± 0,90	0,36 ± 0,03	81,90 ± 1,35	0,17 ± 0,03	91,60 ± 1,35

Lampiran 19. Lampiran lanjutan

Hari ke	Ulgan	DASAR SCAFFOLD		EEDTp 1%		EEDTp 2%		EEDTp 3%		Salap Binasol	
		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	0,97	51,50	0,79	60,50	0,46	77,00	0,38	81,00	0,18	91,00
	Tikus 2	0,94	53,00	0,72	64,00	0,44	78,00	0,38	81,00	0,15	92,50
	Tikus 3	0,97	51,50	0,79	60,50	0,46	77,00	0,35	82,50	0,18	91,00
	Tikus 4	0,93	53,50	0,72	64,00	0,44	78,00	0,35	82,50	0,15	92,50
	Tikus 5	0,94	53,00	0,84	58,00	0,46	77,00	0,35	82,50	0,18	91,00
	Rata-rata	0,95	52,50	0,77	61,40	0,45	77,40	0,36	81,90	0,17	91,60
	Std.deviasi	0,02	0,94	0,05	2,58	0,01	0,55	0,02	0,82	0,02	0,82
	Hasil sebenarnya	0,95 ± 0,03	52,50 ± 1,54	0,77 ± 0,09	61,40 ± 4,25	0,45 ± 0,02	77,40 ± 0,90	0,36 ± 0,03	81,90 ± 1,35	0,17 ± 0,03	91,60 ± 1,35
14	Tikus 1	0,87	56,50	0,66	67,00	0,35	82,50	0,25	87,50	0,08	96,00
	Tikus 2	0,85	57,50	0,60	70,00	0,36	82,00	0,22	89,00	0,05	97,50
	Tikus 3	0,87	56,50	0,55	72,50	0,33	83,50	0,25	87,50	0,06	97,00
	Tikus 4	0,89	55,50	0,74	63,00	0,33	83,50	0,22	89,00	0,05	97,50
	Tikus 5	0,85	57,50	0,60	70,00	0,35	82,50	0,22	89,00	0,08	96,00
	Rata-rata	0,87	56,70	0,63	68,50	0,34	82,80	0,23	88,40	0,06	96,80
	Std.deviasi	0,01	0,84	0,07	3,64	0,01	0,67	0,02	0,82	0,02	0,76
	Hasil sebenarnya	0,87 ± 0,02	56,70 ± 1,38	0,63 ± 0,12	68,50 ± 5,99	0,34 ± 0,02	82,80 ± 1,10	0,23 ± 0,03	88,40 ± 1,35	0,06 ± 0,02	96,80 ± 1,25
15	Tikus 1	0,75	62,50	0,55	72,50	0,25	87,50	0,15	92,50	0,00	100,00
	Tikus 2	0,74	63,00	0,46	77,00	0,26	87,00	0,11	94,50	0,00	100,00
	Tikus 3	0,74	63,00	0,46	77,00	0,23	88,50	0,11	94,50	0,00	100,00
	Tikus 4	0,75	62,50	0,44	78,00	0,26	87,00	0,15	92,50	0,00	100,00
	Tikus 5	0,76	62,00	0,55	72,50	0,26	87,00	0,15	92,50	0,00	100,00
	Rata-rata	0,75	62,60	0,49	75,40	0,25	87,40	0,13	93,30	0,00	100,00
	Std.deviasi	0,01	0,42	0,05	2,68	0,01	0,65	0,02	1,10	0,00	0,00
	Hasil sebenarnya	0,75 ± 0,01	62,60 ± 0,69	0,49 ± 0,09	75,40 ± 4,41	0,25 ± 0,02	87,40 ± 1,07	0,13 ± 0,04	93,30 ± 1,80	0,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00

Lampiran 19. Lampiran lanjutan

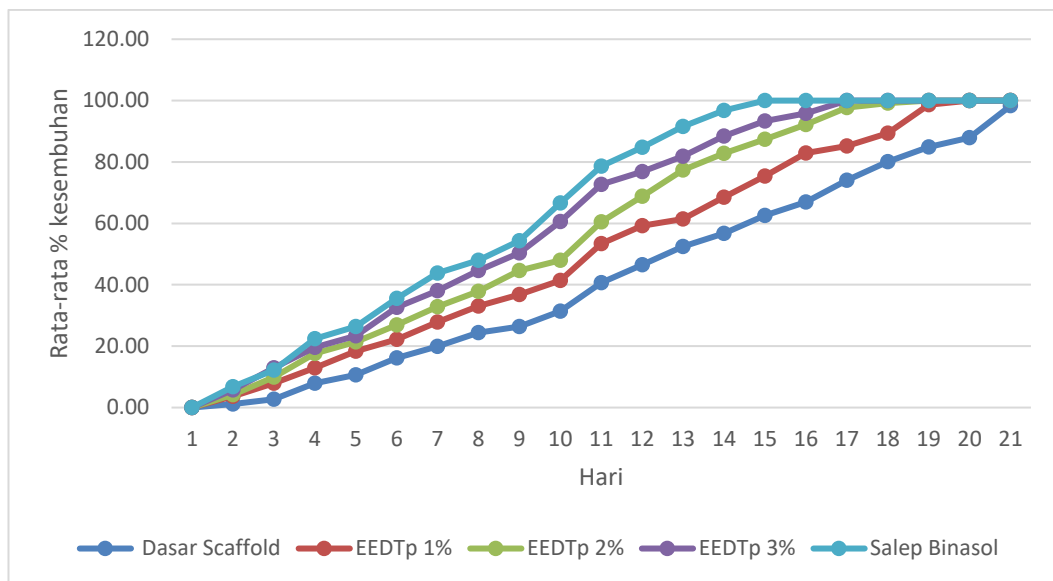
Hari ke	Ulgan	DASAR SCAFFOLD		EEDTp 1%		EEDTp 2%		EEDTp 3%		Salap Binasol	
		Ø luka (cm)	% kesembuhan luka	Ø luka (cm)	% kesembuhan luka	Ø luka (cm)	% kesembuhan luka	Ø luka (cm)	% kesembuhan luka	Ø luka (cm)	% kesembuhan luka
16	Tikus 1	0,60	70,00	0,34	83,00	0,16	92,00	0,08	96,00		
	Tikus 2	0,60	70,00	0,34	83,00	0,16	92,00	0,09	95,50		
	Tikus 3	0,62	69,00	0,33	83,50	0,15	92,50	0,09	95,50		
	Tikus4	0,62	69,00	0,35	82,50	0,15	92,50	0,08	96,00		
	Tikus 5	0,59	70,50	0,35	82,50	0,16	92,00	0,08	96,00		
	Rata-rata	0,61	69,70	0,34	82,90	0,16	92,20	0,08	95,80		
	Std.deviasi	0,01	0,67	0,01	0,42	0,01	0,27	0,01	0,27		
	Hasil sebenarnya	0,61 ± 0,02	6,00 ± 1,10	0,34 ± 0,01	82,90 ± 0,69	0,16 ± 0,01	92,20 ± 0,45	0,08 ± 0,01	95,80 ± 0,45		
17	Tikus 1	0,53	73,50	0,36	82,00	0,06	97,00	0,00	100,00		
	Tikus 2	0,50	75,00	0,31	84,50	0,04	98,00	0,00	100,00		
	Tikus 3	0,50	75,00	0,25	87,50	0,05	97,50	0,00	100,00		
	Tikus 4	0,53	73,50	0,31	84,50	0,04	98,00	0,00	100,00		
	Tikus 5	0,53	73,50	0,25	87,50	0,04	98,00	0,00	100,00		
	Rata-rata	0,52	74,10	0,30	85,20	0,05	97,70	0,00	100,00		
	Std.deviasi	0,01	0,82	0,05	2,33	0,01	0,45	0,00	0,00		
	Hasil sebenarnya	0,52 ± 0,02	74,10 ± 1,35	0,30 ± 0,08	85,20 ± 3,84	0,05 ± 0,01	97,70 ± 0,74	0,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00		
18	Tikus 1	0,41	79,50	0,22	89,00	0,02	99,00	0,00	100,00		
	Tikus 2	0,38	81,00	0,21	89,50	0,02	99,00	0,00	100,00		
	Tikus 3	0,38	81,00	0,22	89,00	0,01	99,50	0,00	100,00		
	Tikus 4	0,41	79,50	0,20	90,00	0,01	99,50	0,00	100,00		
	Tikus 5	0,41	79,50	0,21	89,50	0,02	99,00	0,00	100,00		
	Rata-rata	0,40	80,10	0,21	89,40	0,02	99,20	0,00	100,00		
	Std.deviasi	0,01	0,82	0,01	0,42	0,01	0,27	0,00	0,00		
	Hasil sebenarnya	0,40 ± 0,02	80,10 ± 1,35	0,21 ± 0,01	89,40 ± 0,69	0,02 ± 0,01	99,20 ± 0,45				

Lampiran 19. Lampiran lanjutan

Hari ke	Ulgan	DASAR SCAFFOLD		EEDTp 1%		EEDTp 2%		EEDTp 3%		Salap Binasol	
		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
19	Tikus 1	0,34	83,00	0,03	98,50	0,00	100,00				
	Tikus 2	0,31	84,50	0,02	99,00	0,00	100,00				
	Tikus 3	0,31	84,50	0,03	98,50	0,00	100,00				
	Tikus 4	0,34	83,00	0,03	98,50	0,00	100,00				
	Tikus 5	0,21	89,50	0,02	99,00	0,00	100,00				
	Rata-rata	0,30	84,90	0,03	98,70	0,00	100,00				
	Std.deviasi	0,05	2,68	0,01	0,27	0,00	0,00				
	Hasil sebenarnya	0,30 ± 0,08	84,90 ± 4,41	0,03 ± 0,01	98,70 ± 0,45						
20	Tikus 1	0,24	88,00	0,00	100,00						
	Tikus 2	0,25	87,50	0,00	100,00						
	Tikus 3	0,23	88,50	0,00	100,00						
	Tikus 4	0,24	88,00	0,00	100,00						
	Tikus 5	0,25	87,50	0,00	100,00						
	Rata-rata	0,24	87,90	0,00	100,00						
	Std.deviasi	0,01	0,42	0,00	0,00						
	Hasil sebenarnya	0,24 ± 0,01	87,90 ± 0,69	0,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00						
21	Tikus 1	0,03	98,50								
	Tikus 2	0,04	98,00								
	Tikus 3	0,03	98,50								
	Tikus 4	0,03	98,50								
	Tikus 5	0,04	98,00								
	Rata-rata	0,03	98,30								
	Std.deviasi	0,00	0,27								
	Hasil sebenarnya	0,03 ± 0,01	98,30 ± 0,45								

Lampiran 19. lanjutan

Hari- ke	% kesembuhan luka				
	DASAR SCAFFOLD	EEDTp 1%	EEDTp 2%	EEDTp 3%	GENTAMISIN
1	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
2	1,20 ± 0,45	3,70 ± 0,45	4,20 ± 0,45	5,70 ± 0,45	6,80 ± 0,45
3	2,70 ± 0,45	7,90 ± 0,90	9,90 ± 0,90	12,90 ± 0,90	12,20 ± 0,45
4	7,90 ± 0,90	12,90 ± 0,90	17,60 ± 0,90	19,60 ± 0,90	22,40 ± 0,90
5	10,60 ± 0,90	18,40 ± 0,90	21,40 ± 0,90	23,40 ± 0,90	26,40 ± 0,90
6	16,20 ± 0,45	22,20 ± 0,45	26,90 ± 0,37	32,60 ± 1,35	35,60 ± 0,90
7	19,90 ± 0,90	27,90 ± 0,90	32,90 ± 0,90	38,10 ± 0,90	43,80 ± 1,80
8	24,40 ± 0,90	33,10 ± 0,90	37,90 ± 0,90	44,60 ± 0,90	48,00 ± 1,84
9	26,40 ± 0,90	36,80 ± 0,45	44,60 ± 1,35	50,40 ± 0,90	54,30 ± 4,06
10	31,40 ± 1,35	41,40 ± 0,90	48,00 ± 2,25	60,60 ± 1,47	66,60 ± 1,35
11	40,70 ± 1,10	53,40 ± 0,90	60,50 ± 1,16	72,70 ± 1,25	78,60 ± 1,69
12	46,50 ± 1,16	59,20 ± 1,60	68,80 ± 1,80	76,90 ± 1,35	84,80 ± 1,25
13	52,50 ± 1,54	61,40 ± 4,25	77,40 ± 0,90	81,90 ± 1,35	91,60 ± 1,35
14	56,70 ± 1,38	68,50 ± 5,99	82,80 ± 1,10	88,40 ± 1,35	96,80 ± 1,25
15	62,60 ± 0,69	75,40 ± 4,41	87,40 ± 1,07	93,30 ± 1,80	100,00 ± 0,00
16	67,00 ± 1,10	82,90 ± 0,69	92,20 ± 0,45	95,80 ± 0,45	
17	74,10 ± 1,35	85,20 ± 3,84	97,70 ± 0,74	100,00 ± 0,00	
18	80,10 ± 1,35	89,40 ± 0,69	99,20 ± 0,45		
19	84,90 ± 4,41	98,70 ± 0,45			
20	87,90 ± 0,69	100,00 ± 0,00			
21	98,30 ± 0,45				



Lampiran 20. Uji analisa varian (ANAVA)

Untuk melihat perbedaan % kesembuhan luka buatan pada kulit tikus pengobatan dengan dasar *scaffold*, salep binasol, EEDTp 1%, EEDTp 2%, dan EEDTp 3% pada hari ke-2.

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	% Kesembuhan luka pada tikus							
	ULANGAN					JLH.	rata-rata	(T) ²
	1	2	3	4	5	T		
Dasar Scaffold	1,00	1,50	1,00	1,50	1,00	6,00	1,20	36,00
Salep Binasol	6,50	7,00	6,50	7,00	7,00	34,00	6,80	1.156,00
EEDTp 1%	3,50	3,50	4,00	4,00	3,50	18,50	3,70	342,25
EEDTp 2%	4,00	4,50	4,00	4,00	4,50	21,00	4,20	441,00
EEDTp 3%	6,00	5,50	5,50	6,00	5,50	28,50	5,70	812,25
JUMLAH	21,00	22,00	21,00	22,50	21,50	108,00	21,60	2.787,50

Jumlah (Total T)² = 11.664,00

Lampiran 20. (lanjutan). Uji analisa varian (ANAVA)

Total (Hasil dari pengulangan)² =

$$\{(1,00)^2 + (1,50)^2 + (1,00)^2 + (1,50)^2 + (1,00)^2 + (6,50)^2 + (7,00)^2 + (6,50)^2 + (7,00)^2 + (7,00)^2 + (3,50)^2 + (3,50)^2 + (4,00)^2 + (4,00)^2 + (3,50)^2 + (4,00)^2 + (4,50)^2 + (4,00)^2 + (4,00)^2 + (4,50)^2 + (6,00)^2 + (5,50)^2 + (5,50)^2 + (6,00)^2 + (5,00)^2 = 559,00$$

$$\text{Faktor koreksi (FK)} = \frac{(Total T)^2}{\text{jumlah pengulangan (N)}} = \frac{11.664,00}{25} = 466,56$$

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

$$\text{Jumlah Koreksi Total (JKT)} = 559,00000 - 466,56$$

$$\text{Jumlah Koreksi Kolom (JKK)} = \frac{Total (T)^2}{\text{Replikasi}} - \text{FK} = \frac{2.787,50}{5} - 466,56 = 90,9400$$

$$\text{Jumlah Koreksi Error (JKE)} = \text{JKT} - \text{JKK} = 92,4400 - 90,9400 = 1,5000$$

Tabel ANAVA : Analisa sidik ragam dengan uji F

SK	JK	db	RK	F ₀	F tabel	
					5%	1%
Rata-rata kolom	90,94	4	22,74	303,13	2,87	4,43
Error	1,50	20	0,08			
Total	92,44	24				

Kesimpulan :

Oleh karena $F_0 = 303,13 > F_{1\%} (4,20) = 4,43$, maka terdapat perbedaan % kesembuhan luka dari seluruh yang diuji,

Selanjutnya dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

$$\text{Koreksi Total Galat (KTG)} = 0,08$$

$$V = 20$$

$$r = 5$$

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

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

$$Sd = \frac{\sqrt{2 KTG}}{r} = \frac{\sqrt{2 \times 0,08}}{5} = 0,077$$

$$\text{BNT}_{0,05} = 2,086 \times 0,077 = 0,162$$

$$\text{BNT}_{0,01} = 2,845 \times 0,077 = 0,220$$

Lampiran 20. (lanjutan).

Bila hasil perhitungan lebih besar dari $BNT_{0,01} = 0,220$, disimpulkan terdapat perbedaan yang sangat signifikan.

Bila hasil perhitungan lebih besar dari $BNT_{0,01} = 0,220$ dan lebih kecil dari $BNT_{0,05} = 0,162$ disimpulkan berbeda signifikan.

Bila lebih kecil dari $BNT_{0,05} = 0,162$, disimpulkan tidak berbeda signifikan.

Bila hasil perhitungan lebih besar dari tabel BNT, maka dikatakan ada perbedaan yang nyata

Hasil perhitungan sebagai berikut :

Perlakuan	% kesembuhan luka		Beda dengan			
			Dasar Scaffold	Binasol	EEDTp 1%	EEDTp 2%
Dasar Scaffold		1,20	-	-	-	-
Salep Binasol		6,80	5,60	-	-	-
EEDTp 1%		3,70	2,50	3,10	-	-
EEDTp 2%		4,20	3,00	2,60	0,50	-
EEDTp 3%		5,70	4,50	1,10	2,00	1,50
	$BNT_{0,05} =$	0,162	$BNT_{0,01} =$	0,220		

Kesimpulan :

Terdapat perbedaan yang sangat signifikan antara kelompok dasar *scaffold* dengan seluruh kelompok perlakuan lain.

Lampiran 20. Uji analisa varian (ANAVA)

Untuk melihat perbedaan % kesembuhan luka buatan pada kulit tikus pengobatan dengan dasar *scaffold*, salep binasol, EEDTp 1%, EEDTp 2%, dan EEDTp 3% pada hari ke-3.

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	% Kesembuhan luka pada tikus							
	ULANGAN					JLH.	rata-rata	$(T)^2$
	1	2	3	4	5	T		
Dasar Scaffold	2,50	2,50	3,00	2,50	3,00	13,50	2,70	182,25
Salap Binasol	12,00	12,00	12,50	12,00	12,50	61,00	12,20	3.721,00
EEDTp 1%	7,50	8,50	8,50	7,50	7,50	39,50	7,90	1.560,25
EEDTp 2%	9,50	10,50	10,50	9,50	9,50	49,50	9,90	2.450,25
EEDTp 3%	12,50	13,50	12,50	13,50	12,50	64,50	12,90	4.160,25
JUMLAH	44,00	47,00	47,00	45,00	45,00	228,00	45,60	12.074,00

Jumlah $(Total T)^2 = 51.984,00$

Lampiran 20. (lanjutan). Uji analisa varian (ANAVA)

Total (Hasil dari pengulangan)² =

$$\begin{aligned} &\{(2,50)^2 + (2,50)^2 + (3,00)^2 + (2,50)^2 + (3,00)^2 + (12,00)^2 + (12,00)^2 + (12,500)^2 + \\ &(12,00)^2 + (12,50)^2 + (7,50)^2 + (8,50)^2 + (8,50)^2 + (7,50)^2 + (7,50)^2 + (9,50)^2 + \\ &(10,50)^2 + (10,50)^2 + (9,50)^2 + (9,50)^2 + (12,50)^2 + (13,50)^2 + (12,50)^2 + (13,50)^2 \\ &+ (12,50)^2\} = 2.419,00 \end{aligned}$$

$$\text{Faktor koreksi (FK)} = \frac{(Total T)^2}{\text{jumlah pengulangan (N)}} = \frac{51.984,00}{25} = 2.079,36$$

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

$$\text{Jumlah Koreksi Total (JKT)} = 2.419,00000 - 2.079,36 = 339,6400$$

$$\text{Jumlah Koreksi Kolom (JKK)} = \frac{Total (T)^2}{Replikasi} - \text{FK} = \frac{12.074,00}{5} - 2.079,36 = 335,4400$$

$$\text{Jumlah Koreksi Error (JKE)} = \text{JKT} - \text{JKK} = 339,6400 - 335,4400 = 4,2000$$

Tabel ANAVA : Analisa sidik ragam dengan uji F

SK	JK	db	RK	F ₀	F tabel
					1%
Rata-rata kolom	335,44	4	83,86	399,33	4,43
Error	4,20	20	0,21		
Total	339,64	24			

Kesimpulan :

Oleh karena $F_0 = 399,33 > F_{1\%}(4,20) = 4,43$, maka terdapat perbedaan % kesembuhan luka dari seluruh yang diuji,

Selanjutnya dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

$$\text{Koreksi Total Galat (KTG)} = 0,21$$

$$V = 20$$

$$r = 5$$

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

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

$$Sd = \frac{\sqrt{2 KTG}}{r} = \frac{\sqrt{2 \times 0,21}}{5} = 0,108$$

$$\text{BNT}_{0,05} = 2,086 \times 0,108 = 0,225$$

$$\text{BNT}_{0,01} = 2,845 \times 0,108 = 0,307$$

Lampiran 20. (lanjutan).

Bila hasil perhitungan lebih besar dari $BNT_{0,01} = 0,225$, disimpulkan terdapat perbedaan yang sangat signifikan.

Bila hasil perhitungan lebih besar dari $BNT_{0,01} = 0,225$ dan lebih kecil dari $BNT_{0,05} = 0,307$ disimpulkan berbeda signifikan.

Bila lebih kecil dari $BNT_{0,05} = 0,307$, disimpulkan tidak berbeda signifikan.

Bila hasil perhitungan lebih besar dari tabel BNT, maka dikatakan ada perbedaan yang nyata

Hasil perhitungan sebagai berikut :

Perlakuan	% kesembuhan luka		Beda dengan			
			Dasar salep	Binasol	EEDTp 1%	EEDTp 2%
Dasar Scaffold	2,70		-	-	-	-
Salep Binasol	12,20		9,50	-	-	-
EEDTp 1%	7,90		5,20	4,30	-	-
EEDTp 2%	9,90		7,20	2,30	2,00	-
EEDTp 3%	12,90		10,20	-0,70	5,00	3,00
	$BNT_{0,05} =$	0,225	$BNT_{0,01} =$	0,307		

Kesimpulan :

Terdapat perbedaan yang sangat signifikan antara kelompok dasar *scaffold* dengan seluruh kelompok perlakuan lain.

Lampiran 20. Uji analisa varian (ANAVA)

Untuk melihat perbedaan % kesembuhan luka buatan pada kulit tikus pengobatan dengan dasar *scaffold*, salep binasol, EEDTp 1%, EEDTp 2%, dan EEDTp 3% pada hari ke-15.

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	% Kesembuhan luka pada tikus							
	ULANGAN					JLH.	rata-rata	$(T)^2$
	1	2	3	4	5	T		
Dasar Scaffold	62,50	63,00	63,00	62,50	62,00	313,00	62,60	97.969,00
Salep Binasol	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	500,00	100,00	250.000,00
EEDTp 1%	72,50	77,00	77,00	78,00	72,50	377,00	75,40	142.129,00
EEDTp 2%	87,50	87,00	88,50	87,00	87,00	437,00	87,40	190.969,00
EEDTp 3%	92,50	94,50	94,50	92,50	92,50	466,50	93,30	217.622,25
JUMLAH	415,00	421,50	423,00	420,00	414,00	2.093,50	418,70	898.689,25

Jumlah $(Total T)^2 = 4.382.742,25$

Lampiran 20. (lanjutan). Uji analisa varian (ANAVA)

Total (Hasil dari pengulangan)² =

$$\{(62,50)^2 + (63,00)^2 + (63,00)^2 + (62,50)^2 + (62,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (72,50)^2 + (77,00)^2 + (77,00)^2 + (78,00)^2 + (72,50)^2 + (87,50)^2 + (87,00)^2 + (88,50)^2 + (87,00)^2 + (87,00)^2 + (92,50)^2 + (94,50)^2 + (94,50)^2 + (92,50)^2 + (92,50)^2\} = 179.773,75$$

$$\text{Faktor koreksi (FK)} = \frac{(Total T)^2}{\text{jumlah pengulangan (N)}} = \frac{4.382.742,25}{25} = 175.309,69$$

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

$$\text{Jumlah Koreksi Total (JKT)} = 179.773,7500000 - 175.309,69 = 4.464,0600$$

$$\text{Jumlah Koreksi Kolom (JKK)} = \frac{Total (T)^2}{Replikasi} - \text{FK} = \frac{898.689,25}{5} - 175.309,69 = 4.428,1600$$

$$\text{Jumlah Koreksi Error (JKE)} = \text{JKT} - \text{JKK} = 4.464,0600 - 4.428,1600 = 35,9000$$

Tabel ANAVA : Analisa sidik ragam dengan uji F

SK	JK	db	RK	F ₀	F tabel
					1%
Rata-rata kolom	4.428,16	4	1.107,04	616,74	4,43
Error	35,90	20	1,79		
Total	4.464,06	24			

Kesimpulan :

Oleh karena $F_0 = 616,74 > F_{1\%} (4,20) = 4,43$, maka terdapat perbedaan % kesembuhan luka dari seluruh yang diuji,

Selanjutnya dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

$$\text{Koreksi Total Galat (KTG)} = 1,79$$

$$V = 20$$

$$r = 5$$

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

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

$$Sd = \frac{\sqrt{2 KTG}}{r} = \frac{\sqrt{2 \times 1,79}}{5} = 0,316$$

$$\text{BNT}_{0,05} = 2,086 \times 0,316 = 0,659$$

$$\text{BNT}_{0,01} = 2,845 \times 0,316 = 0,898$$

Lampiran 20. (lanjutan).

Bila hasil perhitungan lebih besar dari $BNT_{0,01} = 0,659$, disimpulkan terdapat perbedaan yang sangat signifikan.

Bila hasil perhitungan lebih besar dari $BNT_{0,01} = 0,659$ dan lebih kecil dari $BNT_{0,05} = 0,898$ disimpulkan berbeda signifikan.

Bila lebih kecil dari $BNT_{0,05} = 0,898$, disimpulkan tidak berbeda signifikan.

Bila hasil perhitungan lebih besar dari tabel BNT, maka dikatakan ada perbedaan yang nyata

Hasil perhitungan sebagai berikut :

Perlakuan	% kesembuhan luka	Beda dengan			
		Dasar Scaffold	Binasol	EEDTp 1%	EEDTp 2%
Dasar Scaffold	62,60	-	-	-	-
Salep Binasol	100,00	37,40	-	-	-
EEDTp 1%	75,40	12,80	24,60	-	-
EEDTp 2%	87,40	24,80	12,60	12,00	-
EEDTp 3%	93,30	30,70	6,70	17,90	5,90
	$BNT_{0,05} =$	0,659	$BNT_{0,01} =$	0,898	

Kesimpulan :

Terdapat perbedaan yang sangat signifikan pada hari ke-15 dan pada hari ke-16 antara kelompok dasar *scaffold* dengan seluruh kelompok perlakuan lain.

Lampiran 20. Uji analisa varian (ANAVA)

Untuk melihat perbedaan % kesembuhan luka buatan pada kulit tikus pengobatan dengan dasar *scaffold*, salep binasol, EEDTp 1%, EEDTp 2%, dan EEDTp 3% pada hari ke-17.

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	% Kesembuhan luka pada tikus							
	ULANGAN					JLH.	rata-rata	$(T)^2$
	1	2	3	4	5	T		
Dasar Scaffold	73,50	75,00	75,00	73,50	73,50	370,50	74,10	137.270,25
Salap Binasol	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	500,00	100,00	250.000,00
EEDTp 1%	82,00	84,50	87,50	84,50	87,50	426,00	85,20	181.476,00
EEDTp 2%	97,00	98,00	97,50	98,00	93,00	483,50	96,70	233.772,25
EEDTp 3%	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	500,00	100,00	250.000,00
JUMLAH	452,50	457,50	460,00	456,00	454,00	2.280,00	456,00	1.052.518,50

Jumlah $(\text{Total } T)^2 = 5.198.400,00$

Lampiran 20. (lanjutan). Uji analisa varian (ANAVA)

Total (Hasil dari pengulangan)² =

$$\{(73,50)^2 + (75,00)^2 + (75,00)^2 + (73,50)^2 + (73,50)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (82,00)^2 + (84,50)^2 + (87,50)^2 + (84,50)^2 + (87,50)^2 + (97,00)^2 + (98,00)^2 + (97,50)^2 + (98,00)^2 + (98,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2\} = 210.546,00$$

$$\text{Faktor koreksi (FK)} = \frac{(Total T)^2}{\text{jumlah pengulangan (N)}} = \frac{5.198.400,00}{25} = 207.936,00$$

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

$$\text{Jumlah Koreksi Total (JKT)} = 210.546,00000 - 207.936,00 = 2.610,0000$$

$$\text{Jumlah Koreksi Kolom (JKK)} = \frac{Total (T)^2}{Replikasi} - \text{FK} = \frac{1.052.518,50}{5} - 207.936,00 = 2.567,7000$$

$$\text{Jumlah Koreksi Error (JKE)} = \text{JKT} - \text{JKK} = 2.610,0000 - 2.567,7000 = 42,3000$$

Tabel ANAVA : Analisa sidik ragam dengan uji F

SK	JK	db	RK	F ₀	F tabel
					1%
Rata-rata kolom	2.567,70	4	641,93	303,51	4,43
Error	42,30	20	2,11		
Total	2.610,00	24			

Kesimpulan :

Oleh karena $F_0 = 303,51 > F_{1\%}(4,20) = 4,43$, maka terdapat perbedaan % kesembuhan luka dari seluruh yang diuji,

Selanjutnya dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

$$\text{Koreksi Total Galat (KTG)} = 2,11$$

$$V = 20$$

$$r = 5$$

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

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

$$Sd = \frac{\sqrt{2 KTG}}{r} = \frac{\sqrt{2 \times 2,11}}{5} = 0,343$$

$$\text{BNT}_{0,05} = 2,086 \times 0,343 = 0,715$$

$$\text{BNT}_{0,01} = 2,845 \times 0,343 = 0,975$$

Lampiran 20. (lanjutan).

Bila hasil perhitungan lebih besar dari $BNT_{0,01} = 0,975$, disimpulkan terdapat perbedaan yang sangat signifikan.

Bila hasil perhitungan lebih besar dari $BNT_{0,01} = 0,975$ dan lebih kecil dari $BNT_{0,05} = 0,715$ disimpulkan berbeda signifikan.

Bila lebih kecil dari $BNT_{0,05} = 0,715$, disimpulkan tidak berbeda signifikan.

Bila hasil perhitungan lebih besar dari tabel BNT, maka dikatakan ada perbedaan yang nyata

Hasil perhitungan sebagai berikut :

Perlakuan	% kesembuhan luka		Beda dengan			
			Dasar Scaffold	Binasol	EEDTp 1%	EEDTp 2%
Dasar Scaffold	74,10		-	-	-	-
Salap Binasol	100,00		25,90	-	-	-
EEDTp 1%	85,20		11,10	14,80	-	-
EEDTp 2%	96,70		22,60	3,30	11,50	-
EEDSr 3%	100,00		25,90	0,00	14,80	3,30
	$BNT_{0,05} =$	0,715	$BNT_{0,01} =$	0,975		

Kesimpulan :

1. Terdapat perbedaan yang sangat signifikan antara kelompok dasar scafoold, kelompok EEDTp 1% dan kelompok EEDTp 2%.
2. Tidak terdapat perbedaan antara kelompok EEDTp 3% dengan kelompok salep binasol. Maka pada hari ke-17 terlihat daya penyembuhan luka yang sama anantara salep binasol dan EEDTp 3%.

Lampiran 20. Uji analisa varian (ANAVA)

Untuk melihat perbedaan % kesembuhan luka buatan pada kulit tikus pengobatan dengan dasar *scaffold*, salep binasol, EEDTp 1%, EEDTp 2%, dan EEDTp 3% pada hari ke-19.

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	% Kesembuhan luka pada tikus							
	ULANGAN					JLH.	rata-rata	$(T)^2$
	1	2	3	4	5	T		
Dasar Scaffold	83,00	84,50	84,50	83,00	89,50	424,50	84,90	180.200,25
Salap Binasol	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	500,00	100,00	250.000,00
EEDTp 1%	98,50	99,00	98,50	98,50	99,00	493,50	98,70	243.542,25
EEDTp 2%	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	500,00	100,00	250.000,00
EEDSTp 3%	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	500,00	100,00	250.000,00
JUMLAH	481,50	483,50	483,00	481,50	488,50	2.418,00	483,60	1.173.742,50

Jumlah (Total T)² = 5.846.724,00

Lampiran 20. (lanjutan). Uji analisa varian (ANAVA)

Total (Hasil dari pengulangan)² =

$$\begin{aligned} & \{(83,00)^2 + (84,50)^2 + (84,50)^2 + (83,00)^2 + (89,50)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + \\ & (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (98,50)^2 + (99,00)^2 + (89,50)^2 + (98,50)^2 + \\ & (99,90)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 \\ & + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2 + (100,00)^2\} = 234.777,50 \end{aligned}$$

$$\text{Faktor koreksi (FK)} = \frac{(Total T)^2}{\text{jumlah pengulangan (N)}} = \frac{5.846.724,00}{25} = 233.868,96$$

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

$$\text{Jumlah Koreksi Total (JKT)} = 234.777,50000 - 233.868,96 = 908,5400$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Koreksi Kolom (JKK)} &= \frac{Total (T)^2}{Replikasi} - \text{FK} = \frac{1.173.742,50}{5} - 233.868,96 \\ &= 879,5400 \end{aligned}$$

$$\text{Jumlah Koreksi Error (JKE)} = \text{JKT} - \text{JKK} = 908,5400 - 879,5400 = 29,0000$$

Tabel ANAVA : Analisa sidik ragam dengan uji F

SK		JK	db	RK	F ₀	F tabel
						1%
Rata-rata kolom		879,54	4	219,89	151,64	4,43
Error		29,00	20	1,45		
Total		908,54	24			

Kesimpulan :

Oleh karena $F_0 = 151,64 > F_{1\%} (4,20) = 4,43$, maka terdapat perbedaan % kesembuhan luka dari seluruh yang diuji,

Selanjutnya dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

$$\text{Koreksi Total Galat (KTG)} = 1,45$$

$$V = 20$$

$$r = 5$$

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

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

$$Sd = \frac{\sqrt{2 KTG}}{r} = \frac{\sqrt{2 \times 1,45}}{5} = 0,284$$

$$\text{BNT}_{0,05} = 2,086 \times 0,284 = 0,592$$

$$\text{BNT}_{0,01} = 2,845 \times 0,284 = 0,807$$

Lampiran 20. (lanjutan).

Bila hasil perhitungan lebih besar dari $BNT_{0,01} = 0,592$, disimpulkan terdapat perbedaan yang sangat signifikan.

Bila hasil perhitungan lebih besar dari $BNT_{0,01} = 0,592$ dan lebih kecil dari $BNT_{0,05} = 0,807$ disimpulkan berbeda signifikan.

Bila lebih kecil dari $BNT_{0,05} = 0,807$, disimpulkan tidak berbeda signifikan.

Bila hasil perhitungan lebih besar dari tabel BNT, maka dikatakan ada perbedaan yang nyata

Hasil perhitungan sebagai berikut :

Perlakuan	% kesembuhan luka		Beda dengan			
			Dasar Scaffold	Binasol	EEDTp 1%	EEDTp 2%
Dasar Scaffold	84,90		-	-	-	-
Salap Binasol	100,00		15,10	-	-	-
EEDSr 1%	98,70		13,80	1,30	-	-
EEDTp 2%	100,00		15,10	0,00	1,30	-
EEDTp 3%	100,00		15,10	0,00	1,30	0,00
	$BNT_{0,05} =$	0,592	$BNT_{0,01} =$	0,807		

Kesimpulan :

1. Terdapat perbedaan yang sangat signifikan antara kelompok dasar scafoold dan kelompok EEDTp 1%.
2. Tidak terdapat perbedaan antara kelompok EEDTp 2%, EEDTp 3% dengan kelompok salep binasol. Maka pada hari ke-19 terlihat daya penyembuhan luka yang sama anatara salep binasol, EEDTp 2%, dan EEDTp 3%.