

**EFEK PENYEMBUHAN LUKA EKSISI SALEP
SUBFRAKSI ETIL ASETAT DAUN MENIRAN
(*Phyllanthus niruri* L.) TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI PADA TIKUS PUTIH JANTAN**

SKRIPSI



Oleh :

FAUZIAH
NIM : 1904013

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2023**

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka adalah terputusnya kontinuitas jaringan akibat substansi jaringan yang rusak atau hilang sehingga dapat menyebabkan kerusakan fungsi perlindungan kulit dan dapat disertai dengan kerusakan jaringan lain (Wintoko *et al.*, 2020). Luka pada kulit dapat mengakibatkan timbulnya pendarahan, kontaminasi bakteri, respon stres simpatis, bahkan kemungkinan terburuknya yaitu terjadinya kematian sel (Siahaan *et al.*, 2017). Prevalensi salah satu jenis luka adalah luka eksisi, luka eksisi adalah luka yang terjadi di permukaan kulit dan lapisan di bawah akan terputus sampai kedalaman yang bervariasi namun pada tepi luka teratur dan diakibatkan oleh kejadian yang tidak sengaja seperti kecelakaan, trauma, atau terpapar oleh tekanan, panas sengatan matahari, atau bahan kimia dan dapat diatasi dengan cara pelaksanaan luka. (Priyandari & Umatjina, 2015).

Tujuan utama dari pelaksanaan luka adalah untuk mencapai penyembuhan yang cepat dengan fungsi yang optimal. Hasil yang bagus dapat dicapai dengan cara mencegah infeksi dan trauma, dan menyediakan lingkungan yang dapat mengoptimalkan penyembuhan luka tersebut (Priyandari & Umatjina, 2015). Tujuan pengobatan luka adalah untuk mengembalikan fungsi dan bentuk jaringan kulit kembali normal dengan komplikasi lokal seminimal mungkin. Pada saat terjadinya luka, jaringan tersebut akan mengalami proses penyembuhan yang merupakan fenomena yang kompleks dan melibatkan beberapa proses. Proses penyembuhan luka merupakan suatu proses kompleks yang terdiri dari 3 fase yaitu fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase maturasi. Salah satu cara untuk

mengobati luka eksisi ini dapat menggunakan tanaman obat tradisional (Primadina *et al.*, 2019).

Tanaman obat yang biasa dipakai untuk mempercepat penyembuhan luka diantaranya ialah tanaman herbal meniran. Meniran (*P. niruri* L.) adalah tumbuhan Phyllanthaceae yang banyak tumbuh liar pada daerah tropis (Hatur Rahman, 2021). Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tumbuhan meniran (*P. niruri* L.) antara lain zat filantin, hipofilantina, kalium, mineral, damar, dan zat penyamak. Selain itu meniran (*P. niruri* L.) mengandung senyawa golongan minyak atsiri, flavonoid, zat pahit arbutin, glikosida antrakuinon, senyawa golongan fenol, dan tanin. Meniran (*P. niruri* L.) juga mengandung senyawa alkaloid, triterpen, steroid dan garam kalsium (Hidanah, Sabdoningrum, *et al.*, 2018). Kandungan flavonoid pada meniran (*P. niruri* L.) memiliki efektivitas sebagai antibakteri, antivirus dan immunomodulator atau peningkatan fungsi imunitas tubuh (Tambunan *et al.*, 2019).

Pada penelitian sebelumnya yang telah dilakukan (Siahaan *et al.*, 2017) membuktikan pemberian gel ekstrak daun meniran (*P. niruri* L.) konsentrasi 20% dapat meningkatkan epitelisasi jaringan luka pada tikus putih jantan. Ekstrak daun meniran dapat mempercepat penyembuhan luka karena dapat melindungi jaringan kulit dari kerusakan oksidatif akibat radikal bebas.

Berdasarkan penelitian (Dea Aidina, 2018) dan (Bayu Akbar, 2018) uji salep fraksi air, dan fraksi n-heksan daun meniran konsentrasi 5%, 10% dan 20% pada hari ke-5 dan hari ke-10 dapat memberikan pengaruh pada proses penyembuhan luka, dimana fraksi n-heksan konsentrasi 20% memiliki efek atau pengaruh yang

lebih baik dari semua kelompok sediaan uji yang terlihat dari luas penyembuhan luka, waktu epitelisasi dan kadar hidroksiprolin.

Pada penelitian (Gusriyani, 2019) uji salep fraksi etil asetat daun meniran (*P. niruri* L) dengan menggunakan konsentrasi 5%, 10% dan 20% dapat memberikan pengaruh terhadap penyembuhan luka eksisi pada tikus putih jantan yang terlihat pada persentase penyembuhan luka, waktu epitelisasi dan persentase kadar hidroksiprolin, dimana kelompok perlakuan dengan konsentrasi 10% memiliki efek penyembuhan luka yang lebih baik. Sedangkan hasil penelitian (Gea, 2020) pada pengaruh pemberian salep fraksi etil asetat daun meniran (*P. niruri* L.) terhadap gambaran histopatologi luka eksisi tikus putih jantan selama 20 hari, didapatkan hasil bahwa sediaan salep fraksi etil asetat daun meniran dengan konsentrasi 10% lebih efektif dalam proses penyembuhan luka eksisi selama 20 hari.

Pada penelitian (Annisa, 2021) dan (Weli Hastuti, 2021) uji salep subfraksi etil asetat daun meniran (*P. niruri* L.) dengan konsentrasi 5% dan konsentrasi 10% dapat memberikan pengaruh terhadap penyembuhan luka eksisi terhadap tikus putih jantan yang terlihat pada persentase penyembuhan luka, waktu epitelisasi dan histopatologi, dimana kelompok perlakuan dengan konsentrasi 10% memiliki efek penyembuhan luka yang lebih baik dibandingkan dengan konsentrasi 5%. Namun dari kedua konsentrasi tersebut belum memberikan efek yang lebih baik daripada salep pembandingnya yaitu salep T[®].

Maka dari itu penulis tertarik untuk melakukan penelitian ini dengan melakukan pengamatan efek pemberian subfraksi etil asetat daun meniran (*P. niruri* L.) terhadap penyembuhan luka yang dibuat dalam bentuk sediaan salep.

Parameter yang diamati berupa persentase luas penyembuhan luka, waktu epitelisasi, dan histopatologi pada tikus putih jantan.

1.1 Rumusan Masalah

Apakah ada efek pemberian salep subfraksi etil asetat daun meniran (*P. niruri* L.) dengan konsentrasi 5%, 10% dan 15% pada hari ke-5, ke-10 dan ke-15 terhadap persentase luas diameter penyembuhan luka, waktu epitelisasi, dan histopatologi pada tikus putih jantan.

1.2 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui efek pemberian salep sufraksi etil asetat daun meniran (*P. niruri* L.) dengan konsentrasi 5%, 10% dan 15% pada hari ke-5, ke-10 dan ke-15 terhadap persentase luas diameter penyembuhan luka, waktu epitelisasi, dan histopatologi pada tikus putih jantan.

1.3 Manfaat Penelitian

1. Dapat memberikan informasi mengenai pengaruh pemberian subfraksi etil asetat ekstrak daun meniran terhadap proses penyembuhan luka.
2. Dapat menambah pengalaman dan ilmu pengetahuan bagi peneliti sendiri.

BAB II.TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Botani Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)

2.1.1 Klasifikasi

Tanaman Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dapat diklasifikasikan (Aspan, 2010) sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Sub-class	: Rosidae
Ordo	: Euphorbiales
Famili	: Phyllanthaceae
Genus	: Phyllanthus
Species	: <i>Phyllanthus niruri</i> L



Sumber : (Kemenkes, 2017)
Gambar 1. Daun Meniran (*Phyllanthus Niruri* L.)

2.1.2 Nama Daerah

Meniran (*P. niruri* L.) dari famili Phyllanthaceae merupakan tanaman liar yang berasal dari Asia tropik yang tersebar di seluruh daratan Asia termasuk Indonesia. Di beberapa daerah, meniran dikenal dengan Sidukuang anak

(Minang); memeniran, meniran (Jawa); Gosau ma dungi (Maluku); dudukuang anak, baket sikolop (Sumatera) (Arbain *et al*, 2014). Nama umum atau nama dagangnya adalah meniran, sedangkan nama simplisianya adalah *phyllanthi herba* (Diarini, 2014).

2.1.3 Morfologi Meniran

Meniran merupakan semak semusim yang tegak, tinggi 30-100 cm hingga 1 m. Batang hijau, bulat, licin, tak berambut, diameter ± 3 mm. Daun tunggal tapi tersusun seperti daun majemuk, berseling, anak daun 15-24, bulat telur, ujung tumpul, pangkal membulat, panjang $\pm 1,5$ mm, lebar ± 7 mm, tepi rata, hijau. Bunga tunggal, dekat tangkai daun, menggantung, putih, daun kelopak bentuk bintang, benang sari dan putik tidak tampak jelas, mahkota kecil, putih. Buah kotak, bulat, pipih, diameter ± 2 mm, hijau keunguan. Biji kecil, keras, bentuk ginjal, coklat. Akar tunggang, putih kotor (Arbain *et al*, 2014).

2.2 Tinjauan Kimia Tanaman Meniran (*P. niruri*)

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tumbuhan meniran (*P. niruri* L.) antara lain zat filantin, hipofilantina, kalium, mineral, damar, dan zat penyamak. Selain itu meniran (*P. niruri* L.) mengandung senyawa golongan minyak atsiri, flavonoid, zat pahit arbutin, glikosida antrakuinon, senyawa golongan fenol, dan tanin. Meniran (*P. niruri* L.) juga mengandung senyawa alkaloid, triterpen, steroid dan garam kalsium (Hidanah, Sabdoningrum, *et al.*, 2018). Kandungan flavonoid pada meniran diduga memiliki efektivitas sebagai antibakteri, antivirus dan immunomodulator atau peningkatan fungsi imunitas tubuh (Tambunan *et al.*, 2019).

2.3 Tinjauan Farmakologi

Tanaman meniran (*P. niruri L.*) memiliki efek sebagai imunomodulator, antispasmodik, antilitik (untuk batu ureter dan empedu), penghilang rasa nyeri, antihipertensi, antiviral, antibakteri, antimutagenik dan juga efek hipoglikemia (Lestari, 2015).

Tabel 1. Kandungan daun meniran

Kandungan Kimia	EfekTerapi
Cyanidin	Antioksidan, antiinflamasi, photoprotective, antineurodegenerative skin
Flavonoid, alkaloid, lignan, delphinidin	Antioksidan, anti inflamasi, antihistamin
Malvidin	Anti inflamasi dan antikarsinogenik
Kaempferol	Antioksidan, antiinflamasi, antibakteri, antikanker
Flavonol	Antioksidan, antikarsinogenik, antiviral, dan antiplatelet.
Antosianidin	Antioksidan, antiinflamasi, dan antimikroba.
Quercetin	Antivirus, antibakteri, antikanker, antiinflamasi
Saponin, triterpenoid	Antimikroba

2.4 Tinjauan Farmasetik

Meniran (*P. niruri L.*) digunakan masyarakat sebagai bahan baku obat tradisional dan dikembangkan dalam bentuk sediaan farmasi, meniran ini dibuat dalam berbagai sediaan farmasi seperti contoh obat paten dalam bentuk tablet effervescent dengan nama sediaan Promuno[®], dalam bentuk kapsul dan juga sirup dengan nama sediaan Stimuno[®] yang khasiatnya membantu merangsang tubuh memproduksi lebih banyak antibodi dan mengaktifkan sistem kekebalan tubuh

agar daya tahan tubuh bekerja optimal dan membantu sistem imun tubuh agar bekerja lebih aktif sehingga kekebalan tubuh meningkat (Sari, 2013).

2.5 Tinjauan Umum Kulit

Kulit adalah suatu organ yang membungkus seluruh permukaan luar tubuh, merupakan organ terberat dan terbesar dari tubuh. Semua regio kulit berisi tiga lapisan dasar yang sama yaitu lapisan luar (epidermis), lapisan dermis dibawahnya, dan lapisan terdalam yaitu hipodermis (Peckham, 2014).

1. Epidermis

Epidermis merupakan lapisan luar tipis kulit. Epidermis merupakan epitel gepeng berlapis dan berkeratin, yang berisi empat lapis sel (kadang-kadang lima pada area kulit yang tebal). Epidermis tidak memiliki pembuluh darah. Sel-sel pada lapisan yang berbeda berubah tampilannya saat sel-sel bergerak keatas dari stratum basale dan berdiferensiasi.

2. Dermis

Lapisan ini berfungsi untuk proteksi, sensasi dan termoregulasi. Lapisan ini berisi saraf, pembuluh darah, dan fibroblas yang menyekresi matriks ekstraselular, dan serat (kolagen dan elastin). Lapisan ini juga berisi kelenjar keringat (pada bagian tepi dengan hipodermis), yang membuka keluar menuju permukaan kulit.

3. Hipodermis

Hipodermis terletak di bawah bagian dermis, terdapat suatu jaringan ikat longgar yang disebut dengan jaringan hipodermis atau subkutan dan mengandung sel lemak yang bervariasi. Hipodermis ini merupakan lapisan

subkutan yang paling dalam pada struktur kulit. Pada lapisan kulit ini terdapat saraf, pembuluh darah dan limfa.

Kulit secara umum berfungsi sebagai pelindung tubuh bagian dalam dari kerusakan akibat gesekan, trauma, tekanan, tarikan, saat melakukan aktifitas, menjaga dari gangguan mikrobiologi dan melindungi tubuh dari serangan zat-zat kimia dari lingkungan yang polusif. Kulit juga memiliki fungsi absorpsi, eksresi, pengatur suhu tubuh, membentuk vit D, sebagai alat peraba, dan untuk menunjang penampilan (Maharani, 2015).

2.6 Tinjauan Umum Luka

2.6.1 Definisi Luka

Luka adalah terputusnya kontinuitas jaringan akibat adanya substansi jaringan yang rusak atau hilang akibat cedera atau pembedahan (Wintoko *et al.*, 2020). Luka merupakan degradasi integritas jaringan epitel. Luka pada kulit dapat mengakibatkan timbulnya perdarahan, kontaminasi bakteri, respon stress simpatis bahkan kemungkinan terburuknya yaitu kematian sel (Siahaan *et al.*, 2017).

2.6.2 Jenis-Jenis Luka

1. Berdasarkan tingkat kontaminasi (Nasution, 2015):

- a. *Cleand Wounds* (Luka Bersih), yaitu luka bedah tidak terinfeksi, tidak terjadi proses peradangan (inflamasi). Luka bersih biasanya menghasilkan luka yang tertutup. Kemungkinan terjadi infeksi luka sekitar 1-5%.
- b. *Clean-Contaminated Wounds* (Luka Bersih Terkontaminasi), merupakan luka pembedahan dimana saluran respirasi, pencernaan, genital atau

perkemihan dalam kondisi terkontrol, kontaminasi atau tidak selalu terjadi. Kemungkinan timbulnya infeksi luka adalah 3-11%.

c. *Contaminated Wound* (Luka Terkontaminasi, termasuk luka terbuka, fresh, luka akibat kecelakaan dan operasi dengan kerusakan besar dengan teknik aseptik atau kontaminasi dari saluran cerna, pada kategori ini juga termasuk insisi akut, inflamasi non purulen. Kemungkinan infeksi luka 10-17%.

d. *Dirty Infected Wounds* (Luka Kotor atau Infeksi), yaitu terdapatnya mikroorganisme pada luka.

2. Berdasarkan kedalaman dan luasnya luka.

a. Stadium I : Luka *superfisial (Non-Bleaching Erythema)*, yaitu luka yang terjadi pada lapisan epidermis kulit.

b. Stadium II : Luka *Partial Thickness*, yaitu hilangnya lapisan kulit pada lapisan epidermis dan bagian atas dari dermis, adanya tanda klinis seperti lubang yang dangkal.

c. Stadium III : Luka *Full Thickness*, yaitu hilangnya kulit keseluruhan meliputi kerusakan atau nekrosis jaringan subkutan yang dapat meluas sampai bawah. Luka timbul secara klinis sebagai suatu lubang yang dalam dengan atau tanpa merusak jaringan sekitarnya.

d. Stadium IV : Luka *Full Thickness*, yang telah mencapai lapisan otot, tendon dan tulang dengan adanya kerusakan yang luas.

3. Berdasarkan waktu penyembuhan luka.

a. Luka akut yaitu luka yang masa penyembuhan sesuai dengan konsep penyembuhan yang telah disepakati. Kriteria luka akut adalah luka

baru, mendadak dan penyembuhannya sesuai dengan waktu yang diperkirakan. Contoh: luka bakar, luka sayat dan luka tusuk.

- b. Luka kronis yaitu luka yang mengalami kegagalan dalam penyembuhan, dapat terjadi karena faktor endogen dan eksogen. Pada luka kronik gagal sembuh pada waktu yang diperkirakan, tidak berespon baik terhadap terapi dan punya tendensi timbul kembali. Contoh: ulkus dekubitus, ulkus diabetik, ulkus venous dll.

4. Berdasarkan mekanisme terjadinya luka.

- a. Luka Insisi (*Incised Wound*), terjadi karena teriris oleh instrumen yang tajam. Misalnya yang terjadi akibat pembedahan.
- b. Luka Memar (*Contusion Wound*), terjadi akibat benturan oleh suatu tekanan dan dikarakteristikkan oleh cedera pada jaringan lunak.
- c. Luka Lecet (*Abraded Wound*), terjadi akibat bergesekan dengan benda lain yang biasanya dengan benda yang tidak tajam.
- d. Luka Tusuk (*Punctured Wound*), terjadi akibat adanya benda. Seperti peluru atau pisau yang masuk kedalam kulit dengan diameter yang kecil.
- e. Luka Gores (*Locerated Wound*), terjadi karna tergores benda yang tajam. Seperti tergores kaca atau kawat.
- f. Luka Eksisi (*Excised Wound*), luka yang diakibatkan terpotongnya jaringan oleh goresan benda tajam.
- g. Luka Tembus (*Penetrating Wound*), yaitu luka yang menembus organ tubuh biasanya pada bagian awal luka masuk diameternya kecil tetapi pada bagian ujung lukanya akan melebar.

- h. Luka Bakar (*Combustio Wound*).
- i. Luka Gigitan Hewan, disebabkan karena adanya gigitan dari hewan liar atau hewan piaraan. Hewan liar yang biasanya menggigit adalah hewan yang ganas dan memakan daging, yaitu dalam usaha untuk membela diri. Luka gigitan dapat hanya berupa luka tusuk kecil.

2.6.3 Fase Penyembuhan Luka

Mekanisme penyembuhan luka terdiri dari 3 fase (Primadina *et al*, 2019) yaitu: fase inflamasi, fase proliferasi atau fibroplasia, dan fase remodeling atau maturasi. Proses penyembuhan luka tersebut merupakan suatu hal kompleks yang melibatkan interaksi yang terus menerus antara sel dan sel serta antara sel dan matriks.

1. Fase inflamasi

Fase inflamasi terjadi segera setelah terjadinya luka sampai hari kelima. Proses konstriksi dan retriksi pembuluh darah yang putus disertai dengan reaksi hemostasis berupa agregasi trombosit dan jala fibrin yang melakukan pembekuan darah untuk mencegah kehilangan darah.

2. Fase proliferasi

Fase proliferasi merupakan fase regenerasi yang ditandai dengan munculnya pembuluh darah yang baru sebagai hasil rekonstruksi. Fibroblas sangat berperan pada proses perbaikan ini. Fibroblas akan aktif bergerak dari jaringan sekitar luka ke dalam daerah luka dan akan berkembang (proliferasi) dan mengeluarkan beberapa substansi (kolagen, fibronectin, elastin, dan proteoglycans) yang akan berperan dalam membentuk jaringan baru.

3. Fase maturasi

Fase maturasi disebut juga dengan fase remodeling yang merupakan tahap akhir dari penyembuhan luka. Fase ini memerlukan waktu yang lebih lama bergantung pada kedalaman luka. Tujuan dari fase maturasi ini adalah untuk menyempurnakan jaringan yang baru menjadi jaringan yang kuat. Pada fase ini serat fibrin dari kolagen bertambah banyak untuk memperkuat jaringan parut.

2.6.4 Faktor Yang Dapat Mempengaruhi Penyembuhan Luka

Proses penyembuhan luka bukan hanya proses regenerasi yang bersifat local, namun juga dipengaruhi oleh faktor instrinsik dan faktor ekstrinsik (Syamsuhidajat, 2010).

1. Faktor instrinsik adalah faktor yang berasal dari penderita yang dapat berpengaruh dalam proses penyembuhan meliputi usia, nutrisi, dan hidrasi, oksigenasi, dan perfusi jaringan, status imunologi, dan penyakit lainnya.
2. Faktor ekstrensi adalah faktkr yang didapatkan dari luar penderita yang dapat dipengaruhi dalam proses penyembuhan luka meliputi pengobatan, radiasi, stres, psikologis, infeksi, iskemia, dan trauma jaringan.

2.7 Tinjauan Salep

2.7.1 Definisi Salep

Salep adalah sediaan setengah padat yang ditunjukkan untuk pemakaian pada kulit atau selaput lendir, dasar salep yang dapat digunakan adalah dasar salep hidrokarbon dimana dasar salep ini dikenal sebagai dasar salep berlemak antara lain vaselin putih dan salep kuning. Sejumlah kecil komponen berair dapat dicampurkan kedalamnya yang dimaksudkan untuk memperpanjang kontak bahan obat dengan kulit dan bertindak sebagai pembalut penutup. Dasar salep

hidrokarbon digunakan terutama sebagai emolien, dan sukar dicuci, tidak mengering dan tidak tampak berubah dalam waktu lama (Depkes RI, 2014).

2.7.2 Penggolongan Dasar Salep

1. Dasar salep hidrokarbon (FI ed. V, 2014). Dasar salep ini dikenal sebagai dasar salep berlemak antara lain vaselin putih dan salep kuning. Hanya sejumlah kecil komponen berair dapat dicampurkan kedalamnya. Salep ini dimaksudkan untuk memperpanjang kontak bahan obat dengan kulit dan bertindak sebagai pembalut penutup. Dasar salep hidrokarbon digunakan terutama sebagai emolien, dan sukar dicuci. Tidak mengering dan tidak tampak berubah dalam waktu lama.
2. Dasar salep serap. Dasar salep serap ini dibagi dalam 2 kelompok. Kelompok pertama terdiri atas 11 dasar salep yang dapat bercampur dengan air membentuk emulsi air dalam minyak (parafin hidrofilik dan lanolin anhidrat), dan kelompok dua terdiri atas emulsi air dalam minyak yang dapat bercampur dengan sejumlah larutan air tambahan (Lanolin). Dasar salep serap juga bermanfaat sebagai emolien. (FI ed. V, 2014) .
3. Dasar salep yang dapat dicuci dengan air. Dasar salep ini adalah emulsi minyak dalam air antara lain salep hidrofilik dan lebih tepat disebut dengan “krim” (cremores). Dasar ini juga dinyatakan sebagai “dapat dicuci dengan air” karena mudah dicuci dari kulit atau dilap basah, sehingga lebih dapat diterima untuk dasar kosmetik. Beberapa bahan obat dapat menjadi lebih efektif menggunakan dasar salep ini daripada dasar salep hidrokarbon. Keuntungan lain dari dasar salep ini adalah dapat

diencerkan dengan air dan mudah menyerap cairan yang terjadi pada kelainan dermatologik (FI ed. V, 2014).

4. Dasar salep larut dalam air. Kelompok ini disebut juga “dasar salep tak berlemak” dan terdiri dari konstituen larut air. Dasar salep jenis ini memberikan banyak keuntungan seperti dasar salep yang dapat dicuci dengan air dan tidak mengandung bahan tak larut dalam air seperti paraffin dan lanolin anhidrat. Dasar salep ini lebih tepat disebut “gel” (FI ed. V, 2014).

2.7.3 Kualitas Dasar Salep

1. Mudah dipakai, pada umumnya salep tipe emulsi adalah yang paling mudah dipakai dan dihilangkan dari kulit.
2. Stabil, selama masih dipakar mengobati maka salep harus bebas inkompatibilitas, stabil pada suhu kamar dan kelembapan yang ada didalam kamar.
3. Lunak, yaitu semua zat dalam keadaan halus dan seluruh produk menjadi lunak dan homogen.
4. Dasar salep yang cocok yaitu, dasar salep yang halus kompetibel secara fisika dan kimia dengan obat yang dikandungnya.
5. Terdistribusi merata, obat harus terdistribusi merata melalui dasar salep padat atau cair pada pengobatan (Anief, 2003).

2.8 Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan ataupun hewan dengan menggunakan pelarut/ penyari tertentu. Ekstrak adalah sediaan padat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari

simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa di perlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah di tetapkan (Depkes RI, 2014).

2.9 Metode Fraksinasi

Fraksinasi pada prinsipnya adalah proses penarikan senyawa pada suatu ekstrak dengan menggunakan dua macam pelarut yang tidak saling bercampur. Pelarut yang umumnya dipakai untuk fraksinasi adalah n-heksan, etil asetat, dan metanol. Untuk menarik lemak dan senyawa non polar digunakan n-heksan, etil asetat untuk menarik senyawa semi polar, sedangkan metanol untuk menarik senyawa-senyawa polar. Dari proses ini dapat diduga sifat kepolaran dari senyawa yang akan di pisahkan. Sebagaimana diketahui bahwa senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut yang non polar sedangkan senyawa-senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar juga (Depkes RI, 2014).

2.10 Metode Subfraksi

Hasil ekstraksi dan fraksinasi biasanya masih berupa campuran beberapa senyawa yang harus dipisahkan menjadi komponen-komponen yang lebih sederhana dan tunggal. Umumnya untuk pemisahan senyawa dapat dilakukan dengan teknik kromatografi. Kromatografi adalah suatu teknik analisis yang banyak diterapkan untuk memisahkan komponen-komponen dalam campuran. Semua metoda kromatografi didasarkan atas komponen diantara dua fasa yang tidak bercampur yaitu fasa diam dan fasa bergerak. Mekanisme terdistribusinya komponen-komponen yang ada pada kedua fasa itu dapat disebabkan oleh

peristiwa absorpsi, partisi, reaksi penukar ion dan difusi dari komponen ke dalam pori-pori fasa diam sehingga terjadi pemisahan (Harbrone, 1987).

2.11 Kromatografi lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yaitu kromatografi yang menggunakan lempeng gelas atau aluminium yang dilapisi dengan lapisan tipis alumina, silica gel, atau bahan serbuk lainnya. Sampel yang berupa campuran senyawa organik yang ditetaskan pada salah satu sisi lempeng dengan pipet kapiler. Noda yang telah ditetesi dengan senyawa organik dielusi dengan eluen yang sesuai. Pelarut bergerak keatas sepanjang lapis tipis zat padat dan bersamaan dengan noda senyawa yang dielusi (Poole *et al.*, 1991).

Metode KLT menggunakan nilai Retardation factor (Rf) yang memiliki persamaan seperti dibawah ini :

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh zat yang diteliti}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

BAB III. METODA PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan $\pm$ 5 bulan (Juni – Desember 2022) di Laboratorium Penelitian Farmakologi Universitas Perintis Indonesia (UPERTIS) dan Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas (UNAND) Padang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah kandang tikus, pencukur bulu, gunting bedah, tabung reaksi dan rak, pipet tetes, *rotary evaporator*, timbangan digital, timbangan hewan, stik pH, sarung tangan, masker, pinset, Erlenmeyer, gelas ukur, cawan penguap, batang pengaduk, kaca arloji, lumping, stamper, penggaris, vial, lemari pendingin, botol maserasi, spatel, montir dan stamper, kurs porselen, *beaker glass*, kertas saring, kaca objek, dan kertas pH.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah makanan dan minuman tikus, daun meniran (*Pyllanthus niruri* L.), etanol 70%, aquadest, eter, CuSO_4 0,01 M (p.a), NaOH 2,5 N (p.a), H_2O_2 6% (p.a), H_2SO_4 3 N (p.a), serbuk Mg, HCl (p.a), norit, n-heksan (p.a), etil asetat (p.a), silica gel, plat KLT, vaselin flavum, salep T[®], kertas saring, formalin 10%, dan heamatoxylin eosin.

3.3 Hewan Percobaan

Dalam penelitian ini digunakan tikus putih jantan berumur 2-3 bulan dengan berat badan antara $\pm$ 150-200 gram memiliki galur wistar sebagai hewan percobaan sebanyak 70 ekor. Tikus diaklimatisasi selama 7 hari. Hewan

dinyatakan sehat bila tidak menunjukkan perubahan berat badan lebih dari 10% dan tidak menunjukkan gejala penyakit.

3.4 Metode Penelitian

3.4.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah daun meniran kering (*P. niruri* L.) yang diambil di kecamatan Padang Ganting, Kabupaten Tanah Datar, Sumatera Barat.

3.4.2 Identifikasi Sampel

Identifikasi sampel dilakukan di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Andalas Padang.

3.4.3 Pembuatan Subfraksi Etil Asetat Herba Meniran

Sampel sebanyak 5100 gram yang telah kering dihaluskan hingga membentuk serbuk. Serbuk simplisia dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Maserat yang didapat diuapkan sehingga didapatkan ekstrak kental, kemudian difraksi menggunakan etil asetat (1:2), hasil fraksi diuapkan sehingga didapatlah fraksi kental etil asetat.

Setelah itu dilakukan pemisahan menggunakan kromatografi kolom untuk didapatkan subfraksi kental etil asetat daun meniran. Silica gel sebagai fase diam, sedangkan fase gerak yang digunakan adalah heksan dan etil asetat dengan perbandingan (2:1). Hasil kromatografi kolom yang didapat ditampung dalam vial 10 ml sebanyak 50 vial dan dikelompokkan berdasarkan pemantauan pola bercak noda dan nilai *R_f* (*Retention Factor*), pemantauan dilakukan menggunakan plat KLT yang dielusi menggunakan fase gerak N-heksan : etil asetat (4:1). Hasil KLT yang memiliki nilai *R_f* yang sama digabungkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan subfraksi kental etil asetat daun meniran.

3.4.4 Evaluasi Subfraksi Etil Asetat

1. Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan dilakukan dengan cara visual yaitu dengan mengamati bentuk, warna dan bau (Depkes, 1995).

2. Penentuan Rendemen Subfraksi

Rendemen subfraksi dihitung dengan cara persamaan:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat serbuk subfraksi}}{\text{Bobot fraksi kental}} \times 100 \%$$

3. Pemeriksaan Susut Pengeringan

Keringkan krus porselen dan tutupnya di dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit dan biarkan dingin, lalu timbang beratnya. Masukkan subfraksi ke dalam krus tersebut hingga beratnya 1 gram diluar berat krus dengan penutup yang telah diketahui sebelumnya. Dengan perlahan goyang krus agar ekstrak merata dan masukkan kembali ke dalam oven, buka tutupnya dan biarkan tutup tetap berada di dalam oven. Krus yang berisi subfraksi dipanaskan dalam oven dengan suhu 105°C sampai berat konstan. Setelah itu krus dikeluarkan dan didinginkan dalam desikator, lalu ditimbang. Lakukan pengulangan seperti cara di atas hingga diperoleh berat yang konstan (Depkes, 1995).

Hitung susut pengeringan dengan rumus :

$$\% \text{ Susut pengeringan} = \frac{(B-A)-(C-A)}{(B-A)} \times 100 \%$$

Keterangan :

A = Berat Krus Kosong

B = Berat Krus + Subfraksinasi Etil Asetat Sebelum Pengeringan

C = Berat Krus + Subfraksinasi Etil Asetat setelah Pengeringan

4. Pemeriksaan Pendahuluan Kandungan Kimia

Subfraksi etil asetat dari daun Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 ml aquadest dan 5 ml kloroform asetat, dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan (Harborne, 1987).

a. Uji Flavonoid (Metode “Sianidin Test”)

Ambil lapisan air 1 – 2 tetes, teteskan pada plat tetes lalu tambahkan serbuk Mg dan HCl (p), terbentuknya warna merah menandakan adanya flavonoid.

b. Uji Saponin

Ambil lapisan air, kocok kuat – kuat dalam tabung reaksi, terbentuknya busa yang permanen ($\pm$ 15 menit) menunjukkan adanya saponin.

c. Uji Terpenoid dan Steroid (Metode “Simes”)

Untuk pemeriksaan terpenoid dan steroid, pada lapisan kloroform, disaring dengan norit, filtrate dibiarkan kering pada plat tetes dan ditambahkan asam asetat anhidrat dan H₂SO₄ pekat. Adanya terpenoid dengan memberikan warna merah, sedangkan adanya steroid memberikan warna biru-hijau.

d. Uji Alkaloid (Metode “Culvenore – Fristgerald”)

Ambil sedikit lapisan kloroform tambahkan 10 ml kloroform amoniak 0,05 N, aduk perlahan tambahkan 2-3 tetes H₂SO₄ 2N kemudian dikocok perlahan, biarkan memisah. Lapisan asam ditambahkan 2 tetes

pereaksi mayer, reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih.

e. Uji Fenolik

Lapisan air diambil 1-2 tetes dan diteteskan pada plat tetes, lalu ditambahkan pereaksi FeCl_3 , terbentuknya warna biru menandakan adanya senyawa fenolik dalam sampel.

3.4.5 Pembuatan Salep Subfraksi Daun Meniran

Sediaan salep yang akan dibuat dalam penelitian ini memiliki konsentrasi subfraksi etil asetat meniran konsentrasi 5%, 10% dan 15%, sediaan yang akan dibuat sebanyak 30 g.

Tabel 2. Formula Salep Subfraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Meniran

Nama Bahan	F1	F2	F2
Subfraksi Etil Asetat Daun Meniran	1,5 g	3 g	4,5 g
Vaselin Flavum ad 30g	28,5 g	27 g	25,5 g

Keterangan :

F1 = salep subfraksi etil asetat daun meniran 5%

F2 = salep subfraksi etil asetat daun meniran 10%

F3 = salep subfraksi etil asetat daun meniran 15%

Masukkan subfraksi etil asetat daun meniran ke dalam lumpang kemudian timbang dasar salep masukkan ke dalam lumpang kemudian digerus hingga homogen. Keluarkan dari lumpang, masukkan ke dalam wadah yang disiapkan.

3.4.6 Evaluasi Salep Subfraksi Daun Meniran

1. Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan dilakukan dengan cara visual yaitu dengan mengamati bentuk, warna dan bau (Depkes RI, 1995).

2. Pemeriksaan Homogenitas

Pemeriksaan dilakukan dengan cara: 0,1 gram masa sediaan dioleskan pada kaca objek, diratakan dengan kaca objek lain dengan kemiringan 45^0 , ditarik dengan cepat dengan tekanan yang sama. Susunannya diamati dibawah mikroskop tidak terlihat butir-butir kasar (Depkes RI, 1995).

3. Pemeriksaan pH Salep

Pengukuran nilai pH menggunakan alat bantu stik pH universal yang dicelupkan ke dalam 0,5 g salep yang telah diencerkan dengan 5 ml aquadest. Nilai pH salep yang baik adalah 4,5-6,5 atau sesuai dengan nilai pH kulit manusia (Depkes RI, 1995).

3.4.7 Penyiapan Hewan Percobaan

Pengujian pengaruh pemberian subfraksi etil asetat pada meniran terhadap penyembuhan luka dilakukan dengan menggunakan hewan percobaan tikus putih jantan dengan bobot 150-200 gram sebanyak 70 ekor dibagi menjadi 5 kelompok besar, masing-masing kelompok terdiri dari 14 ekor. Pemeriksaan dilakukan pada hari ke-5, ke-10 dan ke-15 setelah tikus diberi luka eksisi. Sebelum tikus diberi perlakuan terlebih dahulu diaklimatisasi selama 7 hari. Hewan dinyatakan sehat dimana selama aklimatisasi tidak menunjukkan penyimpangan berat badan lebih dari 10% dan secara visual tidak terdapat gejala penyakit.

3.4.8 Pembuatan Luka

Sehari sebelum pembuatan luka, hewan percobaan dicukur bulunya pada bagian punggung yang akan dibuat sayatan kemudian dibersihkan dengan menggunakan kapas yang diberi alkohol 70%, dan dilakukan anastesi pada tikus dengan menggunakan eter. Selanjutnya dibuat luka yang berbentuk lingkaran dengan diameter ± 2 cm dengan kedalaman ± 1 mm dengan cara mengangkat kulit tikus pada bagian punggung dengan pinset lalu dilukai dengan gunting bedah (Cahaya *et al*, 2017).

Pada penelitian ini, tikus dibagi menjadi tiga kelompok dimana masing-masing tikus diberi perlakuan sesuai dengan kelompoknya. Pembagian kelompok tersebut yaitu :

1. Kelompok I (kontrol) merupakan kelompok tikus yang akan diberi luka tanpa diberikan pengobatan dan hanya dioleskan basis salep pada luka dan diperiksa persentase luas penyembuhan luka, waktu epitelisasi, dan histopatologi pada tikus putih jantan di hari ke-5, 10, dan 15
2. Kelompok II (pembanding) merupakan kelompok tikus yang akan dioleskan sediaan salep yang beredar yaitu T[®] pada luka dan diperiksa persentase luas penyembuhan luka, waktu epitelisasi, dan histopatologi pada tikus putih jantan di hari ke-5, 10, dan 15
3. Kelompok III (perlakuan) merupakan kelompok tikus yang dioleskan salep subfraksi dengan konsentrasi 5% pada luka dan diperiksa persentase luas penyembuhan luka, waktu epitelisasi, dan histopatologi pada tikus putih jantan di hari ke-5, 10, dan 15

4. Kelompok IV (perlakuan) merupakan kelompok tikus yang dioleskan salep subfraksi dengan konsentrasi 10% pada luka dan diperiksa persentase luas penyembuhan luka, waktu epitelisasi, dan histopatologi pada tikus putih jantan di hari ke-5, 10, dan 15
5. Kelompok IV (perlakuan) merupakan kelompok tikus yang dioleskan salep subfraksi dengan konsentrasi 15% pada luka dan diperiksa persentase luas penyembuhan luka, waktu epitelisasi, dan histopatologi pada tikus putih jantan di hari ke-5, 10, dan 15

3.4.9 Pengujian Aktivitas Penyembuhan Luka

1. Sediaan salep dioleskan pada bagian punggung tikus sebanyak 2 kali pengolesan/hari.
2. Sediaan salep diberikan pada masing-masing kelompok sesuai dengan pengelompokkannya.
3. Lalu dilakukan pengamatan parameter penyembuhan luka (Cahaya *et al*, 2017).

3.5 Parameter Penyembuhan Luka

3.5.1 Persentase Penyembuhan Luka

Persentase luas penyembuhan luka dengan menghitung luas luka pada hari pertama setelah dilukai dan pada hari ke- 15 pada masing-masing kelompok.

Dicari persentase penyembuhan lukanya dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Luas Penyembuhan Luka} = \frac{\text{Luas luka awal} - \text{Luas luka akhir}}{\text{Luas luka awal}} \times 100\%$$

3.5.2 Waktu Epitelisasi.

Waktu yang diperlukan untuk terbentuknya epitel baru yang sempurna menutupi daerah luka. Dalam hal ini dicatat hari pengelupasan jaringan keropeng dari luka tanpa meninggalkan sisa luka di area eksisi.

3.5.3 Histopatologi

Dilakukan pengamatan terhadap sel inflamasi netrofil, makrofag dan limfosit. Yang terdiri dari 5 kelompok besar tikus dari tiap kelompok di ambil 3 tikus yaitu tikus yang penyembuhannya yang paling bagus yang di lakukan pada hari ke-5, hari ke-10 dan hari ke-15

1. Prosesing jaringan (Bancroft, 2001)

Pemotongan Jaringan basah, jaringan dipotong dengan ketebalan ± 4 mm, dan dimasukkan kedalam kaset jaringan, kemudian difiksasi dengan menggunakan formalin 10% buffer fosfat pada pH normal (7), dehidrasi dalam bertingkat masing-masing 30 menit dalam larutan ethanol 70%, 95% dan 100%, clearing dalam larutan Xylene I, dan Xylene II masing-masing 30 menit, lalu diimpregnasi dalam parafin cair (paraplast) I, dan II, pada suhu 54°C selama masing masing 1 jam, blocking jaringan dengan parafin cair dalam tissue mold, kemudian didinginkan pada suhu ruang, selanjutnya pemotongan block dengan rotary mikrotom dengan ketebalan $\pm 4\mu\text{m}$, kemudian di tempelkan pada kaca objek.

2. Pewarnaan hematoksilin-eosin (Bancroft, 2001)

Panaskan slide di oven 65°C selama 30 menit, rendam slide dalam Xylene I, dan II (masing-masing 1-3 menit), rehidrasi dengan merendam slide pada larutan alkohol bertingkat dari konsentrasi tinggi ke rendah, EtOH

(ethanol alkohol) 100% (2-3 menit), EtOH (ethanol alkohol) 96% (2-3 menit), EtOH(ethanol alkohol) 70% (2-3 menit), aquadest 3 menit, hematoxylin, 5-10 menit , bilas aquadest 5-10 menit, rendam Eosin Y ; 3 menit, bilas dalam Alkohol 70% 3 menit, dehidrasi dengan merendam slide pada larutan alkohol bertingkat dari konsentrasi rendah ke tinggi, EtOH(ethanol alkohol) 96% (menit), absolut 100% ethanol, (3 menit), clearing dalam; Xylene, 3 menit, Mounting dengan entelan dan tutup sediaan dengan *cover slip*.

3. Pengamatan penilaian hitung sel inflamasi dan pemeriksaan jumlah fibroblast secara histologi

Pemeriksaan histopatologi pada sel radang dengan mengamati adanya Neutrophil, Magrofag dan Limosit serta pemeriksaan jumlah fibroblas secara mikroskopis pada pembesaran 400x pada lima lapang pandang.

4. Cara penilaian mikroskopis sel inflamasi pemeriksaan jumlah fibroblast secara histologi

Sel inflamasi dan jumlah fibroblas dihitung pada perbesaran 400x pada lima lapang pandang berbeda, dihitung rata-rata, dan dilaporkan dalam nilai rata-rata jumlah sel perlapang pandang.

3.6 Analisis Data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini yaitu analisis varian (ANOVA). ANOVA ini digunakan karena data yang diperoleh bersifat objektif, kategorik, dan numeric. Pada penelitian ini data dari parameter penyembuhan luka yaitu hasil persentase luas penyembuhan luka dan histopatologi digunakan analisa statistic dengan pengujian *two-way* ANOVA. Namun, jika data tidak berdistribusi normal maka dilakukan uji alternatif lain yaitu uji Friedman. Parameter

selanjutnya yaitu waktu epitelisasi digunakan analisa statistic menggunakan *one-way* ANOVA. Namun jika data tidak berdistribusi normal maka dilakukan uji alternatif yaitu uji Kruskal Wallis.

Daftar Pustaka

- Aidina, Dea. (2019). Pengaruh Pemberian Salep Fraksi N-Air Daun Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) Terhadap Proses Penyembuhan Luka Eksisi Pada Tikus Putih Jantan. *Skripsi*. STIFI: Padang.
- Akbar, Bayu, Sanubari Rella Tobat, Noni Rahayu Putri. (2019). Pengaruh Pemberian Salep Fraksi N-Heksan Daun Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) Terhadap Proses Penyembuhan Luka Eksisi Pada Tikus Putih Jantan. *Skripsi*. STIFI: Padang.
- Anief, M. (2003). *Farmasetika*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Annisa. (2021). Efek Penyembuhan Luka Eksisi Salep Subfraksi Etil Asetat Daun Meniran (*Phyllanthus Niruri* L.) Konsentrasi 5% Terhadap Tikus Putih Jantan. *Skripsi*. STIFI: Padang.
- Arbain, D., Amri Bakhtiar, Deddi Prima Putra dan Nurainas. (2014). *Tumbuhan Obat Sumatera*. Kampus Unand Limau Manis Padang: UPT Sumber Daya Hayati Sumatera Universitas Andalas.
- Aspan, R. (2010). Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Bancroft, John D. (2001). *Theory And Practice Of Hystological Techniques*. Churcill Living Stone. New York.
- Cahaya., Herson, H., Pramonoa., Dwi, A. (2017). Uji Farmakologis Ekstrak Kental Daun Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) Untuk Membantu Penyembuhan Luka Sayat Pada Tikus Putih Jantan. *Jurnal Farmamedika.*, 2(1), 25-31
- Courtney, A. (2012). *Formularies. Pocket Handbook Of Nonhuman Primate Clinical Medicine*, 213-218. <https://doi.org/10.1210/b12934-13>
- Depkes RI. (1995). *Farmakope Indonesia IV*. Jakarta: Depkes RI.
- Depkes RI. (2014). *Farmakope Indonesia V*. Jakarta: Depkes RI.
- Depkes RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi 2*. Jakarta: Depkes RI.
- Diarini, N.N., (2014). Aktivitas Immunostimulan Kombinasi Ekstrak Etanolik Umbi Keladi Tikus (*Typhonium flagelliforme*(Lodd.) Blume), Herba Meniran (*Phyllanthus niruri*L.), dan Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz. & Pav.) Terhadap Proliferasi Limfosit pada Mencit Bal b/c yang Diinduksi Vaksin Hepatitis B. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Gea, Rut Trinithatis. 2020. Pengaruh Pemberian Salep Fraksi Etil Asetat Daun Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) Terhadap Gambaran Histopatologi Luka

Eksisi Tikus Putih Jantan Selama 20 Hari. Skripsi, Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia. Padang.

Harborne, J., (1987). *Metoda Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: ITB.

Hastuti, Weli. (2021). Pengaruh Pemberian Salep Subfraksi Etil Asetat Daun Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) Konsentrasi 10% Terhadap Penyembuhan Luka Eksisi Pada Tikus Putih Jantan. STIFI: Padang.

Hidanah, S., Sabdoningrum, E. K., Wahjuni, R. S., Dewi, A. R., & Safitri, E. (2018). Effectiveness of meniran (*Phyllanthus niruri* L.) As Antibacterial For Resistance Antibiotics Prevention of Exterotoxin Escheria Coli. Indonesian journal of Tropical and Infectious Disease, 7(2), 35. <https://doi.org/10.20473/ijtid.v7i2.7328>

Kemenkes RI. (2017). *Formularium Ramuan Obat Tradisional Indonesia*. Jakarta : Kementrian Kesehatan RI.

Kusmiati., Rachmawati, F., Siregar, S., Nuswantara, S., Malik, A. (2006). Produksi Beta 1-3 Glukan dari Agrobakterium dan Aktifitas Penyembuhan Luka Terbuka Pada tikus Putih. Makara Sains. 1(10): 24-29.

Lestari, I. A. S., (2015). *Pemeriksaan Makroskopis dan Mikroskopis Tanaman Meniran (Phyllanthus niruri L.)*. Medan: Universitas Sari Mutiara Indonesia.

Maharani A. (2015). Penyakit Kulit, Perawatan, Pencegahan dan Pengobatan. Pustaka Baru Press. Yogyakarta

Maryani, Siswati, Yanthy S, Liana T, Elizabeth LW, Elly H, Ninis S, I. A. S., (2013). Ilmu Resep Kelas X. Jakarta: Pilar Media.

Meniran: *Phyllanthus niruri* L., Acuan Sediaan Herba Volume Kelima, Jakarta: Badan Pengawasan Obat dan Makanan, (2010); p54-8

Nasution N. (2015). *Uji aktivitas ekstrak etanol umbi talas jepang (Colacasia esculenta (L.) Schoot var. antiquorum) terhadap Penyembuhan Luka terbuka pada Tikus Putih (rottus novergicus) Jantan Galur Sprague Dawley*. UIN: Syarif Hidayatullah

Nasution A. I. (2016). *Buku Ajar Biomolekuler Untuk Kedokteran Dasar*. Syiah Kuala Universitas Press. Banda Aceh.

Peckham, M., (2014). *Histology at a glance.*, Erlangga. Jakarta

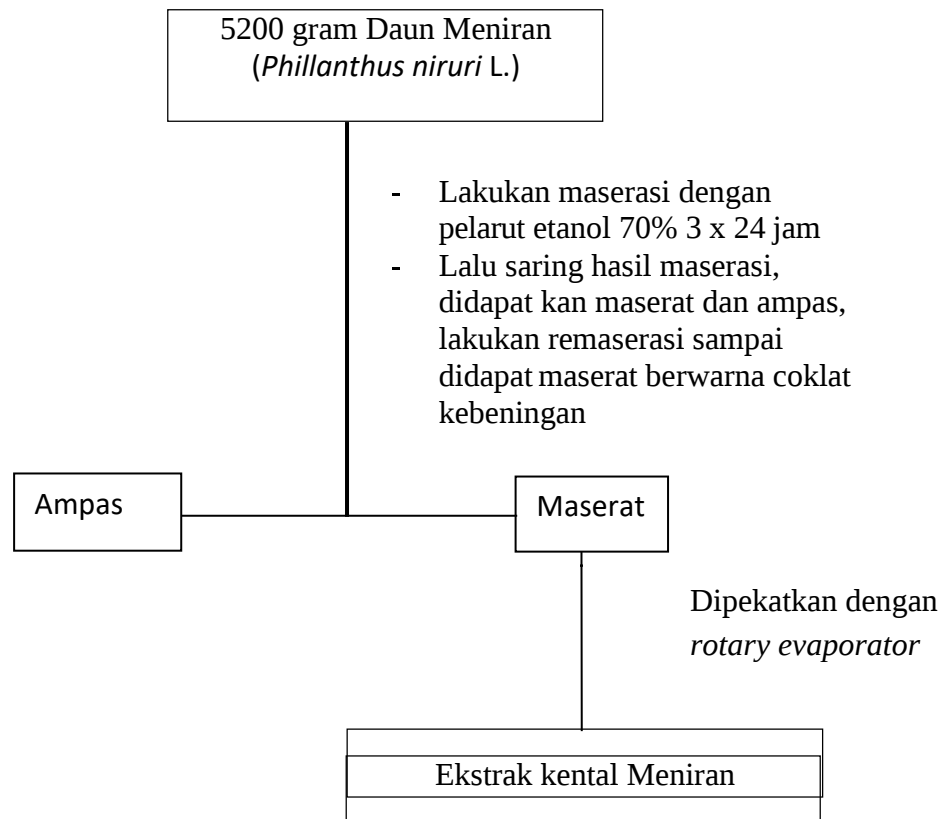
Poole, C., & Salwa, K. (1991). *Chromatography Today*. Amsterdam: Elsevier Scien62ce Publisher.

Primadina, N., Basori, A., & Perdanakusuma, D. S. (2019). Proses Penyembuhan Luka Ditinjau dari Aspek Mekanisme Seluler dan Molekuler. Qanun

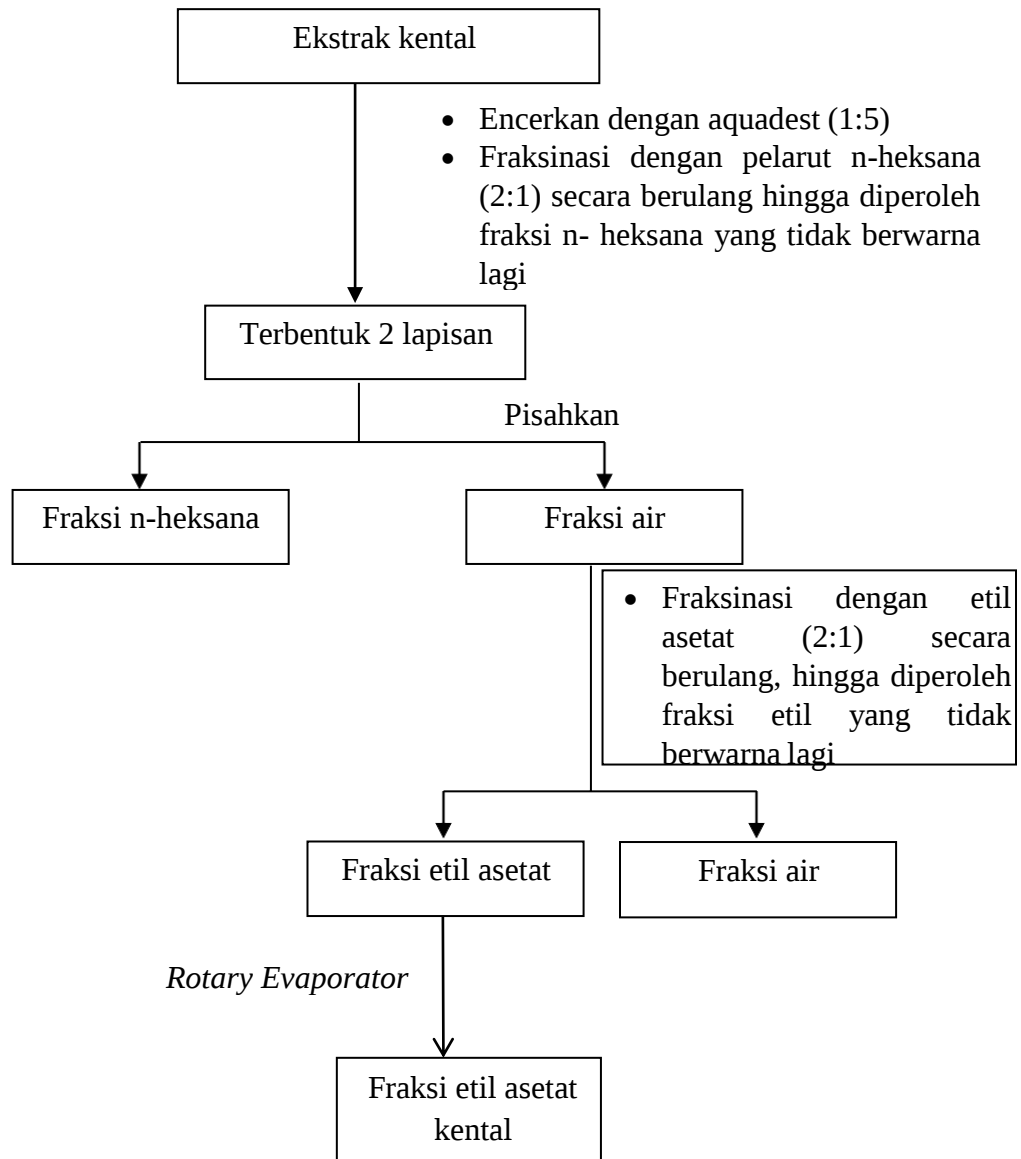
Medika-Medical Journal Faculty of Medicine Muhammadiyah Surabaya, 3(1), 31. <https://doi.org/10.30651/jqm.v3i1.2198>

- Priyandari, Y., Arfina, S., Umatjina, T.M., 2015, Getah Pohon Jarak (*Jatropha Curcas*) Topical Mempercepat Lama Penyembuhan Luka Eksisi Mencit, *Journals of Ners Community*, 6(2), 198-206.
- Rismana, E., Rosidah, I., Prasetyawan, Y., Bunga, O., & Erna, Y. (2013). *Efektivitas Khasiat Pengobatan Luka Bakar Sediaan Gel Mengandung Fraksi Ekstrak Pegagan Berdasarkan Analisis Hisroksiprolin dan Histopatologi Pada Kulit Kelinci*. *Jurnal Buletin Kesehatan*. 41(1): 45–60
- Sari, W. N. (2013). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) Terhadap Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Makrofag Peritoneal Mencit Putih Jantan. *Skripsi*. Padang: Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
- Siahaan, M. S. Y., Pangkahila, W., & Aman, I. G. M. (2017). Gel Ekstrak Daun Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) Meningkatkan Epitelisasi Penyembuhan Luka Pada Kulit Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Biomedik (Jbm)*, 9(1), 14–18. <https://doi.org/10.35790/jbm.9.1.2017.15314>
- Shila, G and Natasa, SB. (2008). Wound Healing Properties of Carica Pepaya Laetex: In Vivo Evalution in Mice Burn Model. *Journal of Ethnopharmacology* 121. 338-341
- Sjamsuhidajat, de jong, W, de.2010. Buku Ajar Bedah (Edisi 3).Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Tambunan, R. M., Swandiny, G. F., & Zaidan, S. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol 70% Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) Terstandar. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 12(2), 60-64.
- Wintoko, R., Dwi, A., & Yadika, N. (2020). Manajemen Terkini Perawatan Luka Update Wound Care Management. *JK Unila*, 4, 183-189.

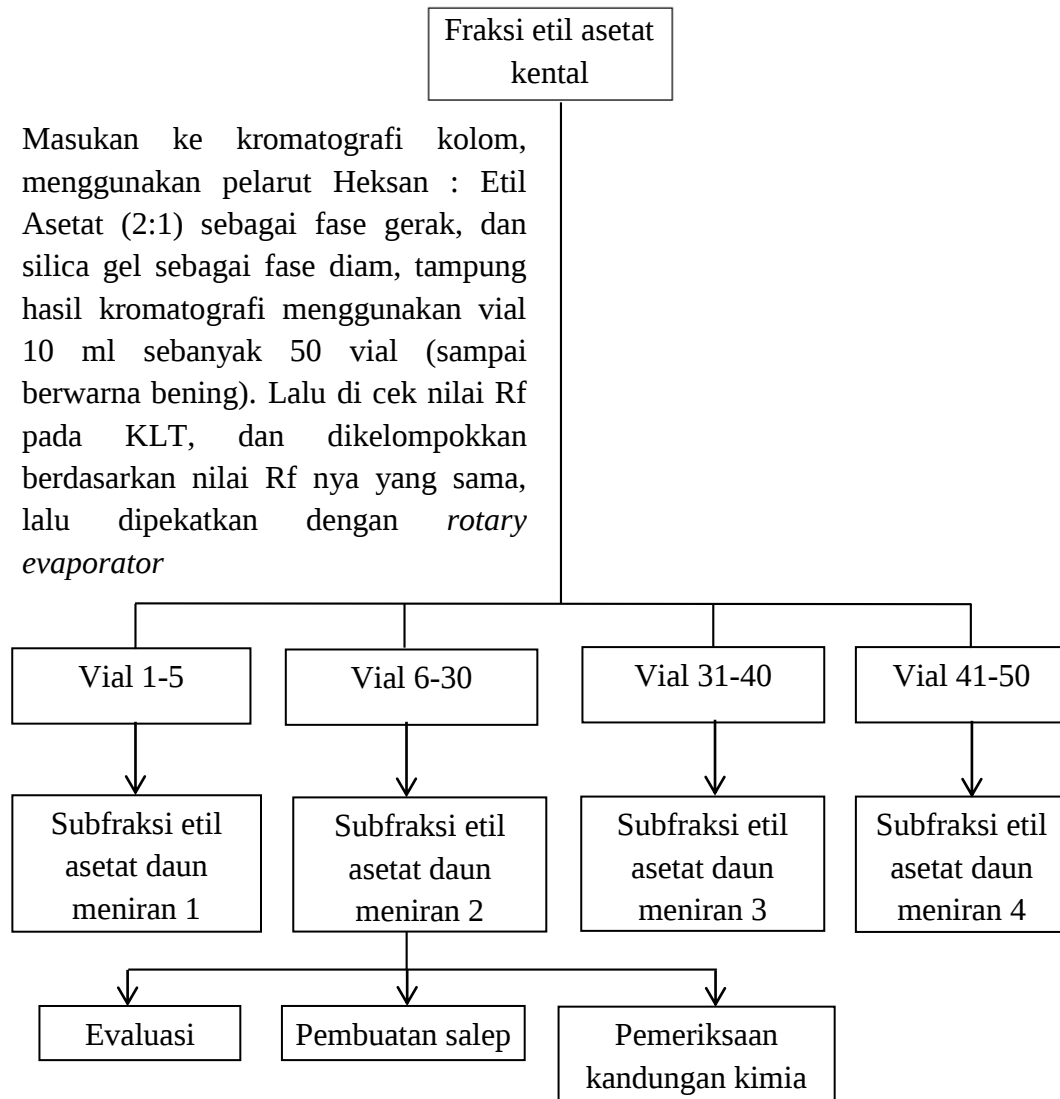
Lampiran 1. Skema Kerja Pembuatan Ekstrak Daun Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)



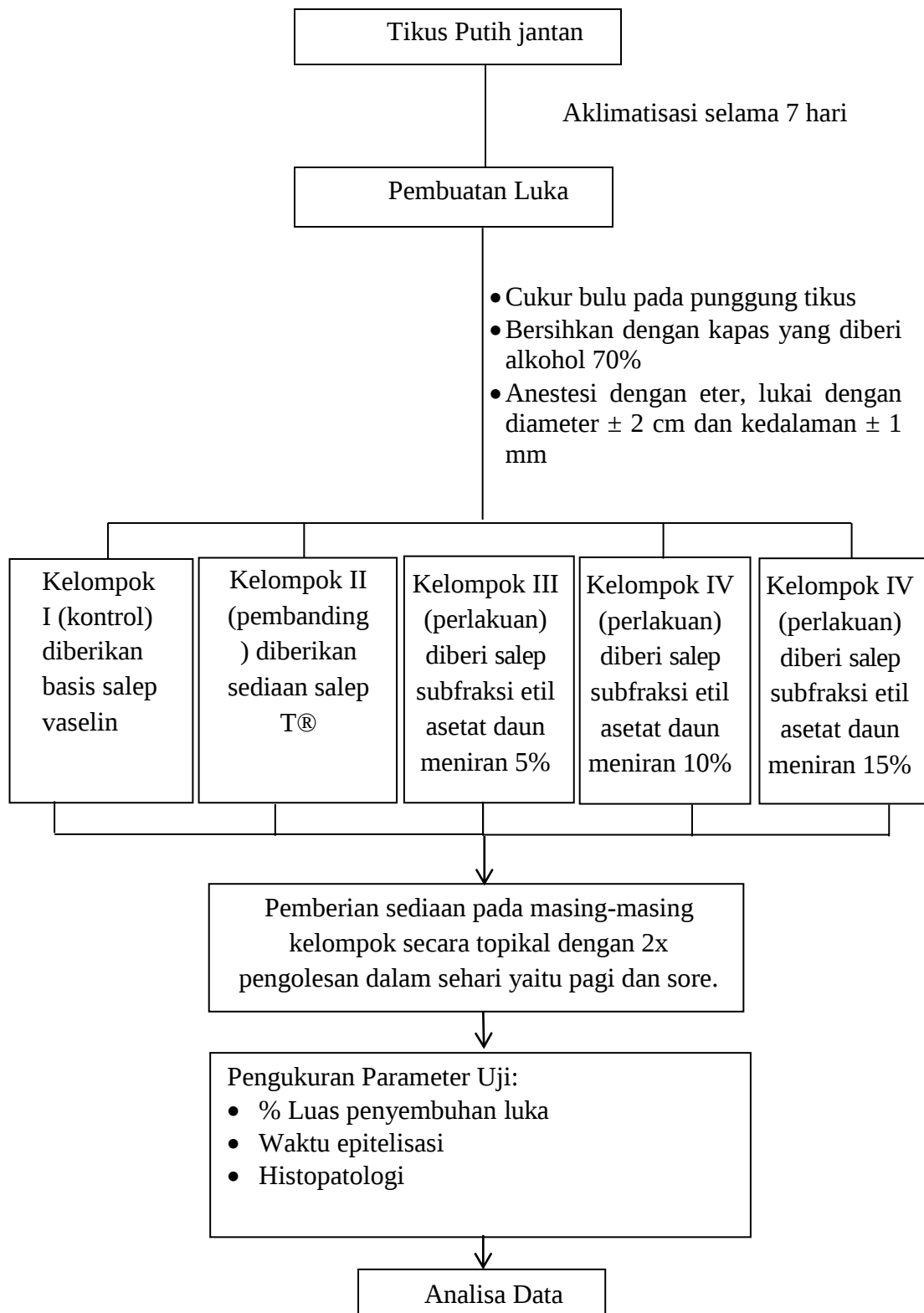
Lampiran 2 : Skema Kerja Pembuatan Subfraksi Etil Asetat Daun Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)



Lampiran 2 (lanjutan)



Lampiran 3 : Skema Kerja Perlakuan Terhadap Hewan Coba



Lampiran 4. Skema Kerja Pembuatan Sediaan Histopatologi

