

**UJI EFEKTIVITAS SALEP FRAKSI N-BUTANOL
DAUN SIRIH HUTAN (*Piper aduncum* L.)
KONSENTRASI 15% TERHADAP PENYEMBUHAN
LUKA BAKAR PADA MENCIT PUTIH JANTAN**

DRAF SKRIPSI



Oleh:

EWIT OKTI ERLINA
NIM : 1904043

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

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka bakar adalah kondisi yang terjadi ketika kulit tubuh atau jaringan dalam terpapar panas sedang hingga tinggi. Kondisi luka bakar ini adalah masalah medis yang bisa tergolong ringan hingga mengancam nyawa (Rokhmah *et al.*, 2021). Luka bakar dibedakan menjadi 3 kelompok berdasarkan tingkat keparahan, kedalaman, luas dan letak luka. Kedalaman luka ini disebut dengan derajat luka, 3 kelompok luka bakar tersebut yaitu luka bakar derajat I, derajat II, dan derajat III (Ja *et al.*, 2020).

Luka bakar merupakan kecelakaan yang sering terjadi dalam kehidupan sehari-hari dan paling sering terjadi di kalangan menengah ke bawah. Kejadian luka bakar di kota Padang rentang tahun 2016-2017 di RSUP Dr. M. Djamil Padang sebesar 49,58% (Rahmad, 2019). Pada tahun 2020 kejadian luka bakar di RSUP Dr. M. Djamil Padang sekitar 75,7 % (Muslim *et al.*, 2021). Di Indonesia sendiri angka kejadian luka bakar meningkat dari tahun 2007 ke 2013, yaitu 7,5% ke 8,2% (Putra *et al.*, 2022). Dimana terjadi peningkatan sebesar 255 kasus luka bakar di kota Padang

Terapi luka bakar bisa menggunakan antiseptik. Namun antiseptik dapat menimbulkan efek samping, dimana antiseptik dapat menyebabkan iritasi, perubahan warna kulit, dan meninggalkan bekas luka pada pasien yang sensitif. Pada umumnya antiseptik mengandung triloksan dan alkohol ketika digunakan terus menerus dapat mengiritasi kulit hingga menimbulkan rasa terbakar pada kulit. Maka penggunaan bahan alami dapat menggantikan obat-obatan berbahan sintesis (Sumoza & Rahayu, 2014).

Berdasarkan hal tersebut perlu dicari alternatif lain untuk pengobatan luka bakar, salah satunya dengan memanfaatkan senyawa alami yang terdapat pada tumbuhan. Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah tanaman daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.). Daun sirih hutan dikenal oleh masyarakat mempunyai khasiat dalam penyembuhan luka, menghentikan muntah, mengurangi mual, melancarkan pencernaan, sebagai antiseptik, membunuh bakteri dan jamur serta virus (Gholib. D., 2009).

Daun sirih hutan mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, terpenoid, saponin, tannin, alkaloid dan polifenol. Flavonoid bertindak sebagai agen antimikroba dan antioksidan yang mempengaruhi penyembuhan luka dan mempercepat epitelisasi (Senthil *et al.*, 2011). Penelitian yang dilakukan (Reichenbach *et al.*, 2019) mengenai uji daya hambat daun sirih hutan terhadap pertumbuhan bakteri *streptococcus mutans* mendapatkan hasil bahwa daun sirih hutan memiliki aktivitas antibakteri. Daun sirih hutan juga sudah diuji sebagai antioksidan terhadap luka bakar pada kulit punggung kelinci, hasilnya ekstrak tersebut memiliki efek penyembuhan pada luka bakar dengan waktu epitelisasi selama 7 hari (Asri, 2017).

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan pengujian efektivitas salep ekstrak daun sirih hutan terhadap penyembuhan luka bakar pada mencit putih jantan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa salep ekstrak daun sirih hutan dengan konsentrasi 15% memiliki efek yang lebih baik dibandingkan dengan konsentrasi lainya, hal ini dikarenakan tanaman sirih hutan mengandung metabolit-metabolit sekunder yang dapat berkhasiat sebagai obat, seperti

alkaloid, flavonoid, saponin, polifenol, tanin, steroid dan terpenoid (Sartika *et al.*, 2021).

Berdasarkan uraian di atas maka dilakukan penelitian mengenai efektifitas salep fraksi n-butanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) dengan konsentrasi 15% terhadap penyembuhan luka bakar pada mencit putih jantan dengan parameter uji yaitu persentase penyembuhan luka, waktu epitelisasi, dan histopatologi.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah salep fraksi n-butanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) konsentrasi 15% efektif terhadap penyembuhan luka bakar pada mencit putih jantan?
2. Apakah lama pemberian mempengaruhi efektivitas terhadap penyembuhan luka bakar?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui efektivitas pemberian salep fraksi n-butanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) terhadap penyembuhan luka bakar pada mencit putih jantan
2. Untuk mengetahui pengaruh lama pengamatan terhadap penyembuhan luka bakar

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai aktivitas daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) dan penggunaannya sebagai obat luar untuk penyembuhan luka bakar.

2. Dari segi akademik, penelitian ini bertujuan untuk pengembangan ilmu pengetahuan dan menambah wawasan dibidang farmakologis daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.)

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Biologi Sirih Hutan

2.1.1 Klasifikasi Taksonomi Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.)

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliopsida
Ordo	: Piperales
Family	: Piperaceae
Genus	: Piper
Spesies	: <i>Piper aduncum</i>



Gambar 1. Tanaman Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.)
(Julianus.,et al 2006)

2.2 Morfologi

Tumbuhan sirih hutan memiliki batang berkayu, bulat, ujungnya runcing, tangkai berbulu halus, tingginya dari 3-8 m. daunnya memiliki panjang 10-14 cm, lebar 5-6 cm, menjari, berwarna hijau muda. Daun sirih hutan ini juga menyerupai bangun jantung sungsang, . bunganya terletak diujung batang, berwarna hijau muda, buahnya berwarna hijau muda hingga hijau coklat Ketika tua (Julianus.,et al 2006) .

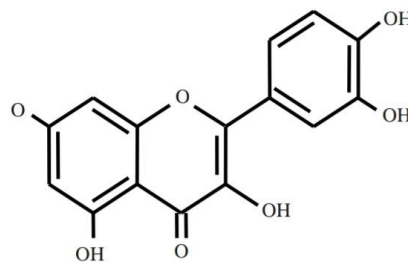
2.2.1 Habitat Dihutan

Tumbuhan sirih hutan tersebar di semak belukar, area perkebunan, hutan alami, bahkan disawah (Julianus.,*et al* 2006).

2.3 Kandungan kimia

Daun sirih hutan mengandung senyawa-senyawa, seperti flavonoids (flavonoid), mono- dan sesquiterpenes (mono dan seskuipen), phenylpropanoid (penilpropanoid), benzoic acid derivatives (tuunan asam benzoate) (Taher *et al.*, 2020). Kandungan flavonoid dari tumbuhan efektif membantu penyembuhan luka, flavonoid mencegah inflamasi luka dengan beberapa cara yaitu dengan mencegah permeabilitas kapiler, mencegah metabolisme asam arakidonat sehingga prostaglandin berkurang, mencegah sekresi enzim pada lisosom yang merupakan mediator inflamasi, dan mencegah mediator proliferasi sel inflamasi pada luka (Rokhmah *et al.*, 2021).

2.3.1 Flavonoid

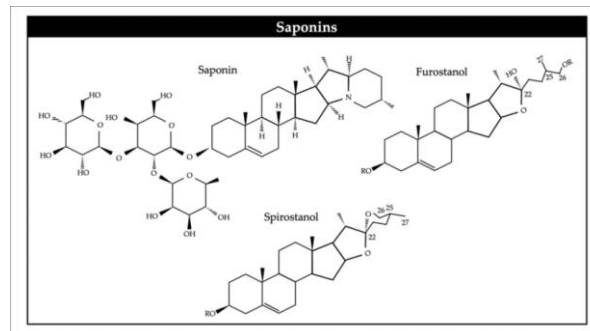


Gambar 2. Struktur Senyawa Flavonoid (Redha, 2010)

Flavonoid adalah metabolit sekunder polifenol banyak terdapat pada tanaman dan makanan, dan memiliki aktivitas antivirus, anti inflamasi dan aktivitas biologis lainnya. Flavonoid terdapat pada semua tubuh hijau sehingga dapat ditemukan pada setiap ekstrak tumbuhan (Tian-yang.,*et al* 2018)

Flavonoid mengerahkan efek antibakterinya dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri. Selain itu, Flavonoid bersifat anti inflamasi memiliki sifat anti radang serta mampu mencegah kekakuan dan nyeri.

2.3.2 Saponin

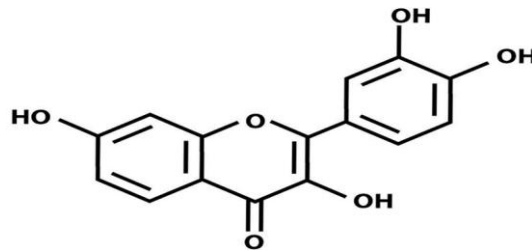


Gambar 3. Struktur Saponin(Ku-Vera *et al.*, 2020)

Saponin adalah fitokimia yang umum terdapat pada tumbuhan. Saponin bertindak sebagai penghalang kimia atau perisai dalam sistem pertahanan tanaman terhadap patogen atau herbivora. Saponin dibagi menjadi dua kelas utama, yaitu triterpenoid dan glikosida steroid, yang karakterisasi strukturnya bervariasi tergantung pada jumlah bagian gula yang melekat pada posisi yang berbeda (Augustin *et al.*, 2011).

Penemuan aktivitas biologi saponin tidak hanya terbatas pada penggunaan tradisional saja, tetapi baru-baru ini telah diterapkan di bidang farmasi. Saponin telah ditemukan memiliki sifat antiinflamasi, antijamur, anti tumor, antibakteri, anti parasit dan antivirus (Cheok *et al.*, 2014)

2.3.3 Terpenoid



Gambar 4. Struktur Terpenoid (Lenny. S, 2006)

Terpenoid terdiri dari mono dan seskuiterpenoid, senyawa ini penting dalam tumbuhan. Mono dan seskuiterpenoid ini merupakan penghambat kanker dan menurunkan gula darah (Li *et al.*, 2021)

Terpenoid memiliki senyawa karotenoid yang berfungsi pro vitamin A. senyawa lain di dalam terpenoid ada skualen yang bisa mengakibatkan kolesterol, serta dapat menyebabkan stroke dan jantung dalam kadar berlebih di dalam tubuh (Lenny. S, 2006).

2.4 Tinjauan Farmasetik

Ekstrak daun sirih hutan diformulasikan sebagai antibakteri dalam bentuk sediaan sabun tangan cair (Ordoyo & Sepe, 2019). Selain itu, (Asri, 2017) juga telah melakukan uji ekstrak etanol daun sirih hutan sebagai antioksidan terhadap luka bakar pada punggung kelinci, dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15%. Hasil penelitian ekstrak etanol daun sirih hutan efektif dalam penyembuhan luka bakar dengan waktu epitelisasi 1 minggu.

2.5 Tinjauan Umum

2.5.1 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 yang sesuai, kemudian

semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan masa atau serbuk yang tersisa diperlukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Departemen Kesehatan RI, 2000).

2.5.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pencairan senyawa kimia yang terdapat dalam bahan alam atau berasal di dalam sel dengan menggunakan pelarut dan metode yang tepat. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian hampir semua pelarut diuapkan dan masa serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan.

Ada beberapa metode ekstraksi yang dipergunakan buat memperoleh ekstrak komponen suatu sampel, yaitu metode meserasi refluks, serta soklet. Meserasi dilakukan menggunakan dengan cara merendam sampel, yaitu rimpang halus ke dalam suatu pelarut. Metode meserasi memiliki keuntungan seperti mudah dikerjakan dengan alat yang sederhana dan juga mencegah rusaknya senyawa-senyawa pada simplisia yang bersifat termolabil. Senyawa termolabil yang dimaksud seperti flavonoid, alkaloid dan tannin (Azzahra & Budiati, 2022).

2.5.3 Fraksinasi

Pada dasarnya, fraksinasi adalah proses ekstraksi senyawa dari ekstrak menggunakan dua jenis pelarut yang tidak dapat bercampur. Fraksinasi dibedakan menjadi 3 macam, seperti fraksi polar, semi polar dan nonpolar. Ke tiga fraksinasi ini berbeda hanya berdasarkan tingkat kepolaranya saja. Untuk lemak dan senyawa yang bersifat non polar digunakan n-heksan, untuk menarik senyawa non polar digunakan n-heksan sedangkan untuk senyawa yang bersifat polar digunakan n-butanol sebagai pelarutnya (Departemen Kesehatan RI, 2014)

2.6 Kulit

2.6.1 Defenisi Kulit

Kulit merupakan organ terluas dari tubuh yang terdiri dari dua lapisan utama yaitu epidermis dan dermis. Djuanda (2015) menyatakan bahwa kulit melakukan berbagai peran dalam menjaga Kesehatan manusia secara keseluruhan, termasuk meliputi berbagai fungsi, seperti:

1. Perlindungan Imunologik
2. Perlindungan Fisik (terhadap gaya mekanik, sinar ultra violet, bahan kimia).
3. Ekskresi
4. Pengindraan
5. Pengatur suhu tubuh

2.6.2 Anatomi Kulit

Secara anatomi dari banyak lapisan jaringan, tetapi umumnya kulit dibagi dalam 3 lapisan jaringan yaitu:

a. Lapisan epidermis

Lapisan epidermis merupakan lapisan kulit yang senantiasa bergenerasi, berespons terhadap rangsangan diluar maupun dalam tubuh manusia dan lapisan ini juga merupakan lapisan yang dinamis. Lapisan ini memiliki tebal bervariasi antara 0,4-1,5 mm (Djuanda, 2015).

Lapisan epidermis ada 5 yaitu:

1. Stratum korneum

Stratum korneum adalah bagian lapisan kulit yang paling luar dan terdiri dari atas beberapa lapisan sel gepeng yang mati, tidak berinti dan protoplasmanya telah berubah menjadi keratin (zat tanduk).

Beberapa lapis sel mati berkeratin sangat hidrofil dan bila tercelup

dalam air akan mengembang, hal ini dapat menjaga kulit halus dan lentur

2. Stratum lucidum

Stratum korneum terletak dibawah stratum korneum, yang merupakan lapisan gepeng sel-sel gepeng tanpa inti yang mengandung protoplasma yang berubah menjadi protein yang disebut eleidin. Lapisan ini lebih jelas ditelapak tangan dan kaki

3. Stratum granulosum (lapisan keratohyalin)

Stratum granulosum terdiri dari 2 atau 3 lapisan sel pipih sitoplasma kasar dan inti diantaranya. Granula ini terdiri dari keratohyalin. Lapisan ini berperan aktif dalam proses keratinisasi.

4. Stratum spinosum

Stratum spinosum terdiri dari beberapa sel poligonal yang ukurannya bervariasi karena proses mitosis. Protoplasma jernih karena banyak mengandung glikogen dan inti sel berada ditengah. Semakin dekat sel-sel ini kepermukaan, semakin halus mereka

5. Stratum basale

Lapisan basale terdiri dari sel-sel kubus yang tersusun vertical sebagai pagar pada dermo-epidermal barrier, lapisan ini merupakan lapisan epidermis paling bawah.

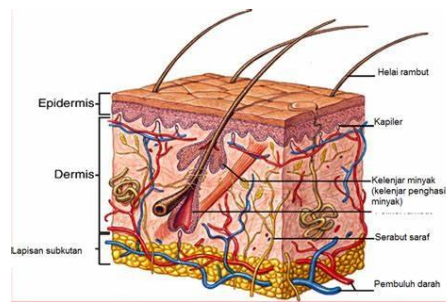
b. Lapisan Dermis

Dermis merupakan lapisan di bawah epidermis, dan jauh lebih tebal dibandingkan epidermis. Dermis juga memberikan perlindungan kulit, termoregulasi, perlindungan imunologi dan sekresi. Fungsi-fungsi ini

dapat dilakukan dengan baik oleh berbagai elemen dermis, yaitu struktur berserat dan berfilamen, bahan dasar dan sel endotel, fibroblast, sel inflamasi, kelenjar folikel rambut dan saraf.

c. Lapisan hipodermis (subkutan)

Menurut djuanda (2015) mengatakan bahwa lapisan subkutan adalah lapisan tepat di bawah lapisan dermis. Batas antar jaringan subkutan dan dermis tidak terdefinisi dengan baik. Jaringan subkutan, terdiri dari jaringan adiposa, mampu menjaga suhu tubuh dan merupakan trauma melalui permukaan kulit. Sel-sel lemak dibagi menjadi lobus yang dipisahkan oleh septa.



Gambar 5. Penampang Anatomi Kulit (Mescher, 2017)

2.7 Luka

2.7.1 Pengertian Luka

Luka merupakan cedera fisik akibat terbukanya atau terganggunya kulit yang menyebabkan ketidakseimbangan antara fungsi normal kulit dan anatomi. Luka adalah hilangnya atau cederanya jaringan tubuh yang disebabkan oleh faktor-faktor yang mengganggu sistem perlindungan tubuh.

2.7.2 Pengertian Luka Bakar

Luka bakar adalah cedera jaringan yang disebabkan oleh kontak dengan panas kering (api), panas lembab (uap atau cairan panas), bahan kimia (zat korosif), benda listrik (arus listrik atau lampu), gesekan, atau energi elektromagnetik dan radian. Luka bakar merupakan salah satu bentuk trauma dengan morbiditas dan mortalitas yang tinggi sehingga memerlukan penanganan khusus sejak dini hingga stadium lanjut. Ada lima penyebab luka bakar: api, cairan, bahan kimia, listrik, dan kontak lainnya (Syamsuhidijat, 2010).

2.7.3 Klasifikasi luka bakar

Syamsuhidijat dan Jong (2010) menyatakan bahwa kedalaman luka bakar ditentukan oleh tingginya suhu dan lamanya pajangan. Luka bakar dibedakan atas beberapa jenis yaitu:

1. Luka bakar derajat I

Luka bakar derajat I terbatas pada bagian superfisial epidermis, kulit kering, hipodermis mengeluarkan cairan sebagai kemerahan, tidak lumpuh, nyeri dari ujung saraf sensorik yang teriritasi. Misalnya, luka bakar akibat sengatan matahari, penyembuhan terjadi secara spontan 5-7 hari.

2. Luka bakar derajat II

Luka bakar derajat dua memiliki gejala seperti nyeri, melepuh atau bola berisi cairan yang keluar dari pembuluh akibat meningkatnya permeabilitas dinding. adalah lesi yang menutupi seluruh ketebalan epidermis dan sebagian dermis, berupa reaksi radang akut, disertai proses sekresi, lecet, dasar luka merah atau pucat lebih tinggi dari permukaan kulit normal,

nyeri, ujung saraf yang teriritasi. Luka akan sembuh dengan sendirinya dalam 2-3 minggu

3. Luka bakar derajat III

Kerusakan luka bakar derajat ketiga meliputi ketebalan dermis dan lapisan yang lebih dalam, pelengkap seperti folikel rambut, kelenjar keringat, kelenjar sebaceous yang rusak, kulit yang terbakar lebih pucat atau lebih putih karena pembentukan kain kasa, tidak menimbulkan rasa sakit, membutuhkan waktu lama untuk pulih dari luka bakar. . tidak ada Proses terjadi, epitelisasi spontan

2.7.4 Fase penyembuhan luka

Marison (2004) mengatakan bahwa ada 3 fase dalam proses penyembuhan luka yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase maturasi.

- a. Fase inflamasi adalah respon tubuh terhadap cedera, yang dimulai setelah beberapa menit dan berlangsung 3-5 hari setelah cedera. Pada fase inflamasi, terjadi vasokonstriksi pada pembuluh darah yang rusak melalui pembentukan trombosit dan diperkuat oleh serat fibrin membentuk bekuan. Jaringan yang rusak melepaskan histamin dan neurotransmitter lain yang menyebabkan vasodilatasi pada pembuluh darah yang tidak rusak, memungkinkan darah mengalir ke area yang rusak, menyebabkan area tersebut terasa panas dan merah. Permeabilitas kapiler meningkat dan Anda merasa panas dan memerah. Permeabilitas kapiler meningkat dan cairan berprotein mengalir ke celah, menyebabkan pembengkakan lokal dan kemungkinan hilangnya fungsi. Leukosit polimorf nuklear dan makrofag bermigrasi dari kapiler ke

area yang rusak sebagai respons terhadap agen kemotaktik yang diinduksi cedera.

- b. Fase proliferasi terjadi setelah sekitar 3-21 hari, fibroblas mulai melepaskan matriks dan serat kolagen serta pembuluh darah menginvasi luka. Setelah pembentukan kolagen, kekuatan tarik luka meningkat dengan cepat. Kapiler dibentuk melalui endotelium, yang disebut angiogenesis, dan dengan adanya kapiler baru ini, bekuan fibrin dihilangkan. Tanda-tanda peradangan mulai terbentuk. Granulasi mulai terbentuk dan berwarna merah cerah
- c. Fase pematangan atau pembaruan terjadi sekitar 24-365 hari setelah cedera. Hilangnya kulit, sel-sel epitel di tepi luka dan sisa-sisa folikel rambut, serta kelenjar sebacea dan keringat, pecah dan mulai bermigrasi melalui jaringan hidup, di mana mereka lewat di bawah dermis yang kering. Kontraksi luka disebabkan oleh miofibroblas kontraktil yang membantu menyatukan tepi luka. Vaskularisasi jaringan perut secara bertahap berkurang, berubah warna dari hitam-merah menjadi putih. Serat kolagen mengatur ulang diri sedemikian rupa sehingga kekuatan tarik meningkat.

2.7.5 Terapi farmakologi luka bakar

Setelah kondisi umum membaik dan terapi cairan telah diberikan, perawatan luka tergantung pada sifat dan ukuran luka. Tujuan pengobatan luka bakar adalah untuk menyembuhkan luka dengan cepat dengan rasa sakit yang minimal. Setelah luka dibersihkan dan didebridement, luka ditutup. Penutupan luka ini memiliki beberapa fungsi. Pertama, penutupan luka melindungi luka dari kerusakan epitel dan meminimalkan perkembangan koloni bakteri atau jamur. Kedua, luka harus benar-benar tertutup untuk mencegah penguapan agar pasien tidak menjadi

hipotermia. Ketiga, dilakukan upaya untuk menutup luka semaksimal mungkin agar pasien merasa nyaman dan menimbulkan rasa nyeri yang minimal. Pilihan penutupan luka berdasarkan derajat luka bakar (James, 2005).

Luka bakar derajat satu adalah luka ringan dengan sedikit hilangnya sawar kulit. Luka seperti itu tidak perlu dibalut. Salep antibiotik untuk meredakan rasa sakit dan menjaga kelembapan . NSAID (ibuprofen, parasetamol) digunakan untuk mengatasi rasa sakit dan pembengkakan

Luka bakar derajat 2, perawatan luka harian untuk mengobati nyeri dan bengkak sesuai kebutuhan. Luka pertama-tama dilapisi dengan salep antibiotik, lalu dibalut dengan perban kapas, lalu perban elastis. Atau, menutup luka dengan pembalut luka sementara yang terbuat dari bahan alami (xenograft/kulit babi) atau allograft (hemografi, kulit mayat) atau bahan sintetis (Opsite, Biobrane, Transcyte, Integra) dapat dilakukan.

Luka derajat dua (dalam) dan derajat tiga yang memerlukan eksisi primer dan pencangkokan kulit (eksisi dini dan pencangkokan).

Saat luka terjadi, penghalang pelindung kulit hilang, mendorong pembentukan koloni bakteri atau jamur di dalam luka. Ketika jumlah bakteri mencapai 10^5 organisme jaringan, bakteri ini dapat menembus jaringan yang lebih dalam dan masuk ke pembuluh darah, menyebabkan infeksi sistemik dan kemungkinan kematian. Antibiotik dapat diberikan secara lokal atau sistemik. Pemberian topikal dapat berupa salep atau cairan untuk perendaman. Contoh antibiotik yang umum digunakan adalah silver sulfadiazine, mafenide acetate, bacitracin (biasanya untuk luka bakar tingkat pertama), silver nitrat, povidone-iodine, nevacetin, neomycin, polymyxin B, nysatatin, muprosin, dan mevo.

2.7.6 kolagen

Kolagen adalah komponen kunci dari fase proliferasi penyembuhan luka dan salah satu ciri penyembuhan luka adalah pembentukan kolagen. Kolagen merupakan zat protein berupa serat yang merupakan komponen utama jaringan ikat yang dibutuhkan dalam keadaan penyembuhan luka, pembentukan jaringan parut dan pembentukan matriks tulang (Triyono, 2005).

Kolagen memiliki kemampuan, antara lain untuk berinteraksi secara homeostatik dengan trombosit, berinteraksi dengan serat fibronectin, meningkatkan oksigenasi cairan, meningkatkan komponen seluler, meningkatkan faktor pertumbuhan dan mendorong proses fibrolisis dan terkadang proliferasi epidermis.

Secara struktural dan fungsional, kolagen adalah protein matriks ekstraseluler kunci yang juga terlibat dalam pembentukan jaringan parut selama penyembuhan jaringan ikat.

Peran kolagen dalam proses penyembuhan luka sangat penting yaitu sebagai zat homeostatis yang sangat kuat karena trombosit menempel pada kolagen, membengkak dan melepaskan zat yang mengawali proses homostatis. Pro- dan hidroksiprolin lain memainkan peran yang sangat penting dalam interaksi platelet-kolagen. Kolagen juga dapat mendukung agregasi platelet karena kemampuannya untuk mengikat fibronectin.

Mekanisme pasti interaksi kolagen tidak sepenuhnya dipahami, tetapi data yang solid menunjukkan bahwa interaksi kolagen-trombosit adalah langkah pertama dalam proses dehidrasi, yaitu proses homostatis.

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu Dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan dari bulan Januari - Juni 2023 di Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Farmasetika Universitas Perintis Indonesia, Yayasan Perintis Padang dan Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Andalas

3.2 Alat Dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian adalah alat-alat gelas standar laboratorium: kaca arloji, cawan penguap, botol semprot, corong, timbangan digital, lemari pendingin, botol meserasi, *rotary evaporator*, pipet tetes, batang pengaduk, pinset, spatel, gunting bedah, penangas air, *hot plate*, api bebas, silinder logam, kain kasa, mortar dan stamper, sudip, jangka sorong, krus porselin, pipet mikro, incubator, microtome, teaching mikroskop, kertas saring, kertas xylon, object glass, oven slide, blok paraffin, dek glass (kaca penutup).

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah daun sirih hutan, etanol 96%, kloroform, etil asetat, n-heksan, n-butanol, FeCl_3 , serbuk mg, norit, asam asetat anhidrat, H_2SO_4 2N, H_2SO_4 (p), HCl (p), kloroform amoniak 0,05 N, aquadest, krim perontok bulu, formalin 10%, formalin buffer fosfat 10%, alcohol 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 96% toluene, vaselin flavum murni, pewarna HE, xylol, lilin Canada, aluminium foil, vaselin dan salep pembanding Tekasol®.

3.3 Persiapan Sampel

3.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) yang diambil di daerah Lubuk minturun, kecamatan Koto Tangah, Padang.

3.3.2 Identifikasi Sampel

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

3.3.3 Pembuatan Ekstrak

Daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) sebanyak 4 kg dicuci bersih dengan air mengalir Lalu ditiriskan. Kemudian daun dirajang sampai berukuran kecil. Simplisia daun sirih hutan(*Piper aduncum* L.) di masukan ke dalam botol meserasi dan ditambahkan etanol 96%. Direndam selama 6 jam pertama sambil diaduk dan 18 jam berikutnya dibiarkan saja. Pisahkan meserat dengan cara difiltrasi dengan kain flannel, diulangi proses penyaringan sebanyak 2 kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Dikumpulkan semua meserat, kemudian diuapkan dengan penguap vakum atau penguap tekanan rendah hingga diperoleh ekstrak kental (Sartika *et al.*, 2021)

3.3.4 Pembuatan Fraksi

Fraksinasi dilakukan dengan menambahkan 20 gram ekstrak daun sirih hutan dengan pelarut n-heksan dan aquadest dengan perbandingan (1:1) sebanyak 200 mL ke dalam corong pisah 250 mL, kemudian dikocok selama 30 menit, setelah dikocok didiamkan dan tunggu sampai terbentuk dua lapisan yaitu lapisan n-heksan dan air. Ambil lapisan n-heksan (atas)., kemudiaan ulangi 2-3 kali sampai lapisan n-heksan terlihat jernih.

Selanjutnya ambil lapisan air pada n-heksan dan difraksinasi dengan etil asetat 100 mL dalam corong pisah 250 mL, kemudian dikocok dan didiamkan 30 menit. Lakukan 2-3 kali pengulangan sampai terlihat lapisan etil asetat yang bening (Aria *et al.*, 2015).

Kemudian ambil lapisan air, ditambahkan larutan n-butanol 100 mL di fraksinasi dalam corong pisah 250 mL, kemudian dikocok dan didiamkan 30 menit, hingga terlihat 2 lapisan yaitu lapisan air dan lapisan n-butanol. Lakukan 2-3 kali pengulangan sampai lapisan n-butanol terlihat bening. fraksinasi n-butanol di *Rotary evaporator* sehingga dihasilkan fraksi n-butanol kental. Fraksi n-butanol kental yang di uji ke hewan percobaan.

3.3.5 Evaluasi Fraksi

a. Pemeriksaan Organoleptis

Uji ini dilakukan dengan memeriksa bau, warna dan bentuk sediaan. Syaratnya seperti warna zat aktif, aroma khas, penampilan kental.

b. Penentuan Rendemen

Rendemen merupakan suatu perbandingan antara suatu fraksi yang diperoleh dengan simplisia awal. Timbang fraksi daun sirih hutan kemudian hasil fraksinasi yang diperoleh ditimbang Kembali.

Hitung rendemen dengan rumus :

$$\text{Rendemen Fraksi \%} = \frac{\text{berat fraksi yang diperoleh}}{\text{berat ekstrak yang digunakan}} \times 100$$

c. Pemeriksaan Susut Pengeringan

Keringkan krus porselen dan tutupnya di dalam oven dengan suhu 105°C selama 30 menit dan biarkan dingin dan timbang. Masukkan fraksi tersebut hingga beratnya 1 gram di luar bobot krus dengan penutup yang diketahui

sebelumnya. Kocok perlahan ujungnya terus menerus agar fraksinya merata dan kembalikan ke oven, buka tutupnya dan biarkan tutupnya di dalam oven. Krus yang sudah berisi fraksi akan dibiarkan di oven selama 1 jam dipanaskan dalam suhu 105 °C. Setelah itu krus dikeluarkan dan didinginkan dalam desikator, kemudian ditimbang. Lakukan pengulangan seperti cara diatas agar didapat hasil yang konstan.

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

Keterangan : A : Berat krus kosong

B. : Berat krus + sampel sebelum dipanaskan

C. : Berat krus + sampel setelah dipanaskan

d. Pemeriksaan Kadar Abu (Departemen Kesehatan RI, 2008)

Kadar abu diperiksa dengan menimbang masing-masing fraksi dan kemudian dihitung pada tingkat penyalaan dan kemudian disesuaikan tara. Menyala perlahan sampai arangnya habis. Kemudian didinginkan dalam alat desikator lalu ditimbang, setelah itu arang akan dimasukkan ke dalam oven pada suhu 600° C selama 5 jam hingga menghasilkan abu, didinginkan dalam desikator dan ditimbang berat abu yang diperoleh.

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

Keterangan : A : Berat krus kosong

B : Berat krus +sampel sebelum dipanaskan

C : berat krus ditambah sampel yang sudah dipanaskan

3.3.6 Uji Kandungan Metabolit Sekunder Fraksi Daun Sirih Hutan

Fraksi n-butanol daun sirih hutan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan kloroform dan air sebanyak masing-masing 5 ml (1:1) kocok dan diamkan sampai terbentuk 2 lapisan, lapisan atas yaitu lapisan air dan lapisan bawah adalah lapisan kloroform (Harbone, 1987)

a. Lapisan Air

1. Uji Flavonoid

Ambil lapisan air lalu di tambahkan HCl pekat dan serbuk magnesium . Hasil positif jika perubahan warna menjadi jingga sampai merah yang menunjukkan adanya flavon, dan merah tua sampai merah keunguan yang menunjukkan adanya flavonoid (Rahmadani *et al.*, 2021).

2. Uji Fenolik

Lapisan air sampel ditetaskan pada plat tetes lalu ditambahkan pereaksi FeCl_3 , hasil menunjukan adanya fenolik apabila terbentuknya warna biru.

3. Uji Saponin

Ambil lapisan air ditambahkan aquadest dikocok, kemudian didiamkan 15 – 20 menit. Adanya busa stabil selama 10 menit menunjukan sampel mengandung saponin (Rahmadani *et al.*, 2021).

b. Lapisan Kloroform

1. Uji terpenoid dan steroid (metode simes)

Lapisan kloroform disaring dengan norit lalu ditambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat, jika terbentuk warna merah itu artinya

sampel positif terpenoid. Jika terbentuk warna biru berarti sampel mengandung steroid.

2. Uji alkaloid

Ambil lapisan kloroform fraksi n-butanol lalu ditambahkan HCl 2N kemudian dipanaskan. Dinginkan campuran dan saring. Tambahkan reagen mayer kedalam filtrat. Warna keruh atau adanya endapan menunjukkan sampel mengandung alkaloid (Rahmadani *et al.*, 2021).

3.4 Pembuatan Salep Fraksi Daun Sirih Hutan

Sediaan salep dibuat dengan fraksi n-butanol konsentrasi 15% sebanyak 10g

$$\text{Fraksi daun sirih hutan} = \frac{15}{100} \times 10g = 1,5 g$$

$$\text{Vaselin flavum} = 10 g - 1,5 g = 8,5 g$$

Fraksi daun sirih hutan yang sudah ditimbang di masukan kelumpang, kemudian tambahkan vaselin flavum yang sudah ditimbang , lalu digerus ad homogen . keluarkan dari lumping dan masukan ke dalam wadah yang sudah disediakan.

3.5 Prosedur Pelaksanaan

Luka bakar digunakan untuk mengevaluasi potensi khasiat fraksi daun sirih liar dalam penyembuhan luka bakar (Nayak, 2009). Tiga puluh enam ekor mencit putih jantan dengan berat 20-25 gram dijadikan sebagai hewan uji, mencit diaklimatisasi selama 7 hari sebelum digunakan. Hewan dianggap sehat jika tidak menunjukkan penurunan berat badan yang signifikan (deviasi < 10%) selama pembiasaan dan berperilaku normal secara visual.

3.5.1 Pengelompokan Hewan Percobaan

Hewan percobaan di kelompokkan menjadi 3, yaitu:

1. Kelompok 1 (basis salep) adalah kelompok mencit yang akan diberi luka tanpa diberikan pengobatan, hanya diberi vaselin flavum
2. Kelompok 2 (pembanding) adalah kelompok mencit yang diberi luka kemudian diolesi sediaan yang beredar yaitu T®
3. Kelompok 3 (perlakuan) adalah kelompok mencit yang diberi salep fraksi n-butanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) konsentrasi 15%

3.5.2 Model Luka Bakar

Hewan dianastesi dengan eter, setelah bulu bagian punggungnya dirontokan. Bagian yang telah dirontokan tadi dibersihkan dengan alcohol 70%, selanjutnya luka bakar dibuat menggunakan lingkaran logam berdiameter 1 cm yang dipanaskan dalam air panas dengan suhu 100°C. Logam mini ditempelkan pada bagian punggung selama 20 detik hingga timbul luka berbentuk lingkaran di punggung mencit. Basis salep (Vaselin), salep fraksi n-butanol daun sirih hutan, dan salep tekasol® dioleskan 2 x sehari pada luka bakar yang telah dibuat dimulai segera setelah induksi luka bakar hingga terjadi epitelisasi sempurna

3.5.3 Parameter yang Diukur Pada Model Luka Bakar

a) Persentase Penyembuhan Luka Bakar

Hitung persentase penyembuhan luka bakar pada hari ke-7, 14, dan 21

dengan rumus :

$$\% \text{ Penyembuhan luka bakar} = \frac{\text{luas luka awal} - \text{luas luka akhir}}{\text{luas daerah luka bakar awal}} \times 100\%$$

b) Waktu Epitelisasi

Waktu dan diperlukan untuk terbentuknya epitel baru yang sempurna menutupi luka bakar. Dalam hal ini dicatat hari ke berapa terjadi pengelupasan jaringan keropeng dari luka tanpa meninggalkan sisa luka.

c) Histopatologi (Bancroft, 2018)

Dilakukan pengamatan terhadap serabut kolagen pada jaringan luka bakar. Dari tiap kelompok diambil 3 ekor mencit pada tiap-tiap kelompok nya, dilakukan pada hari ke 7, hari ke 14 dan hari ke 21

1. Prosesing jaringan

- Pemotongan jaringan basah ; jaringan dipotong dengan ketebalan $\pm$ 4mm, dan dimasukkan kedalam kaset jaringan
- Fiksasi; fiksasi dengan formalin 10% berbuffer phosphate dengan pH normal (7)
- Dehidrasi bertingkat masing-masing 30 menit dalam larutan ethanol 70%, 95%, 100%
- Clearing dalam larutan Xylol selama 30 menit
- Impregnasi dalam larutan paraffin cair (paraplast) I, dan II, pada suhu 54°C masing-masing selama 1 jam
- Blocking jaringan dengan paraffin cair dalam tissue mold, kemudian didinginkan pada suhu ruang
- Pemotongan block dengan rotary microtome dengan ketebalan + 4 μ m, kemudian ditempelkan pada kaca objek

2. Pewarnaan hematoksilin-eosin

- Panaskan slide di oven 65°C selama 30 menit
- Rendam slide dalam Xylol selama 1-3 menit
- Rehidrasi dengan merendam slide pada larutan ethanol bertingkat dari konsentrasi tinggi ke rendah
 - EtOH (ethanol alcohol) 100% ; 2-3 menit
 - EtOH (ethanol alcohol) 96% ; 2-3 menit
 - EtOH (ethanol alcohol) 70% ; 2-3 menit
- Aquadest 3 menit
- Hematoxylin selama 5-10 menit dengan aquadest 5-10 menit
- Rendam eosin Y ; 3 menit
- Bilas dalam alcohol 70% ; 3 menit
- Dehidrasi dengan merendam slide pada larutan alcohol bertingkat dari konsentrasi rendah ke tinggi
 - EtOH (ethanol alcohol) 96% ; 3 menit
 - Absolute 100% ethanol ; 3 menit
- Clearing dalam Xylol ; 3 menit
- Mounting dengan entelan dan tutup sediaan dengan cover slip

3. Pemeriksaan mikroskopis sediaan hispatologi jaringan luka bakar

Sediaan yang telah ditutup dengan cover slip selanjutnya diamati dibawah mikroskop dan dibuat skor dengan kriteria:

- 1) Tidak tampak serabut kolagen
- 2) Serabut kolagen menyebar tipis atau sedikit
- 3) Serabut kolagen menyebar sedang atau tampak penyatuan

- 4) Serabut kolagen menyebar banyak dan terikat sempurna

4. Pemeriksaan jumlah fibroblast dan re-epitelisasi

Pengamatan histopatologi pemeriksaan fibroblast dan re-epitelisasi menggunakan skor (Dwita *et al.*, 2020).

3.6 Analisis Statistik

Nilai dari masing-masing parameter dihitung sebagai rata-rata $\pm$ standar deviasi (SD). Signifikansi dari perbedaan nilai rata-rata akibat perlakuan ini terhadap kelompok basis salep di analisa menggunakan One Way Anova untuk mengukur waktu epitelisasi dari kelompok hewan karena pada parameteranya hanya terdapat satu variable bebas dan Two Way Anova untuk data yang memiliki 2 variabel bebas yaitu data persentase hewan yang di histopatologi pada hari ke 7, hari ke 14 dan hari ke 21 dari kelompok hewan dan dilanjutkan dengan uji berjarak duncan guna melihat signifikansi perbedaan rata-rata yang diakibatkan perbedaan perlakuan menggunakan SPSS 26.

DAFTAR PUSTAKA

- Amaliya, S., Soematri, B., & Utami, Y. W. (2013). *Uji Ekstrak Daun Pegagan (Centella asiatica) dalam Mempercepat Penyembuhan Luka Terkontaminasi Pada Tikus Putih (Rattus novergicus) Galur Wistar*. Jurnal Ilmu Keperawatan, 1(1), 19–25.
- Aponno, J. V, Yamlean, P. V. Y., & Supriati, H. S. (2014). *Uji Efektivitas Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (Psidium Guajava Linn) Terhadap Penyembuhan Luka Yang Terinfeksi Bakteri Staphylococcus Aureus Pada Kelinci (Orytolagus Cuniculus)*. PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT Agustus, 3(3), 2302–2493.
- Aria, M., Verawati, V., Arel, A., & Monika, M. (2015). *Uji Efek Antiinflamasi Fraksi Daun Piladang (Solenostemonscutellarioides (L.) Codd) terhadap Mencit Putih Betina*. Scientia : Jurnal Farmasi Dan Kesehatan, 5(2), 84.
- Asri, M. (2017). *pengaruh efek ekstrak etanol daun sirih sebagai antioksidan terhadap luka bakar pada kulit panggung kelinci* _ Connected Papers Search.
- Augustin, J. M., Kuzina, V., Andersen, S. B., & Bak, S. (2011). *Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins*. Phytochemistry, 72(6), 435–457.
- Azzahra, F., & Budiati, T. (2022). *Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kandungan Kimia Ekstrak Daun Alpukat (Persea Americana Mill .) Effects Of Drying Method And Solvents On Yield (Persea Americana Mill .)*. Medical Sains, 7(1), 67–78.
- Bancroft, J. D. (2018). *theory and practice of hystological techniques*.
- Cheok, C. Y., Salman, H. A. K., & Sulaiman, R. (2014). *Extraction and quantification of saponins: A review*. In Food Research International (Vol. 59, pp. 16–40).
- Departemen Kesehatan RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Di Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Departemen Kesehatan RI. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia I*. Depkes RI.
- Departemen Kesehatan RI. (2014). *Farmakope Indonesia Edisi V*. Depkes RI.
- Djuanda, A. (2015). *Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin (VII)*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Dwita, L. P., Ladeska, V., Ramadhani, A., Augusta, D. R., & Saufia, R. T. (2020). *Manfaat Ekstrak Etanol Daun Remek Daging (Hemigraphis Colorata W. Bull) Terhadap Luka Bakar Pada Tikus*. Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia, 13(1), 32–41.
- Gholib, D. (2009). *Uji Daya Hambat Daun Karuk (piper samentosum ROXB) dan Daun Seserehan terhadap Trichophyton mentagrophytes*. 815–819.
- Giri, I. M. D. S., Kusuma, W. I. G. A. A., & Suena, N. M. D. S. (2021). *Peran*

- Metabolit Sekunder Tumbuhan dalam Pembentukan Kolagen pada Kulit Tikus yang Mengalami Luka Bakar*. Jurnal Integrasi Obat Tradisional , 1(1), 23–29.
- Harbone, J. . (1987). *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata*. ITB.
- Hidayat, R., Naziyah, N., & Alifa, A. Z. (2022). *Efektifitas Cadexomer Iodine Dan Zinc Cream Terhadap Penyembuhan Luka Kaki Diabetik Di Klinik Wocare Center Bogor*. Malahayati Nursing Journal, 4(7), 1619–1626.
- Ja, G.-E., Vb, A.-A., Eh, O.-V., Ra, G.-M., Ba, A., Aron, J., & Espinoza, G. (2020). *Burns: Definition, Classification, Pathophysiology and Initial Approach*. June.
- James, M. (2005). *Essentials of Surgery* (1st ed.). Saunders Elsevier.
- Julianus Kinho, Diah Irawati Dwi Arini, Jafred Halawane, L., & Nurani, Halidah, Y. K. dan M. C. K. (2006). *Tumbuhan Obat Tradisional Di Sulawesi Utara*. Balai Penelitian Kehutanan Manado Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan Kementrian Kehutanan.
- Ku-Vera, J. C., Jiménez-Ocampo, R., Valencia-Salazar, S. S., Montoya-Flores, M. D., Molina-Botero, I. C., Arango, J., Gómez-Bravo, C. A., Aguilar-Pérez, C. F., & Solorio-Sánchez, F. J. (2020). *Role of Secondary Plant Metabolites on Enteric Methane Mitigation in Ruminants*. Frontiers in Veterinary Science, 7(August).
- Lenny. S. (2006). *Senyawa terpenoida dan steroida*.
- Li, J., Wang, Y., Dong, Y., Zhang, W., Wang, D., Bai, H., Li, K., Li, H., & Shi, L. (2021). *The chromosome-based lavender genome provides new insights into Lamiaceae evolution and terpenoid biosynthesis*. Horticulture Research, 8(1).
- Mescher, A. L. (2017). *Junqueira 's Basic Histology Text & Atlas*. Mc Graw Hill, January, xiii + 626.
- Muslim, S., Saputra, D., & Asri, A. (2021). *Gambaran Karakteristik Pasien Luka Bakar Listrik di Rawat Inap RSUP Dr. M.Djamil Padang Tahun 2016-2019*. Jurnal Ilmu Kesehatan Indonesia, 1(3), 412–418.
- Ordoyo, A. E. T., & Sepe, M. C. (2019). *Antibacterial potential of liquid hand soap with Piper aduncum leaf extract Cite this paper Related papers*. In International Journal of Life Science (Vol. 7, Issue 1, pp. 1–9). www.ijlsci.in
- Purnama, H., Sriwidodo, & Ratnawulan, S. (2017). *Proses Penyembuhan dan Perawatan Luka*. Farmaka, 15(2), 255–256.
- Putra, O. N., Saputro, I. D., Vitari, V. D., & Hapsari, A. R. (2022). *Untuk Tindakan Surgical Debridement Pada Luka Bakar Anak Menggunakan Metode Atc / Ddd Evaluation of Prophylactic Antibiotics for Surgical Debridement in Children With Burn Injury Using Atc / Ddd Method*. 7(3), 551–560.

- Rahmad, T. M. (2019). *Gambara Kasus Luka Bakar Di Bagian Bedah RSUP Dr. Mdjamil Padang tahun 2016-2017*.
- Rahmadani, H. F., Pratimasari, D., & Amin, M. S. (2021). *Aktivitas Gel Fraksi Etil Asetat dari Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar Untuk Pengobatan Luka Bakar*. Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia, 8(2), 143.
- Redha, A. (2010). *Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis*. Jurnal Belian 9, 2, 196–202.
- Reichenbach, A., Bringmann, A., Reader, E. E., Pournaras, C. J., Rungger-Brändle, E., Riva, C. E., Hardarson, S. H., Stefansson, E., Yard, W. N., Newman, E. A., & Holmes, D. (2019). *Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hutan (Piper aduncum L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Streptococcus mutans*. Progress in Retinal and Eye Research, 561(3), S2–S3.
- Rokhmah, N. N., Yulianita, Y., & Putra, R. A. (2021). *Efektivitas Gel Daun Pandan Wangi Sebagai Obat Luka Bakar Pada Tikus Putih Jantan*. Pharmacoscript, 4(2), 131–140.
- Rositha, D. A. I. (2016). *Pengaruh Basis Salep Hidrokarbon, Serap Dan Kombinasi Terhadap Sifat Fisik Salep Ekstrak Maserasi Daun Pepaya (Folium papaya)*. Parapemikir : Jurnal Ilmiah Farmasi, 2(3).
- Saifudin, A., Tahayu, V., Teruna, H. (2011). *Standarisasi Bahan Obat*. Graha Ilmu.
- Sartika, D., Rahmi, M., & Noorfajriwianti, D. (2021). *Uji Efektivitas Salep Ekstrak Daun Sirih Hutan (Piper Aduncum L.) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Mencit Putih Jantan*. Jurnal Katalisator, 6(2), 307–318.
- Senthil, P., Ashok kumar, A., Manasa, M., Anil Kumar, K., Sravanthi, K., & Deepa, D. (2011). *Wound healing activity of alcoholic extract of “Guazuma ulmifolia” leaves on albino Wistar rats*. In International Journal of Pharma and Bio Sciences (Vol. 2, Issue 4, pp. 34–38).
- Sumoza, N. S., & Rahayu, R. (2014). *Pengaruh Gambir (Uncaria gambir R.) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Mencit Putih (Mus musculus L.)*. Jurnal Biologi Universitas Andalas, 3(4), 283–288.
- Syamsuhidijat, & J. D. (2010). *Buku Ajar Ilmu Bedah* (3rd ed.). EGC.
- Taher, M., Amri, M. S., Susanti, D., Abdul Kudos, M. B., Md Nor, N. F. A., & Syukri, Y. (2020). *Medicinal uses, phytochemistry, and pharmacological properties of piper aduncum L*. Sains Malaysiana, 49(8), 1829–1851.
- Tian-yang, Wang, Qing, Li., and Kai-shun, . (2018). *Bioactive flavonoids In Medical Plants: Structure, Activity and Biological Fatcasian*. Journal Of Pharmaceutical Sciences, 13, 12–23.
- Triyono, B. (2005). *Perbedaan Tampilan Kolagen Disekitar Luka Insisi pada Mencit Wistar yang diberi Inffiltrasi Penghilang Nyeri Levobupivakain dan yang tidak diberi Levobupivakain*. UNDIP.

