

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Burns atau yang biasa dikenal dengan luka bakar merupakan salah satu kecelakaan yang paling banyak dijumpai di rumah, terutama luka bakar derajat II (Nurdiana, Hariyanto, & Musrifah, 2008). Luka bakar adalah kehilangan jaringan yang disebabkan karena kontak dengan sumber panas seperti air, api, bahan kimia, listrik dan radiasi. Menurut WHO (2008) menyatakan terjadi 5,8 juta kematian akibat cedera. Riskesdas (2013) menyatakan bahwa terjadi peningkatan prevalensi cedera luka bakar di Indonesia dari angka 7,5 % tahun 2007 menjadi 8,2 % tahun 2013 (Imansyah & Alam, 2021).

Penatalaksanaan luka bakar secara umum yaitu menggunakan rendam normal saline, berupa cairan fisiologis berfungsi untuk mempertahankan permukaan luka agar tetap lembab dan tidak terinfeksi bakteri (antimikroba) tetapi penelitian terdahulu menyimpulkan bahwa normal salin sama sekali tidak mempengaruhi penyembuhan luka (Nurdiana, *et al.*, 2008).

Salah satu proses penyembuhan luka yang baik yaitu ditandai dengan kualitas pembentukan jaringan granulasi. Dimana jaringan granulasi adalah pertumbuhan jaringan baru yang muncul saat luka mengalami proses penyembuhan sembuh dan terdiri dari sel-sel fibroblast yang mengisi rongga dan kapiler kapiler baru, sehingga ketebalan jaringan granulasi yang dibuat tergantung pada angiogenesis (pembentukan pembuluh darah kapiler) dan banyaknya sel-sel fibroblas yang berproliferasi (Reza Fitra Kusuma Negara, 2014).

Waktu yang dibutuhkan luka untuk sembuh akan tergantung pada seberapa tebal jaringan granulasi. Peningkatan ketebalan jaringan granulasi tersebut dapat diperoleh dari daun sirih hutan karena efek kandungan senyawa aktif yang berasal dari ekstrak etanol daun sirih hutan. Hasil ekstraksi etanol daun sirih hutan mengandung beberapa kandungan senyawa aktif seperti saponin, tannin, flavonoid, fenol, dan minyak atsiri.

Kandungan tersebut dapat membantu proses penyembuhan luka dengan mekanisme seluler yang berbeda-beda, yaitu sebagai antiinflamasi, antimikroba, dan antioksidan (Reza *et al.*, 2014). Oleh karena itu, daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) dapat digunakan sebagai alternatif obat herbal untuk terapi luka bakar. Efektivitas dan kenyamanan dalam penggunaan ekstrak etanol daun sirih hutan pada kulit dapat ditingkatkan dengan membuat sediaan dalam bentuk salep.

Sediaan salep dipilih karena memiliki sejumlah manfaat, antara lain perlindungan terhadap iritasi mekanis, termal, dan kimia, stabilitas penggunaan dan penyimpanan, kemudahan penggunaan, dan pemerataan distribusi yang mudah. Ini juga memiliki efek anti-inflamasi pada peradangan akut yang dapat menenangkan dan bertindak sebagai vasokonstriksi (Zulfa *et al.*, 2017).

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan uji efektivitas salep ekstrak etanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) terhadap penyembuhan luka bakar pada mencit putih jantan, hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa kelompok mencit diberikan ekstrak etanol daun sirih hutan dengan konsentrasi 15% mempunyai efek yang lebih bagus dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Hal tersebut berkaitan mengenai adanya metabolit-metabolit sekunder tanaman daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) yang berkhasiat sebagai obat, seperti

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

Mengeksplorasi lebih lanjut kandungan daun sirih hutan yang berperan terhadap penyembuhan luka bakar lebih efektif, maka penelitian ini dikembangkan ke tahap fraksinasi. Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa berdasarkan tingkat kepolaran. Tujuan fraksi etil asetat adalah untuk menarik senyawa aktif yang bersifat semi polar yaitu flavanoid sebagai pengobatan luka bakar pada mencit putih jantan. Pengembangan fraksinasi menggunakan pelarut etil asetat dibuat dalam bentuk salep berpotensi dapat membantu proses pengobatan luka bakar dengan konsentrasi 15% dan memberikan efek yang lebih baik, dengan parameter persentase penyembuhan, pengujian waktu epitelisasi dan histopatologi.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah salep fraksi etil asetat daun sirih hutan (*Piper adnucum* L.) efektif konsentrasi 15% terhadap penyembuhan luka bakar pada mencit putih jantan.
2. Apakah lama pemberian salep fraksi etil asetat daun sirih hutan (*Piper adnucum* L.) konsentrasi 15% mempengaruhi efektivitas terhadap penyembuhan luka bakar pada mencit putih jantan.

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui efektifitas pemberian salep fraksi etil asetat daun sirih hutan (*Piper adnucum* L.) konsentrasi 15% terhadap penyembuhan luka bakar.

2. Untuk mengetahui lama pemberian salep fraksi etil asetat konsentrasi 15% terhadap penyembuhan luka bakar.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang aktivitas daun sirih hutan (*Piper aduncum L.*) dan penggunaannya sebagai obat luar untuk penyembuhan luka bakar.
2. Ditinjau dari segi akademik, penelitian ini bermanfaat untuk pengembangan ilmu pengetahuan dan wawasan dibidang farmasetika dan farmakologi dari daun sirih hutan (*Piper aduncum L.*).

1.5 Hipotesis Penelitian

1. H_0 = Salep fraksi etil asetat daun sirih hutan (*Piper aduncum L.*) konsentrasi 15% tidak efektif terhadap penyembuhan luka bakar pada mencit putih jantan.

H_1 = Salep fraksi etil asetat daun sirih hutan (*Piper aduncum L.*) konsentrasi 15% efektif terhadap penyembuhan luka bakar pada mencit putih jantan.

2. H_0 = Lama pemberian salep fraksi etil asetat daun sirih hutan (*Piper aduncum L.*) konsentrasi 15% tidak mempengaruhi efektivitas penyembuhan luka bakar pada mencit putih jantan.

H_1 = Lama pemberian salep fraksi etil asetat daun sirih hutan (*Piper aduncum L.*) konsentrasi 15% mempengaruhi efektivitas penyembuhan luka bakar pada mencit putih jantan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Biologi Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.)

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

Kingdom : Plantae

Filum : Angiospermae

Kelas : Magnoliidae

Ordo : Piperalis

Famili : Piperaceae

Genus : Piper

Spesies : *Piper aduncum* L.



Gambar 1. Tanaman Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.)

Sumber: Dokumentasi pribadi

2.1.2 Morfologi Sirih Hutan

Sirih hutan merupakan tanaman perdu, memiliki ciri-ciri seperti berakar tunggang dan berwarna putih kecoklatan, batang berkayu, batang utama dengan cabang sulit d bedakan. Daun berbentuk oval meruncing, pangkal membulat, tepi daun rata setiap buku, permukaan dan tangkai daun berbulu halus, silinder 5-10 mm, panjang daun 20-14 cm, lebar 5-6 cm, pertulangan menyirip dan saat masih

muda daun kuning kehijauan, setelah tua hijau. Bunga majemuk, bentuk bulir, serta mempunyai daun pelindung yang bertangkai 0,5-1,25 mm dan melengkung (Amalia, 2014).

2.1.3 Habitat Sirih Hutan

Tumbuhan piper tersebar luas, khususnya dikawasan tropis dan subtropis. Dimana termasuk anggota suku Piperaceae dapat tumbuh mulai dari kawasan pantai sampai dengan ketinggian sekitar 2.000 mdpl. Hidup di tempat yang lembab dan kaya akan humus merupakan habitat alami untuk anggota suku Piperaceae (Purnomo, 2000).

2.1.4 Penyebaran Genus

Tumbuhan sirih hutan (*Piper aduncum* L.) merupakan jenis tumbuhan tropis yang tumbuh alami di daerah Meksiko Selatan sampai kepulauan Karibia, dan juga ditemukan tumbuh di daerah Amerika Selatan (Taylor, 2006).

2.1.5 Kandungan kimia

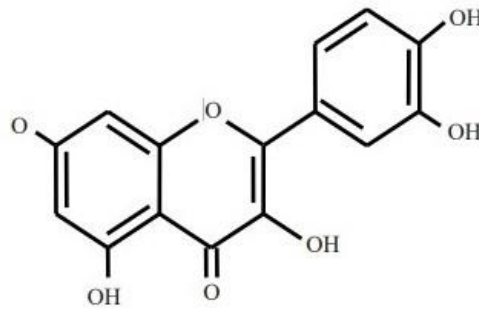
Arneti (2012) menunjukkan bahwa hasil ekstraksi bertingkat yang dilakukan dengan ekstrak heksana, yaitu pada sirih hutan mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti, alkaloid, flavanoid, fenolik, triterpenoid, steroid, saponin dan kumarin, adapun hasil penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak tanaman sirih hutan (*Piper aduncum* L.) memiliki kandungan senyawa kimia organik dillapiole hingga mencapai 84-85% (Negreiros dkk., 2015).

2.2 Tinjauan Kimia

2.2.1 Flavonoid

Salah satu golongan fenol alam yang terbesar adalah flavanoid, dimana merupakan senyawa metabolit sekunder yang tersebar merata pada tumbuhan dan

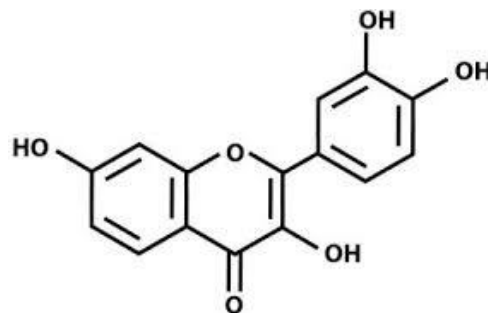
memiliki efek bioaktif seperti anti virus, anti inflamasi (Tian-Yang *dkk.*,2018). Aglikon flavonoid memiliki berbagai bentuk struktur yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6 yaitu dua cincin aromatik dihubungkan oleh satuan 3 karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga.



Gambar 2.Struktur senyawa dasar flavonoid(Redha,2010)

Menurut Anggraini (2008) flavonoid mampu mencegah kekakuan dan nyeri karena sifat anti-inflamasinya, juga berfungsi sebagai antibakteri yaitu dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri.

2.2.2 Terpenoid

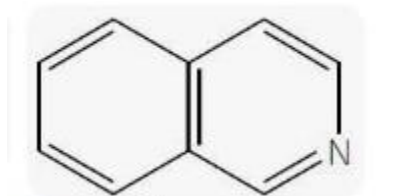


Gambar 3. Senyawa terpenoid (Lenny, 2006)

Terpenoid merupakan metabolit sekunder yang memiliki komponen penyusun seperti minyak atsiri, resin dan mempunyai aktivitas biologi. Menurut (Roumondang, 2013) terpenoid aktif melawan bakteri, sel kanker, produksi

kolesterol, peradangan, masalah menstruasi, gangguan kulit, melawan kerusakan hati, dan malaria.

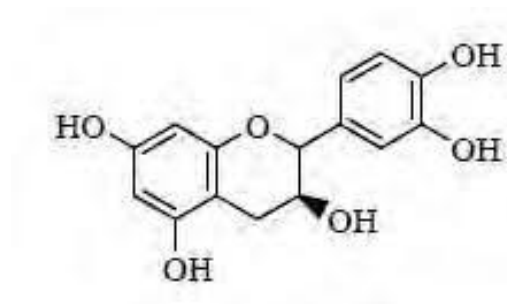
2.2.3 Alkaloid



Gambar 4. Struktur senyawa alkaloid (Saifudin, 2002)

Senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam yaitu golongan alkaloid. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Dimana biasanya bersifat basa dan sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Saifudin, 2002).

2.2.4 Tanin



Gambar 5. Struktur Inti Tanin (Sibuea, 2015)

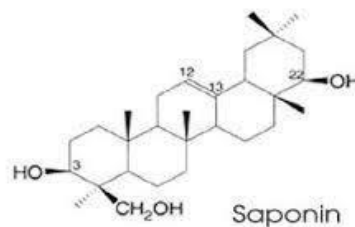
Tanin adalah senyawa organik yang terdiri dari campuran senyawaan polifenol kompleks, dibangun dari elemen C, H dan O serta sering membentuk molekul besar dengan berat molekul lebih besar dari 2000. Tanin adalah suatu senyawa polifenol dan dari struktur kimianya dapat digolongkan menjadi dua macam, yaitu tanin terkondensasi dan tanin tak terkondensasi (Pambayun dkk.,2007). Ekstrak dari tanin tidak dapat murni 100%, karena selain terdiri dari

tanin ada juga zat non tanin seperti glukosa dan hidrokoloid yang memiliki berat molekul tinggi (Nurhasanah, 2001).

Semua jenis tanaman hijau, termasuk tanaman tinggi dan rendah dengan berbagai jumlah dan karakteristik, mengandung tanin. Mayoritas flavonoid biosintesis (yang membentuk sekitar 2% dari karbon yang digunakan tanaman untuk berfotosintesis) diubah menjadi tanin, menjadikannya salah satu fenol terhidrolisis terbesar di alam.

Tanin terkondensasi dan tanin yang mudah dihidrolisis adalah dua kategori tanin. Polimer galat dan asam ellagic, yang menghubungkan ester dengan molekul gula, adalah tanin yang mudah dihidrolisis, sedangkan tanin terkondensasi adalah polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon-karbon dalam bentuk catechin dan gallo catechin. (Patra dan Saxena, 2010).

2.2.5 Saponin



Gambar 6. Struktur dasar saponin (Irianty *dkk.*, 2014)

Saponin dibagi menjadi dua kelas utama yaitu triterpenoid dan steroid glikosida dimana karakterisasi struktur mereka bervariasi menurut jumlah unit gula terpasang pada posisi yang berbeda (Augustin *dkk.*, 2011).

Saponin merupakan metabolit sekunder yang didistribusikan pada tumbuhan, dimana berguna sebagai penghalang kimia pada sistem pertahanan

tanaman untuk melawan patogen dan herbivora. Saponin memiliki berfungsi sebagai antibakteri atau antimikroba, antiinflamasi, antijamur, antiparasit, antitumor, dan antivirus (Cheok *dkk.*, 2014).

2.3 Tinjauan Farmakologi Sirih Hutan

Manfaat daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) telah diketahui oleh masyarakat yaitu untuk penyembuhan luka, menghentikan muntah, mengurangi mual, melancarkan pencernaan, sebagai antiseptik, membunuh bakteri dan jamur serta virus yang sudah dikenal oleh masyarakat (Gholib D, 2009).

Selain itu, daun sirih hutan memiliki efek kekebalan tubuh, mencegah ejakulasi prematur, mematikan jamur *Candida albicans*, anti kejang, analgesik, anestetik, pereda kejang pada otot polos, penekan penggali gerak, pelindung hati, dan antidiare (Kinho *dkk.*, 2011).

2.4 Tinjauan Farmasetik

Berdasarkan penelitian (Mamood *dkk.*, 2016) melakukan formulasi minyak atsiri *Piper aduncum* Linnaeus (Piperales: Piperaceae) yang berfungsi sebagai pengusir serangga. (Alea *dkk.*, 2019) melakukan formulai ekstrak daun sirih hutan sebagai antibakteri dalam bentuk sediaan sabun cair tangan.

2.5 Tinjauan Umum

2.5.1 Ekstrak

Ekstrak diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simpilsia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang cocok sampai berbentuk sediaan kental, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan masa atau serbuk yang tersisa diperlukan sedemikian sampai memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes, 2000).

2.5.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Ketika konsentrasi bahan kimia dalam pelarut dan konsentrasi dalam sel tanaman berada pada kesetimbangan, proses ekstraksi dihentikan. Setelah ekstraksi, filtrasi digunakan untuk memisahkan pelarut dari sampel. Untuk mengisolasi satu komponen, ekstrak pertama sulit dipisahkan menggunakan proses pemisahan tunggal. Akibatnya, perlu untuk membagi ekstrak asli menjadi fraksi dengan polaritas dan ukuran molekul yang sama. (Mukhrani,2014).

2.5.3 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 dengan proses ini senyawa yang akan dipisahkan berdasarkan kepolarannya.

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 (Mutiasari, 2012). Tujuan umum fraksinasi adalah untuk menyederhanakan komposisi dan homogenitas sifat zat sehingga lebih mudah dimurnikan atau diisolasi menjadi senyawa tunggal atau zat murni (Harbone,1987).

2.6 Kulit

2.6.1 Definisi Kulit

Bagian terluar tubuh yang secara langsung bersinggungan dengan lingkungan disebut dengan kulit (Tong *et al.*, 2015). Dimana kulit memiliki berat rata-rata 4 kg dan meliputi area seluas 2m². Kulit sendiri berperan sebagai pembatas, melindungi tubuh dari lingkungan luar dan mencegah hilangnya zat-zat tubuh yang penting, terutama air (Weller *et al.*, 2015).

Kulit memiliki tugas dan fungsi untuk meningkatkan kesehatan manusia secara keseluruhan, yang meliputi (Winda Afrian, 2016), yaitu:

- a. Perlindungan fisik (terhadap gaya mekanik, sinar ultraviolet, bahan kimia)
- b. Perlindungan imunologi
- c. Ekskresi
- d. Pengindra
- e. Pengaturan suhu tubuh

2.6.2 Anatomi Kulit

Kulit memiliki 3 lapisan(Eroschenko, 2012) yaitu:

a. Lapisan Epidermis

Lapisan eperdermis adalah lapisan kulit dinamis, senantiasa beregenerasi, berespon terhadap ransangan diluar maupun dalam tubuh manusia. Ketebalan epidermis berbeda-beda pada berbagai bagian tubuh, yang paling tebal berukuran 1 mm, misalnya pada telapak kaki dan telapak tangan, dan lapisan yang tipis berukuran 0,1 mm terdapat pada kelopak mata, pipi, dahi, dan perut. Sel-sel epidermis disebut keratinosit. Lapisan Epidermis terdiri dari 5 (lima) lapisan yaitu:

1. Stratum Korneum (lapisan tanduk)

Stratum korneum merupakan lapisan kulit paling luar terdiri atas beberapa lapis sel yang pipih, mati, tidak memiliki inti, tidak mengalami proses metabolisme, tidak berwarna, dan sangat sedikit mengandung air. Lapisan ini sebagian besar terdiri atas keratin, jenis protein yang tidak larut dalam air, dan sangat resisten terhadap bahan-bahan kimia. Hal ini berkaitan dengan fungsi kulit untuk memproteksi tubuh dari pengaruh luar. Secara alami, sel-sel yang sudah mati di permukaan kulit akan melepaskan 6 diri untuk beregenerasi. Permukaan stratum korneum dilapisi oleh suatu lapisan pelindung lembab tipis yang bersifat asam, disebut mantel asam kulit (Eroschenko, 2012).

2. Stratum Lucidum

Stratum lucidum terletak tepat di bawah stratum korneum, merupakan lapisan yang tipis, jernih, mengandung eleidin. Antara stratum lucidum dan stratum granulosum terdapat lapisan keratin tipis yang disebut rein's barrier (Szakall) yang tidak bisa ditembus.

3. Stratum Granulosum

Stratum tersusun oleh sel-sel keratinosit yang berbentuk poligonal, berbutir kasar, berinti mengerut. Di dalam butir keratohyalin terdapat bahan logam, khususnya tembaga yang menjadi katalisator proses pertandukan kulit.

4. Stratum Spinosum (lapisan malphigi)

Stratum Spinosum memiliki sel yang berbentuk kubus dan seperti berduri. Intinya besar dan oval. Setiap sel berisi filamen-filamen kecil yang terdiri atas serabut protein. Cairan limfe masih ditemukan mengitari sel-sel dalam lapisan malphigi ini.

5. Stratum Germinativum

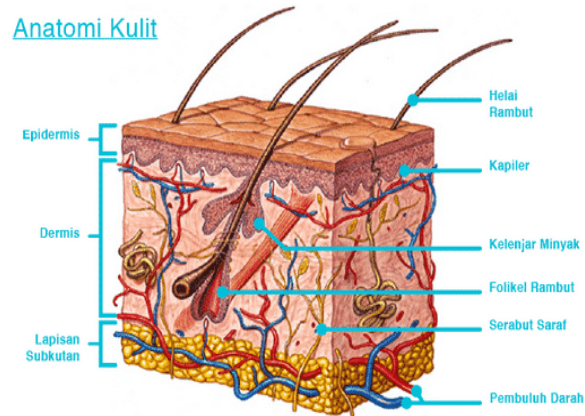
Stratum Germinativum adalah lapisan terbawah epidermis. Di dalam stratum germinativum juga terdapat sel-sel melanosit, yaitu sel-sel yang tidak mengalami keratinisasi dan fungsinya hanya membentuk pigmen melanin dan memberikannya kepada sel-sel keratinosit melalui dendrit-dendritnya. Satu sel melanosit melayani sekitar 36 sel keratinosit. Kesatuan ini diberi nama unit melanin epidermal.

b. Lapisan Dermis

Terdiri dari bahan dasar serabut kolagen dan elastin yang berada di dalam substansi dasar yang bersifat koloid dan terbuat dari gelatin mukopolisakarida. Serabut kolagen dapat mencapai 72% dari keseluruhan berat kulit manusia bebas lemak. Di dalam dermis terdapat adneksa-adneksa kulit seperti folikel rambut, papila rambut, kelenjar keringat, saluran keringat, kelenjar sebacea, otot penegak rambut, ujung pembuluh darah dan ujung saraf, juga sebagian serabut lemak yang terdapat pada lapisan lemak bawah kulit (Eroschenko, 2012).

c. Hipodermis atau Subkutis

Hipodermis atau lapisan subkutis (tela subcutanea) terdiri dari jaringan ikat dan jaringan adiposa yang membentuk fasia superficial yang tampak secara anatomis. Hipodermis ini terdiri dari sel-sel lemak, ujung saraf tepi, pembuluh darah dan pembuluh getah bening, lapisan hipodermis ini memiliki fungsi sebagai penahan terhadap benturan ke organ tubuh bagian dalam, memberi bentuk pada tubuh, mempertahankan suhu tubuh dan sebagai tempat penyimpanan cadangan makanan (Eroschenko, 2012).



Gambar 7. Penampang anatomi kulit (Mescher AL,2010)

2.7 Tinjauan Umum Luka

2.7.1 Pengertian Luka

Luka adalah rusaknya struktur dan fungsi anatomis kulit normal akibat proses patalogis yang berasal dari internal dan eksternal yang mengenai organ tertentu. Luka dapat diartikan tidak rusak atau terputusnya keutuhan jaringan yang di sebabkan cara fisik atau mekanik, diantaranya trauma benda tajam atau tumpul, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik, gigitan hewan dan lain-lain. Luka dapat berdarah maupun tidak. Luka dapat menimbulkan kejadian infeksi ataupun merupakan alat mentrasfer suatu penyakit dari yang sehat menjadi terinfeksi(Potter & Perry, 2006).

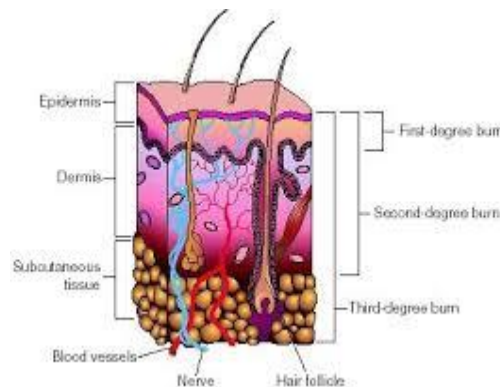
2.7.2Pengertian Luka Bakar

Menurut Noer dan Saputro(2006) luka bakar adalah luka yang terjadi akibat sentuhan permukaan tubuh dengan benda-benda yang menghasilkan panas baik kontak secara langsung maupun tidak langsung. Kulit dengan luka bakar akan mengalami kerusakan pada epidermis, dermis maupun jaringan sebkutan tergantung faktor penyebab dan lamanya kulit kontak dengan sumber panas atau

penyebabnya. Kedalaman luka bakar dapat mempengaruhi kerusakan atau gangguan integritas dan kematian sel (Effendi, 1999).

Luka bakar berada di peringkat keempat dalam semua cedera dan mempengaruhi tidak hanya kulit tetapi seluruh tubuh sesuai dengan kedalaman dan ekstensinya (Busuioc et al, 2013).

2.7.3 Klasifikasi Luka Bakar



Gambar 8. Derajat Kedalaman luka bakar (JongW,2005)

Kedalaman luka bakar ditentukan oleh tingginya suhu dan lamanya pajanan tingginya suhu Luka bakar dibedakan atas beberapa jenis (Moenadjat, 2003), yaitu:

1. Luka bakar derajat I

Luka bakar derajat I kerusakan terbatas pada bagian superfisial epidermis, kulit kering, hipermik memberikan efloresensi berupa eritema, tidak melepuh, nyeri karena ujung saraf sensorik teriritasi. Penyembuhan 5-10 hari. Contohnya luka bakar akibat sengatan matahari.

2. Luka bakar derajat II

Kerusakan meliputi epidermis dan sebagian dermis, berupa reaksi inflamasi akut disertai proses eksudasi, melepuh, dasar luka berwarna merah atau pucat, terletak lebih tinggi di atas permukaan kulit normal, nyeri karena ujung-

ujung saraf teriritasi. Luka bakar derajat II dibedakan menjadi dua: Derajat II dangkal (superficial) yaitu kerusakan yang mengenai bagian superficial dari dermis, appendises kulit seperti folikel rambut, kelenjar keringat. Penyembuhan dalam waktu 10-14 hari. Derajat II dalam (deep) yaitu kerusakan yang mengenai hampir seluruh bagian dermis, appendises kulit, kelenjar keringat, kelenjar sebacea. Penyembuhan terjadi dalam waktu >1 bulan.

3. Luka bakar derajat III

Kerusakan meliputi seluruh ketebalan dermis dan lapisan yang lebih dalam, appendises kulit seperti folikel rambut, kelenjar keringat, kelenjar sebacea rusak, sudah ada pelepasan, kulit berwarna abu-abu atau coklat, kering, letaknya lebih rendah dibandingkan kulit sekitar karena koagulasi protein pada lapisan epidermis dan dermis, tidak timbul rasa nyeri. Penyembuhan lama karena tidak ada proses epitelisasi spontan.

2.7.4 Fase Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka dapat dibagi menjadi 3 fase:

1. Fase inflamasi (Reaksi)

Fase inflamasi merupakan reaksi tubuh terhadap luka yang dimulai setelah beberapa menit dan berlangsung sekitar 3 hari setelah cedera. Selama waktu itu luka menunjukkan tanda-tanda peradangan seperti kemerahan(rubor), panas(kalor), bengkak(tumor), dan nyeri(dolor). Menghentikan pendarahan dan membersihkan daerah di sekitar luka benda asing adalah tujuan dari fase ini. Sel-sel mati dan bakteri yang dihapus untuk mendapatkan proses penyembuhan dimulai. Setelah cedera, arteri darah yang dipotong melewati pembatasan dan

retraksi bersama dengan respons hemostasis yang disebabkan oleh agregasi trombosit, yang digabungkan dengan darah gumpalan fibrin..

2. Fase proliferasi (Regenerasi)

Fase proliferasi ditandai dengan munculnya pembuluh darah baru sebagai hasil rekonstruksi, fase proliferasi terjadi dalam waktu 3-24 hari. Fibroblas memiliki fungsi yang signifikan dalam proses perbaikan luka. Setelah luka berkembang, fibroblas secara aktif melakukan perjalanan dari jaringan sekitarnya ke daerah luka, di mana mereka tumbuh (berkembang biak), melepaskan berbagai bahan kimia (fibronectin, asam hialuronat, kolagen, dan elastin), dan membantu menciptakan (membangun kembali) jaringan baru.

Fase proliferasi ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi pada luka. Jaringan granulasi merupakan kombinasi dari elemen seluler termasuk *fibroblast* dan sel inflamasi yang bersamaan dengan timbulnya kapiler baru tertanam dalam jaringan longgar ekstra seluler dari matriks kolagen, fibronectin dan asam hialuronik. Luka dipenuhi oleh sel radang, fibroblas, dan kolagen membentuk jaringan berwarna kemerahan dengan permukaan yang benjol halus.

3. Fase maturasi (*Remodeling*)

Fase maturasi berlangsung mulai hari ke-24 hingga sekitar 1 tahun yang bertujuan untuk memaksimalkan kekuatan dan integritas struktural jaringan baru mengisi luka, pertumbuhan epitel dan pembentukan jaringan parut. Pada fase ini terjadi kontraksi dari luka dan remodeling kolagen. Kontraksi luka terjadi akibat aktivitas fibroblas, lalu menghasilkan kolagen yang akan menautkan luka dan juga akan mempengaruhi proses re-epitelisasi yang akan menutup luka.

2.7.5 Terapi Farmakologi Luka Bakar

Tergantung pada sifat dan ukuran luka, resusitasi cairan dapat dilakukan untuk membantu keadaan luka bakar membaik setelah perawatan. Untuk mengurangi rasa sakit yang mulai berkurang, penutupan luka diusahakan semaksimal mungkin untuk membuat pasien nyaman. Jenis penutupan luka yang digunakan tergantung pada derajat luka seperti:

Luka bakar derajat I

- Ditandai dengan sedikit hilangnya barier pertahanan kulit. Luka seperti ini merupakan luka ringan tidak perlu di balut. Cukup dengan pemberian salep antibiotik untuk mengurangi rasa sakit dan melembabkan kulit. Bila perlu dapat diberi NSAID (Ibuprofen, Acetaminophen) untuk mengatasi rasa sakit dan pembengkakan.
- Cukup dengan pemberian salep antibiotik seperti: salep Nebacetin, Betadin antiseptik ointment, Bioplacenton jelly, Salep burnazin, Mebo ointment yang dapat mengurangi rasa sakit dan pembengkakan.

Luka bakar derajat II (superfisial)

- Perawatan dengan diolesi salep antibiotik luka setiap harinya dibalut dengan perban katun dan dibalut lagi dengan perban elastik. Pilihan lain luka dapat ditutup dengan penutupan sementara yang terbuat bahan alami (Xenograft (pig skin) atau Allograft (homograft, cadaver skin) atau bahan sintetis (opside, biobrane, trancyte, integra).

Luka derajat II (dalam) dan luka derajat III,

- Terjadinya luka memudahkan timbulnya koloni bakteri atau jamur pada luka akibat hilangnya barier kulit pertahanan kulit sehingga. Bila jumlah

kuman sudah mencapai 10⁵ organisme jaringan, kuman tersebut dapat menembus ke dalam jaringan yang lebih dalam kemudian menginvasi ke pembuluh darah dan mengakibatkan infeksi sistemik yang dapat menyebabkan kematian. Pemberian anti mikroba ini dapat secara topikal atau sistemik. Pemberian topikal dapat dalam bentuk salep atau cairan untuk merendam. Contoh antibiotik yang sering dipakai Silver sulfadiazine, Mafenid acetate, Povidone-iodone, Bacitracin (biasanya untuk luka bakar grade I), Nebacetin, Neomycin, Polymyxin B, Nystatin, Mupirocin, Mebo.

2.7.6 Kolagen

Kolagen merupakan senyawa protein dalam bentuk serat, produksi kolagen adalah salah satu ciri yang membedakan penyembuhan luka dan merupakan bagian penting dari tahap proliferasi. Komponen penting dari jaringan ikat yang diperlukan untuk penyembuhan luka, penciptaan jaringan parut, dan produksi matriks tulang (Triyono,2005).

Peranan kolagen dalam proses penyembuhan luka yaitu sebagai agent hemostatik yang sangat efisien, dikarenakan trombosit melekat pada kolagen, membengkak dan melepaskan substansi yang memulai proses hemostatis. kemampuan hemostatis kolagen atau agen pertahanan pendarahan merupakan aksi pertama dalam penyembuhan luka (Novriansyah, 2008).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian yang telah dilaksanakan selama $\pm$ 6 bulan dari bulan Januari-Juni 2023 di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Farmasetika Universitas Perintis Indonesia Yayasan Perintis Padang dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kaca arloji, cawan penguap, botol semprot, corong, timbangan digital, lemari pendingin, botol maserasi, *rotary evaporator*, furnes, pipet tetes, batang pengaduk, pinset, spatel, gunting bedah, penangas air, hot plate, api bebas, silinder logam, kain kasa, mortir, stamper, sudip, jangka sorong, krus porselin, pipet mikro, incubator, micotrom, teaching mikroskop, kain flanel atau kapas, kertas *xylon*, object glass, kaca penutup, oven slide, blok parrafin.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.), etanol 96% kloro form, eter, FeCl_3 , serbuk Mg, norit, asam asetat anhidrat, H_2SO_4 2N, H_2SO_4 (p), HCl (p), etil asetat, n-heksan, aquadest, krim perontok bulu, formalin 10%, formalin buffer fosfat 10%, alkohol 70, 96%, eter, kapas, etanol 96%, toluene, parrafin liquidum murni, pewarnaan HE, xylol, vaselin flavum, 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, Sumatera Barat.

3.3.2 Indetifikasi Sampel

Indetifikasi sampel dilakukan di Hebarium Universitas Andalas Jurusan Biologi Fakultas FMIPA, Universitas Andalas.

3.3.3 Pembuatan Ekstrak

Daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) sebanyak 4 kg dicuci bersih pada air mengalir, lalu ditiriskan. Lalu daun dirajang hingga berukuran kecil. Simplisia daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.). masukkan ke dalam botol maserasi dan ditambahkan etanol 96% dan ditutup rapat serta terhindar dari cahaya matahari langsung. Proses perendaman selama 24 jam, selama 6 jam pertama direndam sambil sekali-sekali diaduk, lalu diamkan selama 18 jam, Pisahkan maserat dengan cara filtrasi menggunakan kain flanel atau kapas, diulangi proses penyarian sebanyak 2 x dengan jenis dan pelarut yang sama. Dikumpulkan semua maserat, lalu dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai 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 serta air pembanding (1:1) sebanyak 100 ml ke dalam corong pisah 250 ml, kemudian dikocok selama 30 menit, setelah di kocok diamkan dan tunggu hingga tampak dua lapisan yaitu lapisan n-heksan dan

lapisan air. Ambil lapisan atas n-heksan pada bagian atas, kemudian ulangi beberapa kali hingga lapisan n-heksan tampak jernih.

Setelah itu ambil lapisan air pada n-heksan lalu difraksinasi dengan etil asetat 100 ml dalam corong pisah 250 ml, lalu dikocok dan diamkan selama 30 menit. Lakukan 2-3 kali pengulangan hingga tampak lapisan etil asetat yang bening. Hasil fraksi etil asetat kemudian dipekatkan dengan vacum rotary evaporator pada suhu 50°C hingga diperoleh fraksi kental (No *et al.*, 2016).

3.3.5 Evaluasi Fraksi

a. Pemeriksaan Organoleptis

Pengamatan dilakukan secara visual dengan mengamati bentuk, bau, rasa dan warna.

b. Penentuan Rendemen

Rendemen dihitung dengan cara membandingkan berat fraksi yang diperoleh dengan berat ekstrak yang digunakan.

Hitung rendemen dengan rumus:

$$\text{rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat fraksi yang diperoleh}}{\text{Berat ekstrak yang digunakan}} \times 100\%$$

c. Pemeriksaan Susut Pengeringan

Keringkan krus porselen dan tutupnya didalam oven suhu 105°C selama 30 menit dan dibiarkan dingin, lalu ditimbang beratnya. Masukkan fraksi kedalam krus tersebut hingga beratnya 1 gram diluar berat krus dan penutup yang telah diketahui sebelumnya. Dengan perlahan digoyang krus agar fraksi merata dan masukkan kembali kedalam oven, buka tutupnya dan biarkan tutupnya tetap berada di dalam

oven. Krus yang telah berisi fraksi dipanaskan dalam oven dengan suhu 105⁰C selama 1 jam. Setelah itu, krus dikeluarkan dan didinginkan dalam desikator, lalu ditimbang. Lakukan pengulangan seperti cara di atas hingga diperoleh berat yang tetap.

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

Keterangan: A = Berat krus kosong

B = Berat krus + sebelum sampel dipanaskan

C = Berat krus + setelah sampel dipanaskan

d. Pemeriksaan Kadar Abu

Fraksi daun sirih hutanditimbang sebanyak 2 gram, dimasukkan kedalam krus yang telah dipijarkan dan ditara, kemudian diratakan. Di pijar perlahan-lahan sampai arang habis, lalu didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Setelah itu arang tersebut dimasukkan dalam furnes selama 5 jam pada suhu 600⁰C, sampai terbentuk abu, dinginkan dalam desikator timbang berat abu yang diperoleh. Kadar abu dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{C-A}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan : A = Berat krus porselin kosong

B = Berat krus + sampel sebelum dipijarkan

C = Berat krus + sampel setelah dipijarkan

3.3.6 Uji Kandungan Kimia Fraksi Daun Sirih Hutan

a. Lapisan Air

1. Uji flavonoid

Tetesi plat tetes 1-2 tetes lapisan air, tambahkan sedikit serbuk logam Mg dan beberapa tetes HCl(p), timbulnya warna kuning-orange sampai merah menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

2. Uji fenolik

Pada plat tetes sampel ditetesi 1-2 tetes pereaksi FeCl₃, apabila terbentuknya warna biru menunjukan adanya fenolik.

3. Uji saponin

Lapisan air dimasukkan dalam tabung reaksi lalu kocok, diamkan 15 – 20 menit. Jika terdapat busa stabil selama 10 menit menunjukan sampel mengandung saponin(Rahmadani *et al.*, 2021).

b. Lapisan kloroform

1. Uji terpenoid dan steroid

Lapisan kloroform disaring dengan norit hasil saringan di pipet 2-3 tetes lalu ditambahkan asam asetat anhidrat dan H₂SO₄(p), menandakan adanya terpenoid ditandai dengan terbentuk warna merah. Adanya steroid ditandai dengan terbentuk warna biru.

2. Uji alkaloid

Ambil fraksi etil asetat tambahietanol 96%, lalu ditambahkan HCl 2N dan dipanaskan. Dinginkan campuran dan disaring. Tambahi reagen mayer ke dalam filtrat. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya warna keruh atau adanya endapan (Rahmadani *et al.*, 2021).

3.4 Pembuatan Salep Fraksi Etil Asetat Daun Sirih Hutan

Sediaan salep yang akan dibuat dengan fraksi konsentrasi 15% sebanyak 10g.

Tabel 1. Pembuatan Salep Fraksi Etil Asetat Daun Sirih Hutan

Bahan	Konsentrasi
Fraksi etil asetat	15%
Vaselin flavum ad	10 g

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

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

Masukkan fraksi etil asetat daun sirih hutan yang telah ditimbang ke dalam lumpang lalu timbang dasar salep masukkan ke dalam lumpang lalu digerus sampai homogen. Keluarkan dari lumpang, masukkan ke dalam wadah yang disiapkan.

3.5 Prosedur Pelaksanaan

Untuk melihat potensi khasiat fraksi daun sirih hutan dalam penyembuhan luka bakar digunakan model luka bakar (Nayak *dkk*, 2009). Hewan percobaan yang digunakan mencit putih jantan sebanyak 36 ekor tiap kelompok terdiri 12 ekor, dengan berat 20-30 gram berumur 2-3 bulan. Sebelum digunakan mencit terlebih dahulu diaklimatisasi selama 7 hari untuk melihat hewan yang memenuhi syarat. Dimana hewan dikatakan sehat jika selama aklimatisasi tidak menunjukkan penurunan berat badan berarti (deviasi $\leq 10\%$) dan secara visual menunjukkan perilaku yang normal.

3.5.1 Pengelompokkan Hewan Percobaan

Hewan percobaan dibagi atas 3 kelompok yaitu:

- a. Kelompok 1 (Basis) merupakan kelompok mencit yang akan diberi luka tanpa diberikan pengobatan dan hanya dioleskan vaselin flavum.
- b. Kelompok 2 (pembanding) merupakan kelompok mencit yang diberi luka dioleskan sediaan yang beredar yaitu salep T®
- c. Kelompok 3 (Perlakuan) merupakan kelompok mencit yang diberi luka dioleskan sediaan salep fraksi etil asetat daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) konsentrasi 15%.

3.5.2 Pembuatan Luka Bakar

Bulu mencit pada bagian punggung dirontokkan menggunakan krim perontok bulu, lalu mencit dianestesi dengan cara dimasukkan kedalam toples berisi kapas yang telah diberi eter, diamkan selama 1 menit sampai mencit teranestesi. Bagian punggung yang telah dirontokkan bulunya dibersihkan menggunakan alkohol 70%.

Proses pembuatan luka bakar menggunakan lingkaran logam berdiameter 1- 1,5 cm yang dipanaskan dalam air panas sampai suhu 100°C. Kemudian ditempelkan pada bagian punggung mencit selama 20 detik sampai timbul luka bakar berbentuk lingkaran di punggung mencit. Lalu olesi Vaseline flavum, salep T® dan salep fraksi etil asetat konsentrasi 15% diberikan 2 x sehari pada luka yang telah dibuat.

3.5.3 Parameter Yang Diukur Pada Pembuatan Luka Bakar

a) Persentase penyembuhan luka bakar

Persentase luas penyembuhan luka dengan menghitung luas luka pada hari ke-7,14 dan 21 pada masing-masing kelompok. Hitung persentase penyembuhan luka bakar pada dengan rumus :

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

b) Waktu epitelisasi

Waktu yang 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

Dilakukan pengamatan pada serabut kolagen di jaringan luka bakar. Dari tiap kelompok diambil 3 ekor mencit untuk di dekapitasi masing-masing pada hari ke-7,14 dan 21.

1. Prosesing jaringan (Bancroft,2001)

- Pemotongan jaringan basah; jaringan dipotong dengan ketebalan $\pm 4\text{mm}$, dan dimasukkan ke dalam kaset jaringan.
- Fiksasi; fiksasi dengan formalin 10% berbuffer poshpat dengan pH normal (7)
- Dehidrasi bertingkat masing-masing 30 menit dalam larutan dalam larutan etanol 70%, 95% dan 100%
- Clearing dalam larutan Xylene I, dan Xylene II masing masing 30 menit
- Impregnasi dalam parafin cair (paraplast) I, dan II, pada suhu 54°C selama masing masing 1 jam.

- Pemotongan Block dengan retatory microtome dengan ketebalan $\pm 4\mu\text{m}$, kemudian ditempelkan pada kaca objek.

2. **Pewarnaan hematoksilin – eosin (Bancroft,2001)**

- Panaskan slide pada oven 65°C 30 menit
- Rendam slide dalam Xylol (1-3 menit)
- Rehidrasi dengan merendam slide pada larutan alkohol bertingkat dari konsentrasi tinggi ke rendah,
 - ❖ EtOH (etanol alkohol) 100% (2-3 menit)
 - ❖ EtOH (etanol alkohol) 96% (2-3 menit)
 - ❖ EtOH (etanol alkohol) 70% (2-3 menit)
 - ❖ Aquadest 3 menit
 - ❖ Hematoxylin, 5-10 menit
 - ❖ Bilas aquaadest 5-10 menit
 - ❖ Rendam Eosin Y : 3 menit
 - ❖ Bilas dalam alcohol 70% : 3 menit
 - ❖ Dehidrasi dengan merendam slide pada larutan alkohol 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 menggunakan coverslip

3. Pemeriksaan Mikroskopis Sediaan hispatopalogi jaringan Luka Bakar

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

- Kolagen

0 : Tidak tampak serabut kolagen

1 : Serabut kolagen menyebar tipis atau sedikit

2 : Serabut kolagen menyebar sedang dan tanpa kpenyatuan

3 : Serabut kolagen menyebar banyak dan terikat sempurna

- Fibroblast

0 : 0

1 : 5-10 sel

2 : 10-50 sel

3 : > 50 sel

- Epitelisasi

0 : absen

1 : starting

2 : inkompli

3 : kompli

- Inflamasi

0 : berat

1 : sedang

2 : ringan

3 : absen / tidak ada

3.6 Analisis Data

Pada penelitian ini analisis data yang digunakan ialah analisis varian (ANOVA) one-way dan two-way, dimana ANOVA one-way digunakan untuk waktu epitelisasi, sedangkan ANOVA two-way untuk penentuan persentase penyembuhan luka bakar karena pada parameter ini ada satu variabel bebas yang dilihat pada variasi dosis. Kemudian dilanjutkan dengan uji berjarak duncan menggunakan SPSS 26 untuk melihat signifikansi perbedaan rata-rata yang diakibatkan perbedaan perlakuan.