

**UJI AKTIVITAS FRAKSI n-BUTANOL DAUN SISIK
NAGA (*Pyrrosia piloselloides* (L.) M.G. Price)
TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA EKSISI PADA
TIKUS PUTIH JANTAN**

PROPOSAL



Oleh :

LISA
NIM : 1904065

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

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ketika terjadi perlukaan pada kulit, maka akan terjadi proses penyembuhan yang didefinisikan sebagai suatu proses fisiologi yang melibatkan beberapa komponen berupa sel-sel dan substansi kimia (Sorg et al., 2017). Saat ini masyarakat lebih memilih untuk melakukan pengobatan dengan cara memanfaatkan alam. Didukung dari berbagai macam keragaman dan kekayaan bahan alam dari Negara Indonesia terutama yang memiliki potensi besar untuk dapat dikembangkan dan dimanfaatkan secara maksimal (Paju et al., 2013).

Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan untuk mempercepat proses penyembuhan luka adalah tumbuhan sisik naga. Tumbuhan sisik naga merupakan tumbuhan paku-pakuan dengan familia Polypodiaceae yang tumbuh menempel pada pohon inang. Tumbuhan sisik naga mengandung flavonoid yang merupakan senyawa utama dalam tumbuhan yang berkhasiat sebagai antioksidan serta beberapa senyawa lain seperti glikosida, tanin dan steroid. Secara empiris masyarakat menggunakan daun sisik naga sebagai obat untuk radang gusi, sariawan, perdarahan, rematik, TBC dan kanker payudara (Malinda et al., 2013).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Fahmi (2017) diperoleh bahwa kemampuan aktivitas antioksidan dari ekstrak kasar metanol daun sisik naga diperoleh IC₅₀ 9,7 µg/ml dan persen peredaman tertinggi adalah 99,0574%. Hal ini menunjukkan bahwa dengan konsentrasi 9,7 µg/ml, ekstrak daun sisik naga memiliki kemampuan sebagai antioksidan dengan kategori sangat kuat (Fahmi et al., 2017). Dan penelitian yang dilakukan oleh Hasibuan dan Dalimunthe (2016) bahwa kemampuan antioksidan ekstrak daun sisik naga memiliki IC₅₀ sebesar

100,76 µg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa dengan konsentrasi 100,76 µg/ml, ekstrak daun sisik naga memiliki kemampuan sebagai antioksidan dengan kategori sedang (Hasibuan dan Dalimunthe, 2016).

Flavonoid mempunyai sifat antioksidan dengan mengurangi *Reactive Oxygen Species* yang berlebihan, antibakteri, dan dapat meningkatkan kontraksi luka dengan sifat antimikroba dan astringentnya (Kusumawardhani et al., 2016). Senyawa flavonoid memiliki aktivitas farmakologi sebagai antiinflamasi dengan melalui beberapa jalur yaitu dengan penghambatan aktivitas enzim siklooksiginase dan lipooksiginase, penghambatan akumulasi leukosit, penghambatan degranulasi neutrofil, penghambatan pelepasan histamin (Nijveldt et al., 2001).

Selain flavonoid, tumbuhan sisik naga mengandung senyawa tanin yang dapat membantu proses penyembuhan luka karena berfungsi sebagai antioksidan dan antimikroba yang mempengaruhi penyembuhan dan mempercepat epitelisasi. Tanin juga bersifat sebagai antiseptik pada permukaan luka dan bekerja sebagai bakteriostatik. Steroid bersifat sebagai antiinflamasi (Kusumawardhani et al, 2016).

Pada penelitian Zulwinda (2021) bahwa salep ekstrak daun sisik naga secara topikal selama 14 hari dapat mempercepat proses penyembuhan luka eksisi tikus putih jantan dengan konsentrasi 15% (Zulwinda, 2021). Berdasarkan latar belakang, maka peneliti tertarik untuk mengembangkan ke tahap fraksinasi. Peneliti ingin menguji aktivitas fraksi n-butanol daun sisik naga terhadap penyembuhan luka eksisi pada tikus putih jantan dalam sediaan salep.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian salep fraksi n-butanol daun sisik naga memiliki aktivitas terhadap penyembuhan luka eksisi pada tikus putih jantan?

2. Apakah ada pengaruh variasi konsentrasi salep fraksi n-butanol daun sisik naga terhadap penyembuhan luka eksisi pada tikus putih jantan?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian salep fraksi n-butanol daun sisik naga terhadap penyembuhan luka eksisi pada tikus putih jantan.
2. Untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi salep fraksi n-butanol daun sisik naga dalam penyembuhan luka eksisi pada tikus putih jantan.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi lebih lanjut mengenai manfaat pemberian salep fraksi n-butanol.
2. Daun sisik naga untuk penyembuhan luka eksisi pada tikus putih jantan.
3. Sebagai dasar dalam penggunaan daun sisik naga yang memiliki efikasi dalam penyembuhan luka eksisi untuk penelitian yang lebih baik dan lengkap.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Botani Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides* (L.) M.G. Price)



Gambar 1. Daun Sisik Naga (Yuliasmara dan Ardiyani, 2013)

Secara umum, klasifikasi ilmiah dari tumbuhan sisik naga adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Pteridophyta

Kelas : Pteridopsida

Ordo : Polypodiales

Famili : Polypodiaceae

Genus : Drymoglossum

Spesies : *Drymoglossum piloselloides* (L.) Presl

Sinonim : *Pyrrosia piloselloides* (L.) M.G. Price (Laffyanto, 2016).

2.1.1 Nama Daerah Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides* (L.) M.G. Price)

Tumbuhan sisik naga di daerah Sumatera sering disebut picisan, sisik naga, sakat ribu-ribu (Melayu) dan di daerah Jawa populer dengan nama paku duduwitan (Sunda), pakis duwitan (Jawa) (Departemen Kesehatan RI, 1989).

2.1.2 Morfologi Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides* (L.) M.G. Price)

Tumbuhan sisik naga merupakan tumbuhan yang tumbuh di batang dan dahan pohon, akar rimpangnya panjang, kecil, merayap, bersisik, panjang 5-22 cm, dan akar melekat kuat. Daun yang satu dengan yang lainnya tumbuh

dengan jarak yang pendek. Daun bertangkai pendek, tebal, berdaging, berbentuk jorong memanjang, ujung tumpul atau membundar (Utami, 2008).

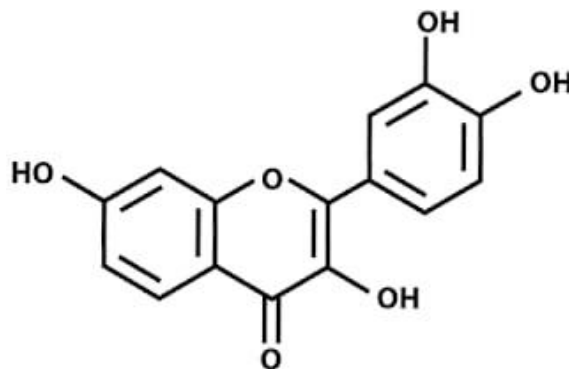
Daun tumbuhan paku ini bulat dan kecil yang menyerupai sisik naga. Daunnya ada 2, yaitu tropofil dan sporofil. Pada jenis yang tropofil, daun berbentuk bulat dan kecil, sedangkan jenis sporofil daunnya lebih panjang dibandingkan tropofil, sporofil juga memiliki sporangium. Sporangium terdapat pada daun fertil (Purnawati et al., 2014). Sisik naga dapat hidup menempel pada pohon mangga, angkana, mahoni, flamboyan, ketapang, palma, nangka, kusambi dan lain sebagainya (Laffyanto, 2016).

2.2 Tinjauan Kimia Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides* (L.) M.G. Price)

Berdasarkan penelitian Zulwinda (2021), tumbuhan sisik naga memiliki kandungan senyawa kimia seperti flavonoid, tanin dan saponin (Zulwinda, 2021).

1. Flavonoid

a. Monografi Flavonoid



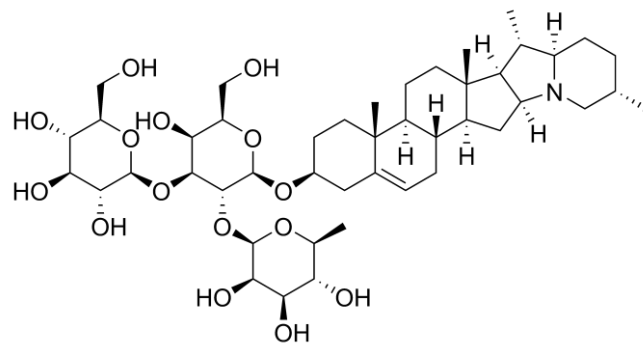
Gambar 2. Struktur Umum Flavonoid (Okunande, 2002)

Flavonoid termasuk kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan.

Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon. Dua cincin benzene (C6) terikat pada suatu rantai propan (C3) sehingga membentuk suatu susunan C6-C3-C6. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis stuktur, yakni 1,3-diarilpropan atau flavonoid, 1-2-diarilpropan atau isoflavonoid dan 1,1-diarilpropan atau neoflavonoid (Okunande, 2002).

2. Tanin

a. Morfologi Tanin

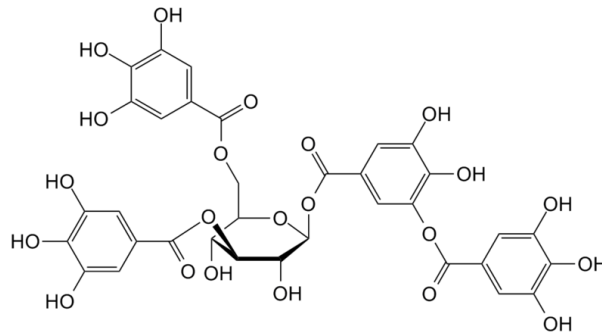


Gambar 3. Struktur Umum Tanin (Irianty et al., 2014)

Tanin dapat dijumpai pada hampir semua jenis tumbuhan hijau di seluruh dunia baik tumbuhan tingkat tinggi maupun tingkat rendah dengan kadar dan kualitas yang berbeda-beda. Tanin adalah senyawa organik yang terdiri dari campuran senyawa 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 terhidrolisis (*hidrolizable tanin*) dan tanin terkondensasi (*condensed tanin*) (Irianty et al., 2014).

3. Saponin

a. Morfologi Saponin



Gambar 4. Struktur Umum Saponin (Augustin et al., 2011)

Saponin adalah metabolit sekunder yang didistribusikan di tumbuhan. Saponin bertindak sebagai penghalang kimia atau perisai pada sistem pertahanan tanaman untuk melawan patogen dan herbivora. 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 et al., 2011).

2.3 Tinjauan Farmakologi Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides* (L.) M.G. Price)

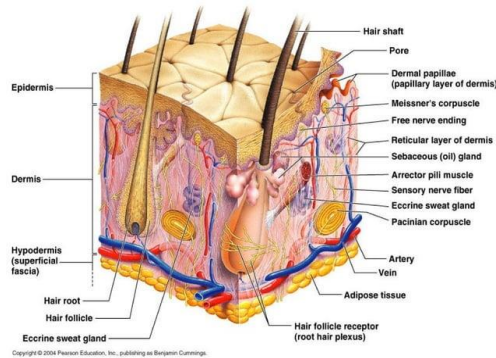
Pada penelitian Zulwinda (2021) bahwa salep ekstrak daun sisik naga secara topikal selama 14 hari dapat mempercepat proses penyembuhan luka eksisi tikus putih jantan dengan konsentrasi 15%. Adanya penyembuhan luka eksisi, diperkirakan karna kandungan dari beberapa senyawa metabolit sekunder diantaranya senyawa flavonoid dan tanin.

2.4 Tinjauan Farmasetik Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides* (L.) M.G. Price)

Tumbuhan sisik naga digunakan masyarakat sebagai obat untuk menyembuhkan radang gusi, sariawan, pendarahan, rematik pada jaringan lunak, TBC paru-paru disertai batuk darah, dan kanker payudara (Hariana,

2006). Sisik naga juga digunakan untuk pengobatan gondongan (parotitis), sakit kuning (jaundice), sakit perut, sembelit, keputihan, pemakaian luar untuk penyakit kulit, seperti kudis dan kurap (Dalimarta, 2000).

2.5 Kulit



Gambar 5. Anatomi Kulit (Perdanakusuma, 2007)

Kulit adalah organ tubuh yang terletak paling luar dan membatasinya dari lingkungan hidup manusia. Luas kulit orang dewasa 1,5 m² dengan berat kira-kira 15% berat badan. Kulit merupakan organ yang esensial dan vital serta merupakan cerminan kesehatan dan kehidupan. Kulit juga sangat kompleks, elastis, dan sensitif (Hamzah dan Aisyah, 2008). Kulit memiliki tiga lapisan yaitu lapisan epidermis, lapisan dermis, dan lapisan hipodermis. (Perdanakusuma, 2007).

1. Epidermis

Epidermis adalah lapisan terluar kulit yang tipis dan avaskuler yang terdiri dari epitel berlapis pipih, bertanduk, mengandung sel melanosit, langerhans dan sel merkel. Fungsi epidermis yaitu sebagai proteksi barier, organisasi sel, sintesis vitamin D dan sitokin, pigmentasi (melanosit) dan pengenalan alergen (sel langerhans), pembelahan dan mobilisasi sel.

2. Dermis

Dermis tersusun oleh sel-sel dalam berbagai bentuk dan keadaan, dermis terutama terdiri dari serabut kolagen dan elastin. Serabut-serabut kolagen menebal dan sintesa kolagen akan berkurang seiring dengan bertambahnya usia. Sedangkan serabut elastin terus meningkat dan menebal, kandungan elastin kulit manusia meningkat kira-kira 5 kali dari fetus sampai dewasa.

3. Hipodermis

Hipodermis atau lapisan subkutan merupakan lapisan dibawah dermis yang terdiri dari lapisan lemak. Lapisan ini terdapat jaringan ikat yang menghubungkan kulit secara longgar dengan jaringan dibawahnya. Jumlah dan ukurannya berbeda-beda menurut daerah tubuh dan keadaan nutrisi individu. Berfungsi menunjang suplai darah ke dermis untuk regenerasi.

2.6 Luka

2.6.1 Pengertian Luka

Luka merupakan kerusakan sel secara anatomi dan fungsi dari suatu jaringan. Hal ini dapat terjadi akibat gangguan mekanik, kimia, suhu, mikroba atau imunologik. Ketika kulit tertusuk, tercabik atau tersayat maka luka yang terbentuk dikatakan luka terbuka sementara luka tertutup seperti luka bakar umumnya disebabkan oleh api, panas, listrik, radiasi, senyawa kimia dan cahaya matahari (Thakur et al., 2011).

2.6.2 Klasifikasi Luka

Luka yang ditimbulkan oleh kecelakaan ataupun oleh operasi sangat beragam bentuknya. Namun demikian, luka dapat diklasifikasikan berdasarkan dua hal utama yaitu berdasarkan proses terjadinya luka (*mechanism of injury*) serta derajat terkontaminasinya suatu luka oleh berbagai mikroorganisme (*degree of contamination*) (Abdurrahmat, 2014).

1. Klasifikasi Berdasarkan *Mechanism of Injury*

Berdasarkan klasifikasi *mechanism of injury*, luka terbagi atas :

- a. Luka sayat (insisi), yaitu jenis luka yang diakibatkan oleh sayatan/irisan benda tajam, misalnya pisau. Jenis luka ini sering menimbulkan rusaknya pembuluh-pembuluh yang cukup besar bila irisannya cukup dalam. Bila keadaan luka aseptis maka luka jenis ini akan segera tertutup setelah sebelumnya terjadi penutupan pembuluh darah dengan meninggalkan bekas berbentuk sutura.
- b. Luka memar, yaitu jenis luka yang diakibatkan oleh benturan tubuh dengan benda tumpul yang akan diikuti oleh kerusakan bagian dalam tubuh yang lunak, kerusakan tulang, pendarahan atau pembengkakan.
- c. Luka terkoyak, yaitu jenis luka yang memiliki kontur tidak menentu bergerigi serta cukup dalam sehingga banyak jaringan tubuh yang rusak. Luka jenis ini disebabkan oleh pecahan kaca atau mata kail.
- d. Luka bocor, yaitu jenis luka yang menimbulkan lubang kecil di permukaan kulit tetapi menembus tubuh cukup dalam, misalnya luka yang ditimbulkan oleh tusukan pisau atau peluru.

- e. Luka gores, yaitu jenis luka yang tidak terlalu dalam tetapi memiliki permukaan luka yang sangat lebar, biasanya terjadi akibat tergoresnya kulit pada permukaan yang kasar. Pada luka jenis ini pembuluh-pembuluh yang rusak hanya yang berada di bagian perifer.
- f. Luka bakar, yaitu jenis luka yang ditimbulkan akibat terbakarnya bagian tubuh. Jenis luka ini dibedakan menjadi luka bakar ketebalan parsial yaitu bila yang terbakar hanya sampai pada jaringan epidermis sedangkan jaringan dermis tetap utuh dan tingkatan di atasnya ialah luka bakar total dimana sebagian dermis ikut terbakar sehingga lebih banyak cairan dan protein tubuh yang hilang.
- g. Luka eksisi, yaitu jenis luka yang ditimbulkan akibat terpotongnya jaringan oleh benda yang tajam.

Selain jenis luka di atas, masih terdapat jenis luka lainnya seperti luka akibat radiasi, luka akibat terkontaminasi bahan-bahan kimia, luka akibat tersengat listrik, luka yang diakibatkan tekanan udara dan lain-lain.

2. Klasifikasi Berdasarkan *Degree of Contamination*

Berdasarkan klasifikasi *degree of contamination*, luka terbagi atas :

- a. *Clean wound* (luka bersih), artinya tidak terdapat infeksi oleh mikroorganisme apapun terhadap luka tersebut. Infeksi pada luka jenis ini hanya berkisar antara 1-5% dan biasanya luka tersebut akan sembuh secara cepat dengan meninggalkan bekas berupa sutura.
- b. *Clean-contaminated wound* (luka bersih terkontaminasi), ialah jenis luka yang hanya terkontaminasi oleh jenis bakteri tertentu yang

biasanya ada pada luka. Infeksi pada luka jenis ini berkisar antara 3-11%.

- c. *Contaminated wound* (luka terkontaminasi), ialah jenis luka yang terbuka, segar, tak disengaja atau luka operasi dengan teknik yang aseptis atau adanya pembukaan pada saluran cerna. Infeksi pada luka jenis ini ialah 10-17%.
- d. *Dirty wound* (luka kotor), ialah jenis luka yang terjadi pada lingkungan yang sudah terkontaminasi oleh berbagai bakteri, termasuk juga luka akibat pelaksanaan operasi di tempat yang tidak steril, misalnya operasi darurat di lapangan. Infeksi pada luka jenis ini ialah lebih dari 27%.

2.6.3 Penyembuhan Luka

Sebagai respon terhadap jaringan yang rusak, tubuh memiliki kemampuan yang luar biasa untuk mengganti jaringan yang hilang, memperbaiki struktur, kekuatan, dan fungsinya. Penyembuhan luka juga dapat melibatkan integrasi proses fisiologis. Sifat penyembuhan pada semua luka sama, dengan variasinya bergantung pada lokasi luka, keparahan luka dan luas cedera. Selain itu, penyembuhan luka dipengaruhi oleh kemampuan sel dan jaringan untuk melakukan regenerasi (Perry dan Potter, 2006).

Ada beberapa fase dalam penyembuhan luka, antara lain :

1. Fase Inflamasi

Fase inflamasi akan berlangsung selama 4-6 hari. Pada proses penyembuhan ini diawali oleh proses hemostatis. Selama proses penyembuhan dengan hemostatis, pembuluh darah yang cedera akan

mengalami konstriksi dan trombosit berkumpul untuk menghentikan perdarahan (Perry dan Potter, 2006). Proses ini memerlukan peranan platelet dan fibrin. Pada pembuluh darah normal, terdapat produk endotel seperti prostacyclin untuk menghambat pembentukan pembekuan darah. Ketika pembuluh darah pecah, proses pembekuan dimulai dari rangsangan kolagen terhadap platelet. Platelet menempel dengan platelet lainnya dimediasi oleh protein fibrinogen dan faktor von Willebrand. Agregasi platelet bersama dengan eritrosit akan menutup kapiler untuk menghentikan pendarahan (Campbell, 2004).

2. Fase Proliferasi

Pada fase ini berlangsung hingga hitungan minggu atau 3-24 hari. Pada pertumbuhan jaringan baru untuk menutup luka utamanya dilakukan melalui aktivasi fibroblast. Fibroblast yang normalnya ditemukan pada jaringan ikat, bermigrasi ke daerah yang luka karena berbagai macam mediator seluler. Fibroblast meletakkan substansi dasar dan serabut-serabut kolagen serta pembuluh darah baru mulai menginfiltrasi luka. Fibroblast bermigrasi ke daerah luka dan mulai berproliferasi hingga jumlahnya lebih dominan dibandingkan sel radang pada daerah tersebut (Campbell, 2004).

3. Fase Pematangan

Fase ini dapat berlangsung selama beberapa minggu. Pada tahap pematangan terjadi proses epitelisasi, kontraksi dan reorganisasi jaringan ikat. Setiap cedera yang mengakibatkan hilangnya kulit, sel epitel pada pinggir luka. Peningkatan kekuatan terjadi secara signifikan pada minggu ketiga

hingga minggu keenam setelah luka. Kekuatan tahanan luka maksimal akan mencapai 90% dari kekuatan kulit normal (Campbell, 2004).

2.6.4 Faktor Yang Mempengaruhi Penyembuhan Luka

1. Usia

Anak dan dewasa penyembuhannya lebih cepat daripada orang tua. Orang tua lebih sering terkena penyakit kronis, penurunan fungsi hati dapat mengganggu sintesis dari faktor pembekuan darah.

2. Nutrisi

Penyembuhan menempatkan penambahan pemakaian pada tubuh. Klien memerlukan diet kaya protein, karbohidrat, lemak, vitamin C dan A, dan mineral seperti Fe, Zn. Klien kurang nutrisi memerlukan waktu untuk memperbaiki status nutrisi mereka setelah pembedahan. Klien yang gemuk meningkatkan resiko infeksi luka dan penyembuhan lama karena suplai darah jaringan adipose tidak adekuat.

3. Infeksi

Infeksi luka menghambat penyembuhan. Bakteri sumber penyebab infeksi. Sirkulasi (hipovolemia) dan oksigenasi sejumlah kondisi fisik dapat mempengaruhi penyembuhan luka. Adanya sejumlah besar lemak subkutan dan jaringan lemak (yang memiliki sedikit pembuluh darah). Pada orang-orang yang gemuk penyembuhan luka lambat karena jaringan lemak lebih sulit menyatu, lebih mudah infeksi, dan lama untuk sembuh. Aliran darah dapat terganggu pada orang dewasa dan pada orang yang menderita gangguan pembuluh darah perifer, hipertensi atau diabetes mellitus. Oksigenasi jaringan menurun pada orang yang menderita anemia atau gangguan pernapasan

kronik pada perokok. Kurangnya volume darah akan mengakibatkan vasokonstriksi dan menurunnya ketersediaan oksigen dan nutrisi untuk penyembuhan luka.

4. Hematoma

Hematoma merupakan bekuan darah. Seringkali darah pada luka secara bertahap diabsorpsi oleh tubuh masuk ke dalam sirkulasi. Tetapi jika terdapat bekuan yang besar hal tersebut memerlukan waktu untuk dapat diabsorpsi tubuh, sehingga menghambat proses penyembuhan luka.

5. Benda Asing

Benda asing seperti pasir atau mikroorganisme akan menyebabkan terbentuknya suatu abses sebelum benda tersebut diangkat. Abses ini timbul dari serum, fibrin, jaringan sel mati dan leukosit, yang membentuk suatu cairan yang kental yang disebut dengan nanah.

6. Iskemia

Iskemia merupakan suatu keadaan dimana terdapat penurunan suplai darah pada bagian tubuh akibat dari obstruksi dari aliran darah. Hal ini dapat terjadi akibat dari balutan pada luka terlalu ketat. Dapat juga terjadi akibat faktor internal yaitu adanya obstruksi pada pembuluh darah itu sendiri.

7. Diabetes

Hambatan terhadap sekresi insulin akan mengakibatkan peningkatan gula darah, nutrisi tidak dapat masuk ke dalam sel. Akibat hal tersebut juga akan terjadi penurunan protein-kalori tubuh.

8. Keadaan Luka

Keadaan khusus dari luka mempengaruhi kecepatan dan efektifitas penyembuhan luka. Beberapa luka dapat gagal untuk menyatu.

9. Obat

Obat anti inflamasi (seperti steroid dan aspirin), heparin dan anti neoplasma mempengaruhi penyembuhan luka. Steroid akan menurunkan mekanisme peradangan normal tubuh terhadap cedera, antikoagulan akan mengakibatkan perdarahan dan penggunaan antibiotik yang lama dapat membuat seseorang rentan terhadap infeksi luka. Dimana, antibiotik efektif diberikan sebelum pembedahan untuk bakteri penyebab kontaminasi yang spesifik. Jika diberikan setelah luka pembedahan tertutup, maka tidak akan efektif karena koagulasi intravaskular (Baririet, 2011).

2.6.5 Kolagen

Kolagen merupakan protein utama dari matriks ekstraseluler yang terdapat pada kulit yang terbentuk dari asam amino dengan struktur triple helix yang disebut kolagen monomer, seratnya fleksibel, berdiameter 50-90 nm, dan tahan terhadap regangan. Kolagen berperan sebagai struktur dasar pembentuk jaringan, dapat ditemukan pada semua jaringan ikat longgar, tendon, tulang, ligamen dan struktur penting untuk mempertahankan integritas organ dalam. Tiga kelas kolagen utama yang normal terdapat dalam jaringan ikat, yaitu :

Kolagen fibrillar : Kolagen tipe I, III dan V

Kolagen membrane basalis : Kolagen tipe IV

Kolagen interstisial lain : Kolagen tipe VI, VII dan VIII

Kolagen yang umum ditemukan pada kulit yaitu kolagen tipe I dan tipe III. Kolagen pada kulit dapat ditemukan pada lapisan retikuler dan papiler, lapisan tipis serat kolagen juga mengelilingi pembuluh darah pada dermis. Jika jaringan kulit mengalami trauma dan terjadi luka, maka kolagen normal akan digantikan oleh parut kolagen dimana tensile strengthnya hanya maksimal 80% dari tensile strength kolagen normal (Hariani, 2017).

1. Neovaskularisasi

Neovaskularisasi secara umum mekanisme pembentukannya terdiri dari 3 fase, yaitu inisiasi, proliferasi atau invasi dan maturasi. Luka akan berakibat kerusakan jaringan sehingga sel-sel yang mengalami disrupsi akan melepaskan faktor angiogenesis poten seperti fibroblast growth factor-2 (FGF-2), dan sel yang mengalami hipoksia akan melepaskan vascular endothelial growth factor (VEGF) (Hariani, 2017).

2. Re-epitelisasi

Luka dikatakan sembuh jika terjadi proses re-epitelisasi sempurna, yaitu proses pembentukan jaringan epitel hingga menutupi seluruh permukaan luka. Epidermis adalah stratifikasi epitel yang tersusun dari beberapa lapisan keratinosit, yang memberikan barrier antara lingkungan dan organisme, sehingga melindunginya dari agen dan patogen eksternal, dan membatasi hilangnya cairan (Hariani, 2017).

2.7 Tinjauan Umum

2.7.1 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan senyawa kimia dari tumbuhan, hewan dan lain-lain dengan menggunakan pelarut tertentu. Teknik

umum yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah dengan cara maserasi, sokletasi, perkolasi dan perebusan. Sedangkan ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani dengan menggunakan pelarut yang cocok, kemudian semua atau hampir semua pelarut. Diuapkan dan massa atau serbuk tersisa diperlukan sedemikian rupa sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Harborne, 2006).

Ekstraksi dengan menggunakan pelarut dapat dibedakan atas 2 cara yaitu (Departemen Kesehatan RI, 2000) :

1. Cara Dingin

- a. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi sederhana dengan cara merendam bahan alam atau tumbuhan dalam pelarut dan waktu tertentu dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu. Re-maserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya. Maserasi ini bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat dari simplisia, baik simplisia dengan zat yang berkhasiat yang tidak tahan pemanasan maupun yang tahan pemanasan.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah proses ekstraksi dengan cara melewatkan pelarut secara lambat pada simplisia dalam suatu alat percolator pada suhu kamar. Proses ini terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara tahap perkolasi sebenarnya (penetesan atau penampungan ekstrak) terus-menerus sampai diperoleh ekstrak atau perkolat yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

2. Cara Panas

a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada suhu titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

b. Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Digestasi

Digestasi adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada suhu lebih tinggi dari suhu kamar yaitu secara umum dilakukan pada suhu 40-50°C. Cara ini dilakukan untuk simplisia yang ada pada suhu kamar tidak terekstrak dengan baik.

d. Infusa

Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dengan ekstraksi simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama waktu 15-20 menit.

e. Dekokta

Dekokta adalah suatu proses ekstraksi yang hampir sama dengan infusa, tetapi dekokta dipanaskan selama 30 menit pada suhu 90°C.

Cara ini dapat dilakukan untuk simplisia yang tidak mengandung minyak atsiri atau simplisia yang mengandung bahan yang tahan terhadap pemanasan.

2.7.2 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan tahap kedua dari proses pemurniaan senyawa. Fraksinasi adalah teknik pemisahan dan pengelompokan kandungan kimia ekstrak berdasarkan kepolaran. Pada proses fraksinasi digunakan dua pelarut yang tidak tercampur dan memiliki tingkat kepolaran yang berbeda (Markham, 1988).

Umumnya senyawa bahan alam dapat dibedakan atas 3 kelompok berdasarkan kepolarannya. Senyawa-senyawa yang terdapat didalam ekstrak akan terpisah menurut kepolarannya. Senyawa yang bersifat non polar akan tertarik oleh pelarut non polar seperti n-heksana, senyawa semi polar (golongan alkaloid dan terpenoid) akan tertarik oleh pelarut yang semi polar seperti etil asetat dan senyawa yang polar (golongan flavonoid dan glikosida) akan tertarik oleh pelarut seperti metanol dan butanol.

Tujuan umum fraksinasi adalah untuk menyederhanakan komposisi dan homogenitas sifat zat sehingga lebih mudah dimurnikan atau diisolasi

menjadi senyawa tunggal atau zat murni. Untuk proses fraksinasi berdasarkan tingkat kepolarannya umumnya digunakan pelarut secara berurutan yaitu dari non polar hingga pelarut polar (Harborne, 2006).

Ekstraksi cair-cair merupakan suatu teknik dimana suatu larutan (biasanya dalam air) dibuat bersentuhan dengan suatu pelarut kedua (biasanya organik), yang pada dasarnya tak tercampurkan dengan pelarut pertama, dan menimbulkan perpindahan satu atau lebih zat terlarut ke dalam pelarut yang kedua. Pemisahan dapat dilakukan dengan cara mengocok dalam sebuah corong pemisah selama beberapa menit (Basset, 1994).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 6 bulan dari bulan Januari 2023 sampai Juni 2023 di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia (UPERTIS) Padang, dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas (UNAND) Padang.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang tikus, botol air, alat wadah hewan, kapas, tisu, tabung reaksi, krim pencukur bulu, penggaris, pinset, *rotary evaporator*, timbangan analitik, wadah maserasi, krus porselen, sarung tangan kain, *handscoon*, pipet tetes, corong, corong pisah, batang pengaduk, gunting bedah, kaca arloji, cawan penguap, spatel, sudip, *beaker glass*, *objek glass*, pH meter digital, plat tetes, wadah salep, mortir dan stamper.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sisik naga (*Pyrrosia piloselloides* (L.) M.G. Price), makanan dan minuman tikus, aquadest, etanol 70%, n-heksana, etil asetat, n-butanol, eter, kloroform, FeCl₃, serbuk Mg, HCl, vaselin flavum, formalin 10%, haematoxylin dan eosin.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah daun sisik naga (*Pyrrosia piloselloides* (L.) M.G. Price) yang diperoleh dari Desa Danau Pulau Indah, Kecamatan Kempas, Kabupaten Indragiri Hilir, Riau.

3.3.2 Identifikasi Sampel

Identifikasi sampel dilakukan di Herbarium ANDA Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Andalas (UNAND) Padang.

3.3.3 Penyiapan Simplisia Daun Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides* (L.) M.G. Price)

Daun sisik naga diambil sebanyak 5 kg, lalu dilakukan pencucian untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada daun sisik naga. Pencucian dilakukan dengan air bersih dan dilakukan dalam waktu singkat agar tidak menghilangkan zat berkhasiat pada daun sisik naga. Setelah itu, dilakukan perajangan daun sisik naga untuk mempercepat proses pengeringan dan penggilingan. Kemudian, dilakukan pengeringan daun sisik naga untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan untuk jangka waktu yang lama. Pengeringan daun sisik naga dilakukan dengan cara diangin-anginkan.

Selanjutnya, dilakukan sortasi kering untuk memisahkan benda asing, seperti tumbuhan yang tidak diinginkan dan pengotor lain yang masih ada atau tertinggal pada simplisia daun sisik naga. Simplisia daun sisik naga yang sudah mengalami proses sortasi kering kemudian dihaluskan sampai menjadi serbuk. Kemudian disimpan dalam wadah kering tertutup rapat.

3.3.4 Ekstraksi Daun Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides* (L.) M.G. Price)

Simplisia daun sisik naga ditimbang, kemudian maserasi dengan pelarut etanol 70% (1:10). Lalu disimpan pada tempat gelap selama tiga hari. Setelah itu, saring dengan menggunakan corong yang dilapisi dengan kapas dan didapatkanlah maserat. Lakukan re-maserasi sampai filtrat terlihat bening atau tidak bewarna lagi. Selanjutnya maserat disatukan dan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak etanol kental (Departemen Kesehatan RI, 2000).

3.3.5 Fraksinasi Daun Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides* (L.) M.G. Price)

Ekstrak etanol daun sisik naga ditimbang, kemudian fraksinasi dengan pelarut n-heksana dan air (1:1). Larutkan ekstrak dengan air, masukkan ke dalam *beaker glass*, lalu tambahkan n-heksana aduk sampai homogen. Setelah itu, masukkan kedalam corong pisah, lalu dikocok. Kemudian, diamkan hingga terjadi pemisahan yang terdiri dari lapisan n-heksana dan lapisan air. Ambil lapisan atas (n-heksana), kemudian ulangi sampai lapisan terlihat jernih (fraksi n-heksana).

Masukkan lapisan air ke dalam *beaker glass*, lalu tambahkan etil asetat aduk sampai homogen. Setelah itu, masukkan kedalam corong, lalu dikocok. Kemudian, diamkan hingga terjadi pemisahan yang terdiri dari lapisan etil asetat dan lapisan air. Ambil lapisan atas (etil asetat), kemudian ulangi sampai lapisan terlihat jernih (fraksi etil asetat).

Masukkan lapisan air ke dalam *beaker glass*, lalu tambahkan n-butanol aduk sampai homogen. Setelah itu, masukkan kedalam corong pisah, lalu dikocok. Kemudian, diamkan hingga terjadi pemisahan yang terdiri dari

lapisan n-butanol dan lapisan air. Ambil lapisan atas (n-butanol), kemudian ulangi sampai lapisan terlihat jernih (fraksi n-butanol). Fraksi n-butanol diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan fraksi n-butanol kental (Harborne, 2006).

3.4 Karakterisasi Fraksi n-Butanol Daun Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides* (L.) M.G. Price)

3.4.1 Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan dilakukan dengan pengamatan visual yang meliputi warna, bentuk, bau dan rasa (Departemen Kesehatan RI, 2000).

3.4.2 Penentuan Rendemen

Menurut Departemen Kesehatan RI (2000), Penentuan rendemen dapat dilakukan dengan cara :

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

3.4.3 Penentuan Susut Pengeringan

Krus porselen dan tutupnya dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit. Keluarkan krus dan dinginkan dalam desikator, timbang beratnya. Setelah itu, masukkan fraksi n-butanol sebanyak 1-2 g, timbang beratnya. Krus digoyang perlahan agar fraksi merata dan masukkan kembali kedalam oven, buka tutupnya dan biarkan tutup tetap berada di dalam oven selama 1 jam. Setelah itu, keluarkan Krus dan dinginkan dalam desikator, timbang beratnya (Departemen Kesehatan RI, 2000).

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 + fraksi sebelum pengeringan

C = Berat krus + fraksi setelah pengeringan

3.4.4 Pemeriksaan Kadar Abu

Krus porselen dan tutupnya dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit. Keluarkan krus dan dinginkan dalam desikator, timbang beratnya. Setelah itu, masukkan fraksi n-butanol sebanyak 2-3 g, timbang beratnya. Krus digoyang perlahan agar fraksi merata. Lalu, bakar diatas kasa asbes. Setelah itu, masukkan kedalam furnes pada suhu 600°C selama 4 jam. Keluarkan Krus dan dinginkan dalam desikator, timbang beratnya (Departemen Kesehatan RI, 2000).

$$Kadar\ Abu = \frac{W_2 - W}{W_1} \times 100\%$$

Keterangan :

W = Berat krus kosong

W₁ = Berat krus + fraksi sebelum pemijaran

W₂ = Berat krus + fraksi sesudah pemijaran

3.4.5 Uji Skrining Fitokimia

Fraksi n-butanol ditimbang sebanyak 1 gram. Larutkan fraksi dengan aquadest sebanyak 5 ml. Masukkan kedalam tabung reaksi kemudian tambahkan 5 ml kloroform, lalu dikocok. Setelah itu, diamkan hingga terjadi pemisahan yang terdiri dari lapisan air dan kloroform.

1. Uji Flavonoid (Metode Sianidin Test)

Teteskan lapisan air (1-2 tetes) pada plat tetes, kemudian tambahkan serbuk Mg dan HCl (1 tetes). Terbentuknya warna merah menandakan adanya flavonoid.

2. Uji Fenolik

Teteskan lapisan air (1-2 tetes) pada plat tetes, kemudian tambahkan pereaksi FeCl_3 . Terbentuknya warna hijau kehitaman menandakan adanya fenolik.

3. Uji Tanin

Teteskan lapisan kloroform (3 tetes) pada plat tetes, kemudian tambahkan FeCl_3 (3 tetes). Terbentuknya warna hijau, ungu, biru atau hitam pekat menandakan adanya tanin.

4. Uji Saponin

Masukkan lapisan air kedalam tabung reaksi, kemudian kocok dengan kuat. Terbentuknya busa yang permanen (± 15 menit) menandakan adanya saponin (Departemen Kesehatan RI, 2000).

3.4.6 Pembuatan Salep Fraksi n-Butanol Daun Sisik Naga

Sediaan salep pada penelitian ini menggunakan 3 (tiga) konsentrasi yaitu 5%, 10%, dan 20% masing-masing dibuat sebanyak 30 g.

Tabel 1. Formulasi Salep Fraksi n-Butanol Daun Sisik Naga

Nama Bahan	F1 (5%)	F2 (10%)	F3 (20%)
Fraksi daun sisik naga	1,5 g	3 g	6 g
Vaselin Flavum ad 30 g	28,5 g	27 g	24 g

Cara pembuatan :

1. Timbang semua bahan
2. Masukkan fraksi daun sisik naga kedalam lumpang, lalu gerus. Setelah itu, masukkan vaselin flavum sedikit demi sedikit, gerus hingga homogen.
3. Kemudian masukkan ke dalam wadah yang telah disiapkan (Ilmu Meracik Obat, 1987).

3.4.7 Evaluasi Salep Fraksi n-Butanol Daun Sisik Naga

Menurut Departemen Kesehatan RI (2000), evaluasi salep dapat dilakukan sebagai berikut :

1. Uji Organoleptis

Pengujian organoleptis dilakukan dengan mengamati sediaan salep dari warna, bentuk, bau sediaan. Spesifikasi salep yang harus dipenuhi adalah warna harus sesuai dengan spesifikasi pada saat pembuatan awal salep, bentuk setengah padat dan baunya tidak tengik.

2. Uji Homogenitas

Dilakukan dengan cara, salep dioleskan pada *object glass* atau bahan transparan lain yang cocok. Salep yang homogen ditandai dengan tidak terdapat gumpalan pada hasil pengolesan, struktur yang rata dan memiliki warna yang seragam dari titik awal pengolesan sampai titik akhir pengolesan. Salep yang diuji diambil tiga tempat yaitu bagian atas, tengah dan bawah dari wadah salep.

3. Uji pH

Uji pH pada salep merupakan pengujian untuk mengetahui kadar keasam-basaan dari sediaan salep. Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH universal yang dicelupkan pada masing-masing salep, kemudian dilihat dan dicocokkan perubahan warna dengan standar warna pH universal. Sediaan salep yang dibuat harus sesuai dengan pH normal ideal kulit yaitu 4,5-6,5.

3.5 Perlakuan Pada Hewan Percobaan

3.5.1 Persiapan Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih jantan dengan berat badan 200 g sebanyak 25 ekor untuk 5 kelompok, masing-masing terdiri dari 5 ekor. Pembagian kelompok sebagai berikut :

Kelompok I : Tikus yang dioleskan basis salep (kontrol negatif)

Kelompok II : Tikus yang dioleskan salep fraksi n-butanol daun sisik naga dengan konsentrasi 5%

Kelompok III : Tikus yang dioleskan salep fraksi n-butanol daun sisik naga dengan konsentrasi 10%

Kelompok IV : Tikus yang dioleskan salep fraksi n-butanol daun sisik naga dengan konsentrasi 20%

Kelompok V : Tikus yang dioleskan salep yang beredar salep T® (pembanding)

Sebelum perlakuan, tikus diaklimatisasi selama 7 hari. Tujuannya untuk penyesuaian tikus dengan tempat atau kondisi barunya agar tikus tidak stress. Tikus yang digunakan untuk penelitian adalah tikus yang sehat (tidak

terdapat gejala penyakit) dan tidak mengalami perubahan berat badan lebih dari 10% serta secara visual memperlihatkan perilaku yang normal.

3.5.2 Pembuatan Luka Eksisi

Sehari sebelum pembuatan luka eksisi, gunting bulu tikus pada bagian punggung. Lalu, oleskan krim pencukur bulu (Veet®) kemudian dicukur bulunya. Setelah itu, bersihkan dengan *alcohol pads*. Lakukan anestesi umum pada tikus dengan menggunakan eter. Selanjutnya, pada punggung tikus dibuat lingkaran yaitu dengan menempelkan koin (diameter 2 cm). Lalu, buat lingkarannya menggunakan spidol kecil yang permanen. Kemudian, buat luka eksisi dengan kedalaman ± 1 mm dengan cara mengangkat kulit tikus pada bagian punggung dengan pinset. Setelah itu, lukai sesuai dengan yang sudah ditandai menggunakan gunting bedah.

3.5.3 Pemberian Salep Fraksi n-Butanol Daun Sisik Naga

1. Sediaan salep dioleskan pada bagian punggung tikus sebanyak 200 mg, pemakaian salep dua kali sehari yaitu diberikan pada jam 8 pagi dan jam 4 sore selama 14 hari.
2. Sediaan diberikan pada masing-masing kelompok sesuai dengan pengelompokkannya.
3. Lakukan pengukuran diameter penyembuhan luka eksisi pada hari ke-7 dan hari ke-14.

3.6 Parameter Yang Diukur Pada Penyembuhan Luka Eksisi

3.6.1 Persentase Luas Penyembuhan Luka Eksisi

Persentase luas penyembuhan luka eksisi dengan menghitung luas luka pada hari ke-7 dan ke-14 untuk masing-masing kelompok. Dicari persentase luas penyembuhan lukanya dihitung dengan rumus :

$$\% LPLE = \frac{\text{luas luka awal} - \text{luas luka akhir}}{\text{luas luka awal}} \times 100\%$$

3.6.2 Waktu Epitelisasi

Waktu yang diperlukan untuk terbentuknya epitel baru yang sempurna menutupi daerah luka. Dalam hal ini dicatat hari ke pengelupasan krusta dari luka eksisi tanpa meninggalkan sisa luka di area eksisi (Departemen Kesehatan RI, 2000).

3.6.3 Histopatologi

Parameter yang digunakan adalah dengan melakukan pengamatan terhadap serabut kolagen, jumlah fibroblast dan re-epitelisasi pada jaringan luka. Tiap kelompok diambil 1 ekor tikus yaitu tikus yang penyembuhannya paling bagus. Cara pembuatan preparat histopatologi yaitu sampel dari jaringan luka diambil 0,3 cm dari tepi luka awal, jaringan ini direndam formalin 10% kemudian diambil irisan vertikalnya dan diwarnai dengan haematoxylin dan eosin (Burkit et al., 1995).

1. Pemeriksaan Serabut Kolagen

Sediaan histopatologi diamati dibawah mikroskop dan dibuat skor dengan kriteria :

0 = tidak tampak serabut kolagen

1 = serabut kolagen menyebar tipis atau sedikit

2 = serabut kolagen menyebar sedang atau tampak penyatuan

3 = serabut kolagen memadat dan terikat sempurna

2. Pemeriksaan Jumlah Fibroblast dan Re-epitelisasi

Pengamatan histopatologi pemeriksaan jumlah fibroblast dan re-epitelisasi menggunakan metode skor (Karimi et al., 2013; Roodbari et al., 2012).

Tabel 2. Skor dan Kriteria Jumlah Sel Fibroblast dan Re-Epitelisasi

Parameter	Skor			
	0	1	2	3
Fibroblast	Tidak ada	5-10 sel	10-50 sel	>50 sel
Re-Epitelisasi	<i>Absent</i>	<i>Starting</i>	<i>Incomplete</i>	<i>Complete</i>

Keterangan skor re-epitelisasi :

0 = *Absent* (kerusakan menyeluruh pada bagian epidermis)

1 = *Starting* (mulai terbentuk lapisan epidermis)

2 = *Incomplete* (lapisan epidermis sudah terbentuk, tetapi masih ada penebalan)

3 = *Complete* (lapisan epidermis sudah terbentuk secara sempurna dan tidak ditemukan penebalan pada lapisan epidermis)

3.7 Analisis Data

Nilai yang didapat dari masing-masing parameter dihitung sebagai rata-rata $\pm$ standar deviasi (SD). Signifikansi dari perbedaan nilai rata-rata akibat perlakuan ini terhadap kelompok kontrol dianalisa menggunakan ANOVA satu arah dan dua arah dengan program SPSS version 25. Nilai $P < 0,05$ dianggap sebagai perbedaan yang signifikan. Kemudian, analisis data dilanjutkan dengan uji Duncan untuk melihat secara detail kelompok mana yang berbeda secara signifikan.