

DISERTASI

**PEMANFAATAN DAUN RAMANIA (*Bouea macrophylla* Griffith)
UNTUK PENCEGAHAN PERADANGAN DAN
PENYEMBUHAN LUKA**

(Studi eksperimental pada tikus wistar jantan (*Rattus novergicus*))

**UTILIZATION OF RAMANIA LEAVES (*Bouea macrphylla* Griffith)
FOR INFLAMMATION PREVENTION AND WOUND HEALING**

(*Experimental Animal Studies on Male Wistar Rats (Rattus novergicus)*)

IRHAM TAUFIQURRAHMAN



**PROGRAM DOKTOR ILMU KESEHATAN MASYARAKAT
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

DISERTASI**PEMANFAATAN DAUN RAMANIA (*Bouea macrophylla* Griffith)
UNTUK PENCEGAHAN PERADANGAN DAN
PENYEMBUHAN LUKA**

(Studi eksperimental pada tikus wistar jantan (*Rattus novergicus*))

**UTILIZATION OF RAMANIA LEAVES (*Bouea macrphylla* Griffith)
FOR INFLAMMATION PREVENTION AND WOUND HEALING**

(*Experimental Animal Studies on Male Wistar Rats (Rattus novergicus)*)

IRHAM TAUFIQURRAHMAN

**PROGRAM DOKTOR ILMU KESEHATAN MASYARAKAT
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Allah SWT Tuhan Yang Maha Agung, sholawat serta salam semoga selalu tercurah keharibaan junjungan kita, nabi akhir zaman, Muhammad Rosululloh SAW. Ucapan syukur dan rasa bahagia yang tak terhingga atas selesainya disertasi ini dengan judul **Pemanfaatan Daun Ramania (*Bouea macrophylla* Griffith) untuk Pencegahan Peradangan dan Penyembuhan Luka (studi eksperimental pada tikus wistar jantan (*Rattus novergicus*)).** Penelitian Disertasi ini menjadi salah satu persyaratan yang harus ditempuh untuk menyelesaikan rangkaian pendidikan S-3 di Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Hasanuddin.

Disertasi ini dapat diselesaikan berkat dorongan, bimbingan, arahan, saran dan perbaikan dari banyak pihak. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati, perkenankan saya menghaturkan ucapan terima kasih yang tulus serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat:

Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc., selaku Rektor Universitas Hasanuddin; Prof. Sukri Palutturi, SKM., M.Kes., M.Sc.PH., Ph.D., selaku Dekan Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Hasanuddin; Prof. Dr. Aminuddin Syam, SKM., M.Kes, M.Med.Ed., selaku Ketua Program Studi Doktor Ilmu Kesehatan Masyarakat Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Hasanuddin yang telah menerima, mengizinkan dan memberikan fasilitas pengajaran yang sangat baik bagi kami peserta didik di Program Pasca Sarjana Program Doktor Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Hasanuddin.

Prof. Dr. drg. Andi Zulkifli, M.Kes sebagai Promotor dan Prof. dr. Veni Hadju, M.Sc., Ph.D sebagai ko promotor-1 serta Dr. Drs. Eko Suhartono, M.Si sebagai ko promotor-2 yang dengan penuh perhatian dan kesabaran terus memberikan dorongan, bimbingan dan saran sehingga disertasi ini dapat diselesaikan.

Rektor Universitas Lambung Mangkurat periode 2018-2022 Prof. Dr. H. Sutarto Hadi, M.Si., M.Sc dan Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Lambung Mangkurat Prof. Dr. Maharani Laillyza Apriasari, Sp.PM yang telah memberikan izin belajar menempuh pendidikan Doktor.

Rektor Universitas Lambung Mangkurat Prof. Dr. Ahmad, SE., M.Si. dan seluruh Wakil Rektor ULM atas dorongan, bimbingan, arahan, *support* selama saya menempuh Pendidikan Doktor.

Prof. R.M. Coen Pramono Danudiningrat, drg. SU., Sp.B.M.M., Subsp. Ortognat-D (K), FICS; Prof. Muhammad Ruslin, drg., M.Kes., Ph.D., Sp.B.M.M., Subsp. Ortognat-D (K); Prof. Dr. dr. Syamsiar S. Russeng, M.Kes.; Dr. Agus Bintara Birawida, S.Kel., M.Kes; Prof. Anwar Mallongi, SKM., M.Sc., Ph.D yang telah banyak memberikan saran dan bimbingan yang sangat berharga mulai dari penyusunan seminar usulan disertasi hingga tahapan ujian promosi Doktor.

Teman-teman Pasca Sarjana Program Doktor Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Hasanuddin angkatan 2021/2022 baik kelas Regular khususnya kelas Kerjasama, terkhusus untuk Ibu Irma Suryani, S.Kom., MM. dan

DISERTASI

PEMANFAATAN DAUN RAMANIA (*BOUEA MACROPHYLLA GRIFFITH*) UNTUK PENCEGAHAN PERADANGAN DAN PENYEMBUHAN LUKA

(Studi Eksperimental Pada Tikus Wistar Jantan (*Rattus Novergicus*))

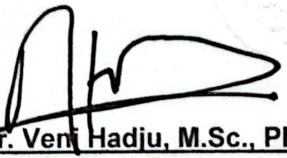
Disusun dan diajukan oleh

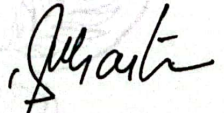
IRHAM TAUFIQURRAHMAN
Nomor Pokok K013211041

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Disertasi
pada tanggal 11 Desember 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

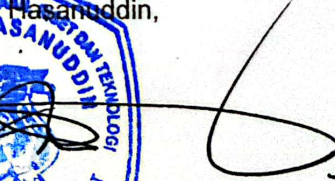
Menyetujui
Komisi Penasehat,


Prof. Dr. drg. Andi Zulkifli, M.Kes
Promotor


Prof. dr. Veni Hadju, M.Sc., Ph.D
Ko-Promotor


Prof. Dr. Drs. Eko Suhartono, M.Si
Ko-Promotor

Dekan Fakultas Kesehatan Masyarakat
Universitas Hasanuddin,


Prof. Sukri Palutturi, SKM, M.Kes, M.Sc.PH., Ph.D

Ketua Program Studi Doktor (S3)
Ilmu Kesehatan Masyarakat


Prof. Dr. Aminuddin Syam, SKM, M.Kes, M.Med.Ed

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Irham Taufiqurrahman
NIM : K013211041
Program Studi : Doktor Ilmu Kesehatan Masyarakat

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain. Adapun bagian-bagian tertentu dalam penulisan disertasi yang saya kutip dari hasil karya orang lain telah dituliskan dengan sumbernya secara jelas sesuai dengan norma, kaidah, dan etika pedoman penulisan disertasi.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Desember 2023

Menyatakan,

Irham Taufiqurrahman



ABSTRAK

IRHAM TAUFIQURRAHMAN. **Pemanfaatan Daun Ramania (*Bouea Macrophylla Griffith*) Untuk Pencegahan Peradangan Dan Penyembuhan Luka** (di bimbing oleh: **Andi Zulkifli, Veni Hadju dan Eko Suhartono**).

Pengembangan obat tradisional herbal merupakan target *World Health Organization* (WHO) tahun 2014-2023. Tumbuhan ramania memiliki khasiat obat karena kandungan metabolit sekunder flavonoid, fenol, tanin, saponin, terpenoid dan steroid. Perawatan luka dengan topikal gel ekstrak daun ramania merupakan pengobatan adjuvan yang dapat menurunkan peradangan secara signifikan.

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh teh daun ramania, teh *Camellia sinensis*, gel ekstrak ramania 15 % dan gel ekstrak pegagan 15 % terhadap pencegahan peradangan dan penyembuhan luka dengan menganalisis aktivitas enzim SOD, CAT dan GPx pada proses penyembuhan luka serta indeks eritema luka punggung tikus wistar jantan.

Penelitian ini merupakan *true experimental* dengan rancangan *the randomized pre test post test control group design* menggunakan tikus wistar jantan yang terbagi menjadi 9 kelompok: 4 kelompok dengan pemberian teh daun ramania atau teh daun *Camellia sinensis* dan aplikasi topikal gel ramania 15 % atau gel pegagan 15 %, 2 kelompok dengan pemberian teh daun ramania atau teh daun *Camellia sinensis*, 2 kelompok dengan aplikasi topikal gel ramania 15 % atau gel pegagan 15 % serta 1 kelompok kontrol.

Hasil penelitian menunjukkan kelompok perlakuan dengan teh ramania, dengan gel ekstrak ramania 15 % memiliki efek lebih baik dalam pencegahan peradangan dan penyembuhan luka punggung tikus wistar jantan dibanding kelompok lain pada penelitian ini. Hasil uji statistik *Friedman* menunjukkan nilai $p=0,000$ ($p<0,005$) menunjukkan ada perbedaan bermakna antar kelompok. Hasil uji lanjutan menunjukkan ada perbedaan bermakna terjadi antara kelompok kontrol dan hampir seluruh kelompok perlakuan. Diharapkan dapat dilanjutkan pada uji klinis untuk hilirisasi produk.

Kata kunci: penyembuhan luka, daun ramania, enzim antioksidan, indeks eritema.

ABSTRACT

IRHAM TAUFIQURRAHMAN. *Utilization of Ramania Leaves (Bouea Macrophylla Griffith) for Preventing Inflammation and Healing Wounds (Supervised by: Andi Zulkifli, Veni Hadju and Eko Suhartono).*

The development of traditional herbal medicines for treatment be in accordance with the World Health Organization (WHO) target for 2014 - 2023 regarding the use of herbal ingredients for treatment. Ramania (Bouea macrophylla Griffith) can be used as a medicinal plant since ramania leaves have secondary metabolites such as flavonoids, phenols, tannins, saponins, terpenoids and steroids. Wound treatment with topical ramania leaf extract gel is part of adjuvant treatment which has been proven significantly reduce signs of inflammation while preventing wounds infection.

The aims of this study to determine the effect of ramania leaves on preventing inflammation and the effect of ramania leaf extract gel on wound healing by analyzing the mechanism of action of the enzyme Superoxide Dismutase (SOD), Catalase (CAT) and Glutathione peroxidase (GPx) in the wound healing process and analyzing the erythema index back wounds of male Wistar rats, as well as analyzing the interaction between the treatment groups given ramania leaf tea and ramania leaf extract gel with a concentration of 15 % on the erythema index of back wounds of male Wistar rats.

This research used a the randomized pre test post test control group design using male Wistar rats divided into 9 groups: 4 groups given ramania leaf tea or Camellia sinensis leaf tea and topical application of 15 % ramania gel or 15 % Centella asiatica gel, 2 groups given ramania leaf tea or Camellia sinensis leaf tea, 2 groups with topical application of 15 % ramania gel or 15 % Centella asiatica gel and 1 control group

The results of the study revealed that the group treated with ramania tea, with 15 % ramania extract gel had a better effect in preventing inflammation and healing back wounds in male Wistar rats compared to other groups in this study. The results of the Friedman statistical test show a value of $p=0.000$ ($p<0.005$), indicating that there is a significant difference between groups. The showed that there were significant differences between the control group and almost all treatment groups.

Key words: *Wound healing, Ramania leaf, Antioxidant enzymes, Erythema Index.*

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN PROPOSAL	ii
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI.....	iii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	8
1.3 Tujuan Penelitian	9
1.3.1 Tujuan Umum	9
1.3.2 Tujuan Khusus.....	9
1.4 Manfaat Penelitian	10
1.4.1 Manfaat Ilmiah	10
1.4.2 Manfaat Aplikatif.....	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	12
2.1 <i>Five Level of Prevention</i>	12
2.1.1 <i>Health Promotion</i>	12
2.1.2 <i>Spesific Health Protection</i>	13
2.1.3 <i>Early Diagnosis and Prompt Treatment</i>	14
2.1.4 <i>Disability Limitation</i>	15
2.1.5 <i>Rehabilitation</i>	15
2.2 Pengobatan Tradisional dan Komplementer.....	15
2.3 Pengobatan Tradisional dan Komplementer Dalam Perspektif Global ..	16
2.4 Pengobatan Tradisional dan Komplementer Dalam Perspektif Ekonomi Kesehatan.....	18
2.5 Etnobotani dan Etnomedisin	19

2.6	Tumbuhan Obat.....	21
2.7	Ramania (<i>Bouea macrophylla</i> Griffith).....	24
2.7.1	Morfologi Ramania	24
2.7.2	Kandungan Ramania.....	28
2.7.3	Pengembangan <i>Fish Bone Research</i> Ramania	32
2.8	Trauma Maksilofasial.....	34
2.9	Luka	34
2.10	Proses Penyembuhan Luka	35
2.10.1	Fase Hemostasis / Koagulasi.....	36
2.10.2	Fase Inflamasi	38
2.10.3	Fase Proliferasi.....	39
2.10.4	Fase Maturasi / Fase <i>Remodelling</i>	40
2.11	Peranan Faktor Pertumbuhan Pada Penyembuhan Luka	41
2.12	Radikal Bebas.....	44
2.14	Antioksidan	45
2.14.1	Enzim <i>Catalase</i> (CAT).....	47
2.14.2	Enzim <i>Glutation Peroksidase</i> (GPx)	49
2.14.3	Enzim <i>Superoksida Dismutase</i> (SOD).....	51
2.15	Indeks Eritema	51
2.16	Tikus Wistar (<i>Rattus novergicus</i>)	53
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS		
PENELITIAN		55
3.1	Kerangka Teori	55
3.2	Penjelasan Kerangka Teori	58
3.3	Kerangka Konsep	61
3.4	Hipotesis Penelitian	62
BAB IV METODE PENELITIAN		63
4.1	Jenis Penelitian.....	63
4.2	Lokasi dan Waktu Penelitian	66
4.3	Populasi dan Sampel.....	66
4.3.1	Populasi	67
4.3.2	Sampel penelitian	67
4.3.3	Kriteria Inklusi	67
4.3.4	Kriteria Eksklusi	67
4.4	Definisi Operasional	67

4.4.1	Variabel Bebas	67
4.4.1.1	Gel ekstrak daun ramania.	67
4.4.1.2	Gel ekstrak daun pegagan.	68
4.4.1.3	Teh daun ramania.	68
4.4.1.4	Teh daun <i>Camellia sinensis</i>	68
4.4.2	Variabel Terikat	68
4.4.3	Variabel Terkendali	70
4.6	Besar Sampel (<i>Sample Size</i>)	66
4.7	Alat Penelitian	70
4.7.1	Peralatan Pembuatan Ekstrak	70
4.7.1	Peralatan Yang Digunakan Pada Tikus Wistar Jantan	71
4.8	Bahan Penelitian.....	72
4.9	Cara Kerja Penelitian.....	72
4.9.1	Pembuatan Ekstrak Daun Ramania.....	73
4.9.2	Pembuatan Ekstrak Daun Pegagan.....	73
4.9.3	Pembuatan Teh Daun Ramania.....	74
4.9.4	Pembuatan Teh Daun <i>Camellia sinensis</i>	74
4.9.5	Penyimpanan Ekstrak Daun Ramania	74
4.9.6	Pembuatan Luka Punggung Tikus Wistar.....	75
4.9.8	Aplikasi Teh Pada Hewan Coba	76
4.9.9	Aplikasi Ekstrak Pada Hewan Coba	76
4.9.10	Pengambilan Jaringan Pada Hewan Coba	76
4.9.11	Penanganan Hewan Coba Setelah Pengambilan Jaringan	76
4.10	Pengukuran Aktivitas Enzim Total.....	
4.10.1	Reaksi enzimatik	72
4.10.2	Reaksi kromogenik.....	73
4.12	Kerangka Operasional.....	77
4.13	Pengumpulan Data	83
4.14	Etika Penelitian	83
4.15	Cara Pengolahan dan Analisis Data	83
	BAB V HASIL	84
5.1	<i>Preliminary Study</i>	84
5.1.1	Potensi senyawa bioaktif teh herbal terhadap antioksidan	84
5.1.2	Skrining fitokimia	84
5.1.3	Skrining uji antioksidan.....	85

5.1.4	Perbedaan Nilai Efektifitas Antioksidan Teh Herbal.....	85
5.1.5	Fitogeografi.....	85
5.1.6	Uji Determinasi Tanaman.....	88
5.1.7	Uji Analisis Kimia Tanah.....	88
5.1.8	Skrining Fitokimia Dengan Uji Kuantitatif.....	88
5.1.9	<i>Gass Chromatography Mass Spectrometry</i> (GCMS).....	89
5.1.10	Analisis <i>In silico</i>	90
5.1.11	Analisis molekuler dan aktivitas biologis senyawa bioaktif.....	98
5.2	Enzim Endogen	98
5.2.1	<i>Superoksida Dismutase</i> (SOD).....	98
5.2.2	<i>Catalase</i> (CAT).....	100
5.2.3	<i>Glutation peroksidase</i> (GPX)	101
5.3	Penyembuhan Luka Kulit dan Indeks Eritema	102
BAB VI PEMBAHASAN		117
BAB VII SIMPULAN, SARAN DAN PENUTUP		117
7.1	Kesimpulan	136
7.2	Implikasi	138
7.2.1	Implikasi Teoritis.....	138
7.2.2	Implikasi.....	138
7.3	Saran.....	139
DAFTAR PUSTAKA		141
LAMPIRAN		156

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Daftar senyawa aktif ekstrak daun ramania	32
Tabel 2.2 Faktor pertumbuhan utama dan sitokin dalam penyembuhan luka	43
Tabel 4.1 Formulasi pengukuran reaksi enzimatik	72
Tabel 4.2 Formulasi pengukuran reaksi kromogenik.....	73

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Sebaran ramania di Indonesia	25
Gambar 2.2 Pohon ramania	27
Gambar 2.3 Buah ramania	27
Gambar 2.4 Daun tumbuhan ramania.....	27
Gambar 2.5 Struktur senyawa flavonoid	30
Gambar 2.6 Struktur senyawa tannin.....	30
Gambar 2.7 Struktur senyawa saponin.....	31
Gambar 2.8 (a) Sistem pencitraan RGB; (b) sensitivitas spektral warna	52
Gambar 3. 1 Kerangka teori penelitian pengaruh ekstrak daun ramania (Bouea macrophylla Griffith) terhadap aktivitas enzim CAT, SOD, GPx dan penurunan indeks eritema	81
Gambar 4. 1 Bagan rancangan penelitian	63
Gambar 4. 2 Prosedur punch biopsy, e = epidermis, d = dermis dan.....	76
Gambar 5.1. Hasil pengamatan indeks eritema hari ke-1 hingga hari ke-14 setelah dilakukan pembuatan luka pada punggung tikus wistar kelompok perlakuan dengan teh ramania, dengan gel ekstrak ramania 15% (K1)	104
Gambar 5.2. Hasil pengamatan indeks eritema hari ke-1 hingga hari ke-14 setelah dilakukan pembuatan luka pada punggung tikus wistar kelompok perlakuan dengan teh ramania dan gel ekstrak ramania 15% (K1)	104
Gambar 5.3. Hasil pengamatan indeks eritema hari ke-1 hingga hari ke-14 setelah dilakukan pembuatan luka pada punggung tikus wistar kelompok perlakuan dengan teh ramania, dengan gel ekstrak pegagan 15 % (K2)	106
Gambar 5.4. Hasil pengamatan indeks eritema hari ke-1 hingga hari ke-14 setelah dilakukan pembuatan luka pada punggung tikus wistar kelompok perlakuan dengan teh ramania, dengan gel ekstrak pegagan 15 % (K2).....	106
Gambar 5.5. Hasil pengamatan indeks eritema hari ke-1 hingga hari ke-14 setelah dilakukan pembuatan luka pada punggung tikus wistar kelompok perlakuan teh Camellia sinensis dan gel ekstrak ramania 15 % (K3).....	107
Gambar 5.6. Hasil pengamatan indeks eritema hari ke-1 hingga hari ke-14 setelah dilakukan pembuatan luka pada punggung tikus wistar kelompok perlakuan teh Camellia sinensis dan gel ekstrak ramania 15 % (K3).....	108
Gambar 5.7. Hasil pengamatan indeks eritema hari ke-1 hingga hari ke-14 setelah dilakukan pembuatan luka pada punggung tikus wistar kelompok perlakuan K4	109
Gambar 5.8. Hasil pengamatan indeks eritema hari ke-1 hingga hari ke-14 setelah dilakukan pembuatan luka pada punggung tikus wistar kelompok perlakuan teh Camellia sinensis dan gel ekstrak pegagan 15 % (K4).....	109

- Gambar 5.9.** Hasil pengamatan indeks eritema hari ke-1 hingga hari ke-14 setelah dilakukan pembuatan luka pada punggung tikus wistar kelompok perlakuan teh ramania tanpa gel ekstrak ramania 15 % dan tanpa gel ekstrak pegagan 15 % (K5). 110
- Gambar 5.10.** Hasil pengamatan indeks eritema hari ke-1 hingga hari ke-14 setelah dilakukan pembuatan luka pada punggung tikus wistar kelompok perlakuan teh Camellia sinensis dan gel ekstrak pegagan 15 % (K4)..... 110
- Gambar 5.11.** Hasil pengamatan indeks eritema hari ke-1 hingga hari ke-14 setelah dilakukan pembuatan luka pada punggung tikus wistar kelompok perlakuan teh Camellia sinensis tanpa gel ekstrak ramania 15 % dan tanpa gel ekstrak pegagan 15 % (K6) 111
- Gambar 5.12.** Hasil pengamatan indeks eritema hari ke-1 hingga hari ke-14 setelah dilakukan pembuatan luka pada punggung tikus wistar kelompok perlakuan teh Camellia sinensis tanpa gel ekstrak ramania 15 % dan tanpa gel ekstrak pegagan 15 % (K6) 112
- Gambar 5.13.** Hasil pengamatan indeks eritema hari ke-1 hingga hari ke-14 setelah dilakukan pembuatan luka pada punggung tikus wistar kelompok perlakuan tanpa teh Camellia sinensis dan tanpa teh ramania dengan gel ekstrak ramania 15 % (K7)113
- Gambar 5.14.** Hasil pengamatan indeks eritema hari ke-1 hingga hari ke-14 setelah dilakukan pembuatan luka pada punggung tikus wistar kelompok perlakuan tanpa teh Camellia sinensis dan tanpa teh ramania dengan gel ekstrak ramania 15 % (K7)113
- Gambar 5.15.** Hasil pengamatan indeks eritema hari ke-1 hingga hari ke-14 setelah dilakukan pembuatan luka pada punggung tikus wistar kelompok perlakuan teh Camellia sinensis dan gel ekstrak pegagan 15 % tanpa teh ramania (K8) 114
- Gambar 5.16.** Hasil pengamatan indeks eritema hari ke-1 hingga hari ke-14 setelah dilakukan pembuatan luka pada punggung tikus wistar kelompok perlakuan teh Camellia sinensis dan gel ekstrak pegagan 15 % tanpa teh ramania (K8) 115
- Gambar 5.17.** Hasil pengamatan indeks eritema hari ke-1 hingga hari ke-14 setelah dilakukan pembuatan luka pada punggung tikus wistar kelompok tanpa perlakuan (K0) 116
- Gambar 5.18.** Hasil pengamatan indeks eritema hari ke-1 hingga hari ke-14 setelah dilakukan pembuatan luka pada punggung tikus wistar kelompok tanpa perlakuan (K0) 116

DAFTAR LAMPIRAN

1. Tabel oral presentation dan publikasi artikel ilmiah
2. *Ethical Clearance*
3. Tabel aktivitas enzim SOD
4. Tabel aktivitas enzim CAT
5. Tabel aktivitas enzim GPx
6. Tabel indeks eritema
7. Sertifikat hasil uji determinasi daun ramania
8. Sertifikat hasil uji kandungan tanah di delapan kabupaten
9. Skrining fitokimia
10. Analisis molekuler dan aktivitas biologis senyawa bioaktif dengan gen pada sampel ramania
11. Tabel indeks eritema
12. Uji *spectroscopy*
13. Hasil analisis data indeks eritema
14. Hasil uji enzim SOD
15. Hasil uji enzim CAT
16. Hasil uji enzim GPx
17. Sampel daun ramania dari beberapa wilayah di Kalimantan Selatan
18. Evaporasi ekstrak ramania
19. *Reagen* aktivitas enzim
20. Sampel daun ramania dari beberapa wilayah di Kalimantan Selatan
21. Persiapan perlakuan hewan coba
22. Evaporasi ekstrak ramania dan camelia
23. Ruang karantina tikus
24. Proses sondasi teh
25. Hasil pengambilan sampel darah tikus
26. *Reagen* aktivitas enzim
27. *Full set kit* studio foto

DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

Singkatan	Arti dan Penjelasan
AIDS	: <i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>
ARE	: <i>Antioxidant Response Element</i>
ASEAN	: <i>Association of Southeast Asian Nations</i>
CAM	: <i>Complementary and Alternative Medicine</i>
CAT	: <i>Catalase</i>
CBD	: <i>Convention on Biological Diversity</i>
COX	: <i>Cyclooxygenase</i>
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
DIKTI	: Pendidikan Tinggi
DTAC	: <i>Dietary total antioxidant capacity</i>
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
EMEA	: <i>European Medicines Evaluation Agency</i>
ECM	: <i>Extra Cellular Matrix</i>
FDA	: <i>Food and Drug Administration</i>
FFI	: Fauna and Flora International
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
GPx	: <i>Glutathione Peroxidase</i>
HIV	: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
IC	: <i>Inhibitory Concentration</i>
IGF	: <i>Insulin-like Growth Factor</i>
LED	: <i>Light Emitting Diode</i>
LOAEL	: <i>Oral Rate Chronic Toxicity</i>
LOS	: <i>Length of Stay</i>
LOX	: <i>Lipoxygenase</i>
mdpl	: meter dari permukaan laut
NADPH	: <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotida Phosphate</i>
NF-kB	: <i>Nuclear Factor Kappa-B</i>
Nrf2	: <i>Nuclear Factor Erythroid-2 Related-Factor 2</i>
PBB	: Perserikatan Bangsa Bangsa
PKC	: <i>Protein Kinase C</i>
PDGF	: <i>Plateled Derived Growth Factor</i>
PMN	: <i>Polymorphonuclear</i>
PPOK	: Penyakit Paru Obstruktif Kronik
RISKESDAS	: Riset Kesehatan Dasar
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
rpm	: <i>revolutions / rotation per minute</i>
UHC	: <i>Universal Health Coverage</i>
UN	: <i>United Nations</i>
SDG	: <i>Sustainable Development Goal</i>
Se	: Selenium
SINTA	: <i>Science and Technology Index</i>
SIRS	: <i>Systemic Inflammatory Response Syndrome</i>
SSI	: <i>Surgical Site Infection</i>

SOD	: <i>Superoksida Dismutase</i>
TGF	: <i>Transforming Growth Factor</i>

Lambang/singkatan	Arti dan Penjelasan
THM	: <i>Traditional Herbal Medicine</i>
TLR	: <i>Toll Like Receptors</i>
TMJ	: <i>Temporo Mandibular Joint</i>
TSA	: <i>Total Status Antioksidan</i>
T&CM	: <i>Traditional & Complementer</i>
OTC	: <i>Over-The-Counter</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka adalah terputusnya jaringan tubuh akibat berbagai sebab seperti trauma, perubahan suhu, paparan bahan kimia, ledakan, sengatan listrik dan gigitan binatang. Setiap luka memiliki potensi mengalami gangguan proses penyembuhan sehingga mengakibatkan terjadinya peningkatan jejas selular, baik yang bersifat lokal ataupun yang bersifat *systemic inflammatory response syndrome* (SIRS). Heal *et al.*, (2014) dalam laporannya menyebutkan 5 % pasien yang menjalani prosedur pembedahan akan berkembang menjadi SSI. Data ini menyoroti pentingnya pencegahan, deteksi dan penatalaksanaan yang baik terhadap luka operasi. (Brunicardi, 2019; Pansara *et al.*, 2020; Surjantoro *et al.*, 2022)

Guest *et al.*, (2020) memperkirakan selama periode 2012/13 hingga 2017/18, peningkatan prevalensi luka tahunan sebesar 71 % dari 2,2 juta menjadi 3,8 juta kasus, peningkatan terbesar terjadi pada jenis luka akut sebesar 80 %.

Sesuai laporan Riskesdas (2018) dari seluruh proporsi jenis cedera yang terjadi di Indonesia 20,1 % mengalami luka. Prevalensi luka di Indonesia adalah 8,2 %. Proporsi jenis luka yang menunjukkan tiga urutan tertinggi adalah luka lecet, terkilir dan luka robek, jenis luka yang paling sering terjadi adalah luka lecet dengan persentase 70,9 % dan diikuti oleh luka robek sebesar 23,2 %. Penyebab luka tertinggi yaitu terjatuh sebesar 40,9 % dan kecelakaan motor sebesar 40,6 %.

Secara umum luka akibat trauma harus diperiksa setiap hari untuk mengamati kemajuan penyembuhan dan mengevaluasi adanya tanda infeksi. Brunicardi (2019) menyimpulkan bahwa penyembuhan luka merupakan suatu proses sistematis dengan reaksi yang berurutan. Proses penyembuhan secara klasik dibagi menjadi empat fase: fase hemostatis, fase inflamasi, fase proliferaatif dan fase maturasi diikuti *remodelling*. Setelah struktur tubuh cedera proses inflamasi dimulai dan berbagai sel imun tertarik

ke area luka. Sel proteksi akan mengeluarkan sitokin pro-inflamasi, yang di dominasi oleh neutrofil dan akan menghasilkan spesies oksigen reaktif/*Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam jumlah besar untuk melindungi tubuh terhadap infeksi namun jika jumlah ROS yang diproduksi berlebihan akan merusak jaringan sekitarnya. (Kurahashi & Fujii, 2015; Sun *et al.*, 2014; Tottoli *et al.*, 2020)

Peningkatan radikal bebas melebihi normal menyebabkan menurunnya antioksidan yang berfungsi untuk menetralsir ROS, sehingga kadar Total Status Antioksidan (TSA) dalam tubuh mengalami penurunan yang menyebabkan kerusakan jaringan. Kondisi penyakit kronis merupakan salah satu penyebab meningkatnya angka TSA. (Abbasi *et al.*, 2019; Kamilatussaniah *et al.*, 2015; Kasote *et al.*, 2015)

Tubuh memiliki mekanisme perlindungan untuk mencegah kerusakan makromolekul sel akibat stres oksidatif yang disebabkan oleh aktifitas radikal bebas dengan mengkativasi antioksidan endogen enzimatik dalam tubuh yang terdiri dari: enzim Superoksida Dismutase (SOD); Katalase (CAT) dan Glutation Peroksidase (GPx). (Aziz *et al.*, 2016; Supasuteekul *et al.*, 2017) Antioksidan endogen mampu merubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi kurang reaktif dengan bantuan GPx yang berperan sebagai pendonor elektron yang kuat dalam menangkap radikal bebas, sehingga dapat mencegah terjadinya stres oksidatif yang akan menghambat penyembuhan luka. Enzim CAT berfungsi untuk menangkap dan menguraikan radikal bebas yang ada dalam sel dan mempercepat degradasi senyawa radikal bebas, sedangkan SOD akan mengubah anion superoksida menjadi bentuk stabil, yaitu hidrogen peroksida dan akan menekan radikal bebas. (El-Ferjani *et al.*, 2016; Riyanti *et al.*, 2014; Shao *et al.*, 2020; Younus, 2018)

Tingkat pencegahan penyakit menurut Leavell dan Clark (1958) terdiri dari pencegahan primordial (*health promotion*), pencegahan primer (*specific protection*), pencegahan sekunder (*early diagnosis and prompt treatment*), pencegahan tersier (*disability limitation*) dan rehabilitasi (*rehabilitation*). (Maulana, 2009) *Spesific health protection* untuk pencegahan terjadinya peradangan kronis dapat dilakukan dengan melakukan diet rutin bahan herbal yang mengandung senyawa bioaktif

imunomodulator. Zat ini bekerja dengan memodulasi sistem imun sehingga berperan dalam menjaga kesehatan tubuh dan dapat memperbaiki kerusakan tubuh salah satunya proses penyembuhan luka. Marnewick *et al.*, (2000) dalam laporannya menyebutkan bahwa mengkonsumsi teh herbal secara rutin tidak hanya menjadi sumber antioksidan alami yang baik tetapi juga berkhasiat untuk mempersiapkan tubuh melakukan perbaikan bila terjadi proses kerusakan. (Derthi Widhyari *et al.*, 2009; Pertiwi & Atun, 2022).

Produk herbal yang dikonsumsi secara teratur dapat memberikan konsentrasi metabolit tanaman aktif secara farmakologis pada tubuh sehingga memiliki efek terapeutik. Penelitian ini melaporkan bahwa pemberian teh ramania yang dikonsumsi secara rutin pada pagi dan sore hari memiliki manfaat pencegahan pada level *specific protection* melalui peningkatan aktivitas biologis tubuh dengan menginduksi kadar enzim antioksidan endogen,

Dietary Total Antioxidant Capacity (DTAC) adalah indikator kualitas diet yang digunakan untuk memperkirakan kekuatan kumulatif antioksidan di dalam tubuh. DTAC terlibat dalam promosi kesehatan dan pencegahan penyakit karena kapasitas antioksidan kumulatif dari semua antioksidan yang ada dalam makanan dan minuman untuk menangkal radikal bebas. Prinsip ini sejalan dengan *Five Level of Prevention* yang diajukan Leavel & Clark (1965). Selain didukung dari faktor sistemik, penyembuhan luka juga dapat didukung dari faktor lokal seperti oksigenasi, infeksi, benda asing dan ketersediaan pembuluh darah. (Abbasi *et al.*, 2019; Edelman & Connelly, 2017; S. Guo & DiPietro, 2010) Wüpper *et al.*, (2020) melaporkan uji teh herbal daun kuding memiliki aspek keamanan pada hewan coba tikus dengan dosis 10.000 mg/kg yang diberikan selama 14 hari melalui pemberian oral tidak mencapai angka kematian 50 %.

Untuk mendukung penyembuhan pada luka beberapa obat lokal sudah beredar dipasaran, pada luka kulit terdapat beberapa pilihan obat topikal seperti salep *povidone iodine* 10 % dan *cadexomer iodine* 0,9 % (Iodosorb) dengan manfaat antiseptik dan antimikroba untuk menghambat perkembangan bakteri sehingga risiko infeksi; Bacitrasin, neosporin dan silver sulfadiazine berbeda dengan salep antiseptik, salep antibiotik tersebut memiliki kemampuan bakteristatik sekaligus juga bakteriosid. (Gupta *et al.*,

2022; Opatha *et al.*, 2022; Rambe *et al.*, 2022; Smith, 2020) Selain itu obat-obatan dengan sediaan topikal berfungsi untuk akselerasi penyembuhan luka dengan cara menstimulus pembentukan jaringan baru, meratakan, menghaluskan serta memudahkan bekas luka termasuk luka bakar dengan komposisi berbahan kombinasi ekstrak dan bahan kimia dasar kimia seperti: Bioplacenton *jelly* 10 % yang memiliki komposisi ekstrak placenta dan Neomycin sulfate; Dermatrix Ultra yang memiliki bahan aktif gel silikon dan vitamin C ester; Madecassol yang memiliki komposisi ekstrak *Cantella asiatica* dan keloid. Dari beberapa contoh obat topikal penyembuhan luka yang sudah beredar, sediaan topikal dengan bahan dasar alam sangat jarang ditemukan.

Dalam memilih metode perawatan luka yang tepat pada dasarnya harus berdasarkan pertimbangan biaya (*cost*), kenyamanan (*comfort*) dan keamanan (*safety*). Dengan adanya kemajuan ilmu pengetahuan dan inovasi di bidang kesehatan, teknologi yang sangat pesat membuat perawatan luka mengalami perkembangan. Bioteknologi menjadi solusi yang terbaik untuk menghasilkan senyawa yang diperlukan dalam jumlah yang diinginkan dan dengan cara yang ramah lingkungan. Kemajuan signifikan dalam bioteknologi dan produksi metabolit sekunder senyawa bioaktif dengan menggunakan sistem kultur sel tanaman ataupun mikroorganisme, banyak obat yang diturunkan secara semi-sintetis menggunakan prekursor dari tanaman. Sebagian besar peran industri farmasi yang terkait dengan bahan alam diambil alih oleh industri kecil bioteknologi yang berfokus pada identifikasi senyawa kandidat obat dari ekstrak bahan alam dan kemudian dikembangkan menjadi obat-obatan. Saat ini terdapat senyawa kandidat obat yang berasal dari tumbuhan dan sedang dalam tahap uji klinis, beberapa di antaranya telah menjadi obat yang tersedia secara komersial. (Alamgir, 2018; Audah, 2019; Kurnaz & Aksan Kurnaz, 2021; Pandey *et al.*, 2017)

Banyak faktor yang mempengaruhi penggunaan obat herbal maupun tradisional di masyarakat, seperti usia, status sosial, status ekonomi, ketersediaan fasilitas kesehatan yang menyediakan obat, mahalnya harga obat modern dan adanya efek samping dari penggunaan obat-obatan modern. Penggunaan obat tradisional di Indonesia masih tergolong kecil bila

dibandingkan dengan negara-negara lain seperti Cina, Korea dan India yang telah mengintegrasikan pengobatan tradisional kedalam sistem pelayanan kesehatan. Salah satu yang menjadi alasan adalah kurangnya riset yang menjadi bukti ilmiah mengenai khasiat dan keamanan obat tradisional. Hasil survei nasional tahun 2000 menyimpulkan bahwa 15,6 % masyarakat Indonesia menggunakan obat tradisional untuk pengobatan sendiri dan angkanya meningkat menjadi 31,7 % pada 2001. (Dewoto, 2007; Jennifer & Saptutyningsih, 2015; Pengpid & Peltzer, 2018; Supardi & Susyanty, 2010)

Perawatan luka dengan aplikasi topikal merupakan bagian dari pengobatan adjuvan yang terbukti dapat menurunkan rasa nyeri secara signifikan sekaligus penatalaksanaan infeksi pada luka, namun penggunaan obat topikal yang berbahan dasar kimia dapat memunculkan efek samping. Hal ini dapat dihindari dengan penggunaan obat-obatan tradisional jika bahan obat yang digunakan tepat, dosis yang tepat, waktu penggunaan yang tepat, cara penggunaan yang tepat, telaah informasi yang tepat dan tidak ada indikasi penyalahgunaan. Selain itu, kualitas dan keamanan yang berasal dari bahan alam dipengaruhi oleh susunan dan konsentrasi dari konstituen di dalam sediaan. (Badan Pengawasan Obat dan Makanan, 2014; Fantozzi *et al.*, 2019; Rofida, 2012; Sari, 2006; Sumayyah & Salsabila, 2017)

Pengobatan komplementer dan tradisional dikembangkan dari tanaman obat yang memiliki peran penting dalam mencegah dan mengobati penyakit manusia. Fitokimia bioaktif yang ada di dalamnya berperan penting dalam promosi kesehatan dan pencegahan penyakit. Khasiat kuratif tanaman obat karena memiliki metabolit atau senyawa bioaktif yang memiliki efek farmakologis, misalnya: alkaloid, fenol, flavonoid, terpenoid, glikosida dan saponin. Sebagian besar metabolit ini diperoleh dari tanaman karena sintesis *in vitro*. (Alamgir, 2018)

Pengobatan komplementer dan tradisional atau *Traditional Herbal Medicine* (THM) atau *Complementary and Alternative Medicine* (CAM) terus digunakan secara luas di sebagian besar negara. *World Health Organization* (WHO) atau Badan Kesehatan Dunia dibantu oleh para ahli terus melakukan analisis komprehensif tentang status CAM di seluruh dunia untuk mendukung pengembangan obat herbal dengan ikut merumuskan strategi pengembangan dan penggunaan obat tradisional dengan Program Strategi

Pengobatan Tradisional WHO 2014-2023. WHO juga mendorong negara anggota untuk menyediakan pelayanan obat tradisional yang aman, bermutu dan efektif serta terintegrasi ke dalam sistem kesehatan untuk mencapai *Universal Health Coverage and The Sustainable Development Goals*. (Oyebode *et al.*, 2016; *World Health Organization (WHO)*, 2013)

Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai tumbuhan berkhasiat obat adalah ramania (*Bouea macrophylla Griffith*) yang ada di Kalimantan Selatan. Hal ini karena daun ramania memiliki metabolit sekunder seperti flavonoid, fenol, tanin, saponin, terpenoid dan steroid. N. T. Nguyen *et al.*, (2020) menyimpulkan daun ramania memiliki beberapa senyawa aktif yang berfungsi sebagai antioksidan dan antiinflamasi diantaranya *2-Methyl-cis-7,8-epoxynonadecane*; *Caryophyllene*; *Hexadecanoic acid, ethyl ester*; *Humulene*; *Oxiraneundecanoic acid, 3-pentyl-, methyl ester, trans-*; *Phytol*; *Retinol, acetate*; *Squalene*; *Vitamin E*; *γ-himachalene*. (Taufiqurrahman & Rahman, 2017; Rizkia *et al.*, 2021; Sukalingam, 2018)

Bahan alam yang dapat memiliki kandungan dan manfaat sebagai obat dalam mempercepat proses pemulihan luka yaitu ramania atau gandaria atau *Bouea macrophylla Griffith* yang tergolong dalam keluarga *Anacardiaceae* dan sering disebut juga sebagai *Manggo Plum*, *Marian Plum* yang banyak tumbuh di Asia Tenggara dengan ketinggian di bawah 300 m. Di Kalimantan Selatan, tanaman ini dibudidayakan untuk pohon peneduh, sebagai tanaman hias dan buahnya biasa dikonsumsi oleh masyarakat sekitar. Ramania memiliki daun yang berwarna hijau, batang kokoh dan berumur panjang, tumbuh hingga 27 m dan tumbuh subur pada tanah yang gembur dan mendapatkan matahari penuh. (Aryzki, Saftia, Susanto, 2019; Harsono, 2017; Harsono *et al.*, 2016, 2018; Rajan & Bhat, 2020)

Pengembangan riset pohon penelitian daun ramania ini sudah dimulai sejak tahun 2016. Berangkat dari keprihatinan terhadap terbatasnya sediaan obat penyembuhan luka yang beredar dipasaran dan erat kaitannya dengan tingginya angka kejadian luka, sebagai seorang ahli Bedah Mulut dan Maksilofasial konsultan trauma wajah dan kelainan *temporo mandibular joint* (TMJ) serta profesi sebagai seorang pendidik di Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat yang memiliki visi terwujudnya ULM

sebagai universitas terkemuka dan berdaya saing di bidang lingkungan lahan basah.

Hasil identifikasi potensi etnobotani dan etnografi tumbuhan ramania menunjukkan bahwa ramania menjadi salah satu tanaman dengan sebaran yang merata serta tumbuh pada semua kabupaten di wilayah Kalimantan Selatan. Kemudahan mendapatkan bahan baku menjadi sebuah kekuatan dan potensi dalam mendukung hilirisasi produk dan dikembangkan meluas dengan melibatkan sektor industri bila dikemudian hari daun ramania terbukti dapat berperan sebagai terapi adjuvan untuk terapi pencegahan peradangan dan penyembuhan luka.

Berdasarkan tahapan standarisasi farmasitikal bahan alam menuju fitofarmaka, pohon penelitian ini telah sampai pada tahap uji preklinik untuk menjadi obat herbal terstandar. Penelitian pendahuluan tanaman herbal ini secara *in vitro* telah dilakukan untuk mengkaji kandungan serta prosedur pemrosesan agar menghasilkan ekstrak dengan kandungan yang maksimal. Berbagai uji *in vivo* telah dilakukan untuk melihat potensi tanaman ini terutama pada proses penyembuhan luka.

Skrining fitokimia ekstrak metanol ramania menunjukkan bahwa daun dan buahnya memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, kuinon, saponin, total fenol, tanin, sterol dan triterpenoid dan vitamin C. Senyawa-senyawa tersebut memiliki potensi farmakologis serta aktivitas fisiologis, seperti aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antikanker, antihiperglikemik dan antidiabetes, serta efek sebagai antibiotik. Wu *et al.*, (2019) menyimpulkan bahwa triterpenoid berpotensi menghambat agen inflamasi yang dipicu oleh *Nuclear Factor Kappa-B* (NF- κ B) yang memiliki peran sebagai faktor kunci pada respon inflamasi dengan melakukan stimulasi faktor pro inflamasi melalui induksi fosforilasi dari dua subunit kinase IKK α dan IKK β (N. H. Nguyen *et al.*, 2020a; Sukalingam, 2018

Manfaat antioksidan pada ramania dibuktikan dengan adanya kandungan fenol yang tinggi serta memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai *Inhibitory Concentration* (IC) 50 4,89 ug/mL. Hasil ekstraksi daun ramania dengan metode maserasi akan menghasilkan kandungan total flavonoid yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan kandungan ekstraksi dari dahan ramania. Flavonoid terbukti memiliki

aktivitas antiinflamasi melalui mekanisme pembatasan produksi enzim yang menginduksi proses inflamasi seperti *Cyclooxygenase* (COX) dan *Lipoxygenase* (LOX). Efek anti inflamasi dan antioksidan pada ekstrak daun ramania memiliki potensi yang besar dalam meningkatkan kualitas proses penyembuhan luka. (Taufiqurrahman & Erwandi, 2018; Poonam *et al.*, 2019; Taufiqurrahman & Rahman, 2017; Rudiana *et al.*, 2018)

Kandungan flavonoid pada ekstrak ramania yang diberikan secara topikal pada luka insisi punggung tikus wistar dapat mempengaruhi peningkatan aktivitas enzim GPx, peningkatan aktivitas enzim CAT dan peningkatan aktivitas enzim SOD. Sedangkan, peningkatan jumlah sel fibroblas, ketebalan epitel dan kepadatan kolagen pada ekstrak ramania terjadi pada hari ke-7 dan terjadi penurunan jumlah sel fibroblas pada hari ke-14 jika dibandingkan dengan ekstrak daun Binjai (*Mangifera caesia*). (Taufiqurrahman & Amaliah, 2020; Taufiqurrahman & Beltsazar, 2019; Taufiqurrahman & Humaira, 2020; Taufiqurrahman & Indraputri, 2019; Taufiqurrahman & Mardhiati, 2019; Taufiqurrahman & Nabilah, 2020)

Berdasarkan hasil penelitian seperti tersebut diatas, tumbuhan ramania terbukti berpotensi menjadi tanaman obat. *Novelty* dari penelitian ini adalah teh daun ramania dapat dijadikan sebagai alternatif pencegahan peradangan dan gel ekstrak daun ramania dapat dijadikan terapi adjuvan untuk proses penyembuhan luka melalui jalur antifiinflamasi dan stres oksidatif.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah di atas, dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut:

1. Apakah teh daun ramania dan teh daun *Camellia sinensis* dapat digunakan untuk pencegahan peradangan?
2. Apakah gel ekstrak daun ramania 15 % dan gel ekstrak daun pegagan 15 % dapat digunakan untuk penyembuhan luka?
3. Apakah teh daun ramania dan teh daun *Camellia sinensis* yang diberikan gel ekstrak ramania 15 % dan gel ekstrak pegagan 15 % dapat digunakan untuk pencegahan peradangan dan penyembuhan luka

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh teh daun ramania dan teh daun *Camellia sinensis* terhadap pencegahan peradangan serta mengetahui pengaruh penambahan gel ekstrak daun ramania 15 % dan penambahan gel ekstrak daun pegagan 15 % terhadap penyembuhan luka.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menilai dan menganalisis perbedaan peningkatan kadar SOD, CAT dan GPx serta indeks eritema pada kelompok sebelum dan kelompok setelah perlakuan pemberian teh daun ramania, teh daun *Camellia sinensis* dan kelompok kontrol
2. Menilai dan menganalisis perbedaan kadar enzim SOD, CAT dan GPx serta indeks eritema antara kelompok yang diberikan gel ekstrak daun ramania 15 % dengan kelompok yang diberikan gel ekstrak daun pegagan 15 % dan kelompok kontrol
3. Menilai dan menganalisis perbedaan kadar enzim SOD, CAT dan GPx serta indeks eritema antara kelompok yang diberikan teh ramania dan gel ekstrak daun ramania 15 % dengan kelompok yang diberikan teh ramania dan gel ekstrak daun pegagan 15 % serta kelompok kontrol
4. Menganalisis perbedaan kadar enzim SOD, CAT, GPx dan indeks eritema antara kelompok yang diberikan teh ramania dengan gel ekstrak daun ramania 15 % dan gel ekstrak daun pegagan 15 %; dengan kelompok yang diberikan teh *Camellia sinensis* gel dengan ekstrak daun ramania 15 % dan gel ekstrak daun pegagan 15 %

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Ilmiah

- 1.4.1.1 Penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi pembelajaran serta wawasan untuk kemajuan pengetahuan dibidang kesehatan masyarakat dan kedokteran gigi.
- 1.4.1.2 Penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi pembelajaran serta wawasan untuk kemajuan pengetahuan dibidang kesehatan masyarakat sebagai upaya pencegahan peradangan.
- 1.4.1.3 Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan referensi penelitian selanjutnya mengenai efek pemanfaatan daun ramania untuk pencegahan peradangan dan penyembuhan luka.

1.4.2 Manfaat Aplikatif

- 1.4.2.1 Hasil penelitian dapat dijadikan sebagai salah satu sumber informasi mengenai manfaat tumbuhan ramania bagi Dinas Kehutanan dan Dinas Lingkungan Hidup dan menjadikan pohon ramania sebagai salah satu budidaya unggulan dalam pemanfaatan sumber daya alam Kalimantan Selatan yang dapat digunakan sebagai alternatif dalam upaya pencegahan peradangan dan penyembuhan luka.
- 1.4.2.2 Memberikan bukti empiris kepada pemerintah daerah maupun pusat tentang manfaat tumbuhan ramania sebagai salah satu sumber kearifan lokal.
- 1.4.2.3 Menghasilkan suatu model intervensi nutrisi dengan bentuk konsumsi harian teh daun ramania untuk pencegahan peradangan.

- 1.4.2.4 Menghasilkan suatu model intervensi penyembuhan luka dengan pemberian ekstrak daun ramania untuk meningkatkan kualitas penyembuhan luka.
- 1.4.2.5 Apabila penelitian ini terbukti bermanfaat, maka pemberian teh daun ramania dapat berimplikasi positif bagi peningkatan derajat kesehatan masyarakat sebagai upaya pencegahan terhadap peradangan.
- 1.4.2.6 Apabila penelitian ini terbukti bermanfaat, maka pemberian teh ramania dan gel ekstrak daun ramania dapat menjadi sebuah wacana baru yang memiliki kebermanfaatan khususnya di bidang ilmu bedah mulut dan maksilofasial dan umumnya dalam ruang lingkup ilmu kedokteran dan ilmu kesehatan masyarakat sebagai terapi adjuvan dalam peranannya sebagai obat penyembuhan luka.
- 1.4.2.7 Apabila penelitian ini terbukti bermanfaat, maka pemberian teh ramania dan gel ekstrak daun ramania memiliki implikasi positif dalam menekan biaya pengobatan

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Five Level of Prevention*

Pada akhir 1940-an, Leavel dan Clark mengusulkan tiga tingkat pencegahan: primer, sekunder dan tersier. Dan dari ketiga konsep tersebut diurai menjadi 5 level *of prevention*. Istilah "pencegahan primer" digunakan untuk menggambarkan "langkah-langkah yang berlaku untuk penyakit tertentu atau kelompok penyakit untuk mencegah penyebab penyakit sebelum mereka melibatkan manusia". Konsep pencegahan telah berkembang seiring waktu. Definisi Leavel dan Clark berorientasi pada penyakit, tetapi penerapan pencegahan secara keseluruhan melampaui masalah medis dan mengatasi masalah sosial lainnya. Melalui pencegahan, *"kita dapat menciptakan masyarakat yang menumbuhkan kesehatan yang baik untuk meningkatkan kualitas perawatan"*. Adapun penjabaran 5 level pencegahan sebagai berikut: (FH, 1959; Iqbal *et al.*, 2020; World Health Organization (WHO), 1984)

2.1.1 *Health Promotion*

Health promotion adalah sarana untuk meningkatkan partisipasi individu dan kolektif dalam aksi kesehatan dan penguatan program melalui penggunaan berbagai metode secara integratif. Metode-metode ini dipadukan melalui pendekatan komprehensif yang menjamin adanya tindakan di seluruh lapisan masyarakat, sehingga menghasilkan dampak kesehatan yang lebih baik. Praktik *health promotion* telah ada sejak lama meskipun penggunaan istilah tersebut untuk merujuk pada bidang tertentu baru dimulai pada tahun 1980an. Perkembangan *health promotion* sangat dipengaruhi oleh evolusi pendekatan luas lainnya terhadap pembangunan manusia seperti meningkatnya tuntutan akan keadilan sosial dan hak-hak perempuan, anak-anak dan kelompok minoritas, konsep kesehatan untuk semua, gerakan untuk melindungi dan memperbaiki

lingkungan fisik serta meningkatnya perhatian terhadap kemiskinan sebagai penyebab utama penyakit. (Glanz *et al.*, 2002; Korda & Itani, 2013)

Perkembangan *health promotion* merupakan bagian dari pencarian global terhadap cara efektif untuk mencegah penyakit dan memperbaiki kondisi kehidupan secara umum. Ada peningkatan kesadaran akan kebutuhan untuk mengatasi perilaku, gaya hidup yang merupakan praktik budaya yang berbahaya dan faktor sosioekonomi, fisik dan biologis mendasar lainnya, yang di sini disebut sebagai faktor penentu kesehatan, sehingga dapat meningkatkan kesehatan. Aksi *health promotion* berkontribusi terhadap pencapaian tujuan prioritas program kesehatan dengan peningkatan pengetahuan dan keterampilan individu melalui kesehatan, pendidikan dan informasi pendidikan komunikasi, penguatan aksi masyarakat melalui mobilisasi sosial dan menciptakan lingkungan yang protektif dan mendukung kesehatan melalui mediasi dan negosiasi. (Glanz *et al.*, 2002; Korda & Itani, 2013)

2.1.2 *Specific Health Protection*

Perlindungan khusus yang dimaksud pada tahap ini adalah perlindungan bagi orang atau kelompok orang yang berisiko terkena penyakit tertentu. Perlindungan dimaksudkan agar kelompok berisiko dapat bertahan dari paparan epidemi pada kelompok tersebut. Oleh karena itu, perlindungan khusus ini juga bisa disebut kekebalan buatan.

Specific protection yang dimaksud dalam tahapan ini adalah perlindungan yang diberikan kepada orang-orang atau kelompok yang berisiko terkena suatu penyakit tertentu. Perlindungan tersebut dimaksudkan agar kelompok yang berisiko tersebut dapat bertahan dari serangan penyakit yang menyerang. *Specific protection* merupakan usaha yang ditujukan kepada pejamu dan atau pada penyebab untuk meningkatkan daya tahan maupun untuk mengurangi risiko terhadap penyakit tertentu. Terdapat dua macam strategi pokok dalam usaha pencegahan primer, yakni strategi sasaran populasi secara keseluruhan serta strategi sasaran hanya

terbatas pada kelompok risiko tinggi. Strategi pertama memiliki sasaran lebih luas sehingga lebih bersifat radikal, memiliki potensi yang besar pada populasi dan sangat sesuai untuk sasaran perilaku. Sedangkan pada strategi kedua, sangat mudah diterapkan secara individual, motivasi subjek dan pelaksana cukup tinggi serta rasio antara manfaat dan tingkat risiko cukup baik. (*Institute for Work & Health*, 2015)

2.1.3 Early Diagnosis and Prompt Treatment

Diagnosis dini dan pengobatan yang tepat adalah langkah awal untuk mendeteksi penyakit, dapat dilakukan ketika penderita mengalami keluhan kesehatan, sehingga penyakitnya dapat segera diketahui dan segera diberikan pengobatan yang tepat. Upaya seperti ini dapat menentukan prognosis penyakit, sekaligus sebagai deteksi dini agar keluhan yang dialami tidak bertambah parah. Faktor yang membuat seseorang dapat sembuh dari penyakit tidak hanya dipengaruhi oleh jenis obat yang diminum dan kemampuan tenaga medis, tetapi juga dipengaruhi periode pengobatan diberikan. Semakin cepat pengobatan diberikan kepada penderita, maka semakin besar pula kemungkinan untuk sembuh.

Diagnosis dini, pengobatan yang cepat dan tepat dapat berimplikasi terhadap pengurangan biaya pengobatan serta mencegah kecacatan yang mungkin timbul jika suatu penyakit dibiarkan tanpa tindakan kuratif. Rendahnya pengetahuan dan kesadaran terhadap kesehatan serta penyakit, membuat deteksi penyakit-penyakit yang ada di masyarakat terlambat dilakukan. Pada beberapa masyarakat yang tidak kooperatif melakukan pemeriksaan dan pengobatan akan menyebabkan tidak memperoleh pelayanan kesehatan yang layak. Oleh sebab itu pendidikan kesehatan sangat diperlukan dalam tahap ini. Tujuan utama dari usaha ini adalah pengobatan yang tepat dan dilakukan secepatnya dari setiap jenis penyakit sehingga tercapai kesembuhan dengan cepat dan sempurna, pencegahan penularan kepada orang lain seluruh rangkaian prosedur tersebut akan mencegah terjadinya kecacatan yang diakibatkan sesuatu penyakit. (Kakushadze *et al.*, 2017; Sroczynski *et al.*, 2020)

2.1.4 Disability Limitation

Kurangnya pemahaman dan kesadaran masyarakat tentang kesehatan dan penyakit, seringkali membuat masyarakat tidak sepenuhnya berobat, mereka tidak sepenuhnya memeriksa dan mengobati keluhan kesehatan dan penyakit yang dialami, sehingga perawatan kesehatan tidak dapat dijalankan secara komprehensif dan optimal. Pada fase *disability limitation* pengetahuan kesehatan dan kesadaran berperilaku hidup sehat diperlukan sejak dini agar prognosa penyakit menjadi baik dan penderita terhindar dari komplikasi yang mungkin dapat terjadi. (Amelia, 2021; Sumarjo, 2015; Tiarasari, 2014)

2.1.5 Rehabilitation

Rehabilitasi merupakan tahapan yang bersifat pemulihan, ditujukan pada kelompok masyarakat dalam masa penyembuhan. Diharapkan agar masyarakat yang mengalami fase pemulihan benar-benar pulih dari sakit dan dapat beraktifitas dengan normal kembali. Pada suatu penyakit yang berpotensi menyebabkan kecacatan pada penderitanya, maka tahapan rehabilitasi ini merupakan tahapan yang menentukan kualitas kehidupan pasien di masa yang akan datang. Tujuan utamanya adalah mencegah proses penyakit lebih lanjut sehingga setiap individu dapat menjadi anggota masyarakat yang produktif dan berdaya guna. (Ballester *et al.*, 2022; Cole *et al.*, 2000; *Institute for Work & Health*, 2015)

2.2 Pengobatan Tradisional dan Komplementer

Undang-undang Kesehatan Republik Indonesia Nomor 36 Tahun 2009 (Pasal 1) mendefinisikan bahwa obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat. Pada pasal 47

menyebutkan bahwa upaya kesehatan diselenggarakan dalam bentuk kegiatan dengan pendekatan promotif, preventif, kuratif dan rehabilitatif yang dilaksanakan secara terpadu, menyeluruh dan berkesinambungan dan pelayanan kesehatan tradisional merupakan bagian integral dari penyelenggaraan upaya kesehatan. Pemerintah memfasilitasi dan mendukung masyarakat untuk mengembangkan pengobatan tradisional yang tercantum pada pasal 61 yaitu, masyarakat diberi kesempatan yang seluas-luasnya untuk mengembangkan, meningkatkan dan menggunakan pelayanan Kesehatan tradisional yang dapat dipertanggungjawabkan manfaat dan keamanannya. Obat Tradisional atau yang populer disebut jamu, merupakan salah satu modalitas dalam upaya kesehatan. Sumber obat tradisional yang sudah terbukti berkhasiat dan aman digunakan dalam pencegahan, pengobatan, perawatan dan atau pemeliharaan kesehatan, tetap dijaga kelestariannya. (Pemerintah RI, 2009)

2.3 Pengobatan *Tradisional* dan Komplementer Dalam Perspektif Global

Obat-obatan herbal saat ini dianggap sebagai sistem medis tertua dan paling umum digunakan di seluruh dunia. Sejak zaman prasejarah, manusia telah menggunakan berbagai produk alam seperti mikroba, tumbuhan, hewan dan organisme laut untuk mengobati dan meringankan penyakit. Banyak pengobatan tradisional yang telah berhasil melakukan pemeliharaan kesehatan umum dan kesehatan mulut dari berbagai entitas. Di antara keunggulan utama pengobatan tradisional adalah keahlian praktisi pengobatan tradisional dalam penanganan kasus yang ditangani serta penggunaan obat-obatan. Berbagai produk alami seperti pengobatan tradisional Cina, Ayurveda, Kampo, Unani, pengobatan tradisional Korea dan Homeopati. Jenis pengobatan tersebut telah dipraktikkan sejak ribuan tahun di berbagai belahan dunia dan berkembang menjadi sistem pengobatan yang lebih baik. (Asfaw Erku & Basazn Mekuria, 2016; Hakeem *et al.*, 2019)

Di benua Eropa dan Amerika Serikat terdapat peningkatan minat terhadap *Complementary and Alternative Medicine* (CAM) pada anak-anak dengan beberapa indikator karakteristik penggunaan pengobatan CAM, sementara di Australia prevalensi pengobatan dengan CAM sangat sedikit

diketahui. Sebanyak 70 – 80 % atau lebih dari populasi global menggunakan perawatan pengobatan CAM, dengan mayoritas bergantung pada tumbuh-tumbuhan obat. (Frawley *et al.*, 2017; Seal *et al.*, 2016)

Sebagian besar penduduk di negara berkembang dan negara maju cenderung mengandalkan obat-obatan herbal untuk perawatan kesehatan primernya, lebih dari 90 % orang di Afrika, 70 % di India, 70 % di Jerman, 48 % di Australia, 70 % di Kanada, 42 % di Amerika, 39 % di Belgia dan 76 % di Prancis memenuhi kebutuhan kesehatan mereka dengan menggunakan obat-obatan herbal. (Asfaw Erku & Basazn Mekuria, 2016)

Beberapa dekade terakhir pengobatan tradisional telah berkembang pesat seperti halnya pengobatan modern sebagai sarana pengobatan penyakit, kemajuan ini ditandai dengan terlihatnya peningkatan penggunaan tanaman obat untuk promosi kesehatan dan pengobatan penyakit di banyak negara termasuk negara maju. (Thomford *et al.*, 2018)

Akses mendapatkan perawatan medis yang memadai adalah hak asasi manusia, hal tersebut tertuang dalam agenda *United Nations* (UN) atau Perserikatan Bangsa Bangsa (PBB) tentang *Universal Health Coverage* (UHC), untuk mencapai *Sustainable Development Goal 3* (SDG 3). Agenda PBB 2030 tersebut bertujuan untuk memastikan bahwa semua orang berhak mendapatkan akses layanan kesehatan yang bersifat promotif, preventif, kuratif dan rehabilitatif. (Geck *et al.*, 2020) WHO juga turut menyoroti relevansi, mempelajari prevalensi dan korelasi tradisional, termasuk penggunaan obat herbal. (Peltzer & Pengpid, 2019)

World Health Organization menyoroti perlunya mengintegrasikan pengobatan CAM dalam sistem kesehatan nasional untuk mencapai UHC dengan tetap menghormati pilihan konsumen. Basis pengetahuan yang komprehensif adalah dasar untuk menetapkan kebijakan yang memungkinkan orang untuk mengakses CAM dengan cara yang aman, terhormat, hemat biaya dan efektif. (Geck *et al.*, 2020)

Association of Southeast Asian Nations (ASEAN) turut serta mengambil bagian dalam kampanye penggunaan dan pemanfaatan pengobatan tradisional. Data dari sekretariat ASEAN 2012 menyebutkan sekitar 80 % penduduk pedesaan di beberapa negara Asia dan Afrika bergantung pada pengobatan tradisional untuk tujuan perawatan primer. Peltzer & Pengpid, (2019) dalam laporannya menyampaikan bahwa

persentase penduduk Indonesia yang menggunakan obat tradisional pada tahun 2014 yaitu 20,99 %.

Lan *et al.*, (2020) menyimpulkan tentang konsep terapi kolaboratif dengan mengintegrasikan dua pengobatan, yaitu terapi dengan pendekatan konvensional dan pengobatan secara komplementer pada karsinoma sel skuamosa kepala dan leher dan pengobatan herbal tradisional atau THM atau CAM merupakan terapi berbasis biologis yang paling umum digunakan oleh pasien dengan Karsinoma Sel Skuamosa Kepala dan Leher.

2.4 Pengobatan Tradisional dan Komplementer Dalam Perspektif Ekonomi Kesehatan

The Convention on Biological Diversity (CBD) yang ditandatangani di Rio *Convention on Biological Diversity* pada tahun 1992 turut memperjuangkan nilai tanaman obat agar dapat menjadi sumber daya bioekonomi, selain itu juga dapat meningkatkan hak kekayaan intelektual budaya asli serta menjadi nilai tambah sumber daya alam bagi perekonomian negara-negara yang kaya akan keanekaragaman hayati. (Kurnaz & Aksan Kurnaz, 2021; Pandey *et al.*, 2017; Schmidt, 2012; Timmermans & Berg, 2003)

Salah satu tantangan penting dalam pengembangan CAM dengan basis tanaman herbal pada negara berkembang adalah lamanya proses pengumpulan bahan baku tanaman dan dukungan dari pengambil kebijakan karena adanya hambatan birokrasi. Kondisi tersebut akan berdampak dalam pengurangan insentif perusahaan-perusahaan di negara maju untuk berinvestasi ke negara berkembang karena adanya hambatan birokrasi, biaya dan waktu, sehingga akan menyebabkan rendahnya minat para investor untuk berinvestasi. (Astutik *et al.*, 2019; Pe, 2015; Pešić *et al.*, 2015; Piters *et al.*, 2006; Sahahidullah & Haque, 2010)

Fakta lain yang menyebabkan rendahnya minat investasi adalah bahwa investor lebih menyukai obat dari keragaman kimia dibandingkan dengan munculnya produk baru dari sumber bahan baku yang berasal dari alam. Umumnya, ekstrak tumbuhan yang mengandung bahan aktif yang telah diketahui manfaatnya lebih disukai oleh investor daripada tumbuhan obat yang baru. Di sisi lain, kurangnya akses global terhadap ekstrak tumbuhan obat dapat membatasi pengembangan investasi. (Cordell & Colvard, 2005; Pešić *et al.*, 2015; Piters *et al.*, 2006)

Kebijakan peraturan untuk tumbuhan obat atau produk biologis lainnya bervariasi di beberapa negara, semua produk herbal yang diproduksi harus dilisensikan sebagai produk obat herbal tradisional, di beberapa negara banyak produk herbal yang tidak terdaftar dan beberapa dijual tanpa disertai dengan ketentuan regulasi izin edar. (Committee, 2013; Tanga *et al.*, 2020)

Analisis WHO pada tahun 2012 menyimpulkan terdapat 133 negara anggota yang memiliki peraturan tentang obat-obatan herbal, disebutkan bahwa peraturan tersebut terdapat di hampir 70 % dari negara-negara anggota, sebagian dari isi peraturan tersebut berbeda dengan undang-undang farmasi tradisional. (J.B., 2000; Raynor *et al.*, 2011)

Badan Eropa untuk evaluasi produk obat atau *European Medicines Evaluation Agency* (EMA) memiliki pedoman khusus untuk *Over-The-Counter* (OTC), namun di beberapa negara, produk herbal dari tumbuhan obat, dijual sebagai obat OTC dan tidak memerlukan peraturan ketat dalam penjualan seperti halnya untuk jenis obat lainnya. (Muhammad & Awaisu, 2008)

Agen fitoterapi dari bahan herbal kadang dipasarkan sebagai sediaan ekstrak, namun sediaan herbal yang dipasarkan tersebut umumnya tidak disertai dengan keterangan kandungan bahan aktif hasil uji fitokimia. Saat ini masih sedikit pedoman yang mengatur obat-obatan herbal dan proses peraturan hukum yang berbeda di setiap negara, pedoman yang paling umum diterapkan oleh WHO adalah pedoman penilaian obat herbal yang menetapkan parameter dasar untuk evaluasi keamanan, efisiensi dan kualitas obat herbal. (Kurnaz & Aksan Kurnaz, 2021; Pandey *et al.*, 2017)

2.5 Etnobotani dan Etnomedisin

Etnobotani merupakan bagian dari etnobiologi, di mana etnobotani mempelajari tentang bagaimana masyarakat adat di lokasi tertentu memanfaatkan tumbuhan salah satunya sebagai sumber pengobatan dan pencegahan suatu penyakit. (Nuneza *et al.*, 2021; Tripathi & Voeks, 2017)

Etnobotani dapat dikategorikan dalam dua kelompok besar, yaitu: (1) etnobotani dasar yang mencakup penyusunan dan pengorganisasian informasi tentang biota yang diperoleh dari masyarakat adat dan masyarakat lain, seperti memperoleh data tentang tumbuhan dan hewan yang

bermanfaat, memahami bagaimana masyarakat mengelola lingkungan mereka dan belajar tentang leksikon dan klasifikasi yang mereka tentukan; (2) etnobotani kuantitatif dan eksperimental dasar yang terdiri dari dokumentasi dasar, evaluasi kuantitatif penggunaan, pengelolaan dan penilaian eksperimental. (Tripathi & Voeks, 2017)

Etnomedisin merupakan bidang studi etnobotani yang mengungkap kearifan lokal berbagai etnis yang menggunakan berbagai bahan alam untuk menjaga kesehatan. Penelitian etnomedisin ditujukan untuk menemukan senyawa kimia baru sebagai bahan baku pembuatan obat modern untuk pengobatan penyakit. Sebagian besar obat yang digunakan untuk pengobatan kanker merupakan hasil ekstraksi langsung dari tanaman karena terdapat senyawa sintetis yang tidak dapat dibuat atau biaya produksinya jauh lebih mahal daripada ekstraksi langsung dari tanaman. (Buckner *et al.*, 2016)

Bahan alam yang digunakan oleh masyarakat tradisional umumnya digunakan untuk memenuhi kebutuhan makanan dan pengobatan. Mereka berkeyakinan bahwa bahan alam disekitar dapat menyembuhkan penyakit. Masyarakat asli memiliki pengetahuan tentang bahan-bahan obat yang berada di alam berdasarkan jenis penyakit yang sering terjadi didalam kehidupan mereka. (Heinrich, 2012; Sultana *et al.*, 2022; Woldemariam *et al.*, 2021)

Selain pengobatan terhadap penyakit yang sedang berkembang, tujuan baru penelitian etnomedisin adalah untuk menemukan senyawa baru dengan efek samping yang lebih sedikit, munculnya efek resisten dari obat yang sudah ada, mengantisipasi munculnya penyakit baru di masyarakat, menciptakan obat baru yang mudah diperoleh dengan harga yang sangat ekonomis. (Buckner *et al.*, 2016)

Saat ini beberapa obat yang telah dikembangkan berasal dari tumbuhan yang memiliki bahan aktif melawan berbagai penyakit. Menurut WHO sekitar 80 % penduduk dunia bergantung pada obat-obatan alami, bahkan 25 % obat modern yang dipasarkan di dunia berasal dari tumbuhan. Hal tersebut mengakibatkan penelitian etnomedisin terus berkembang, terutama di negara yang kaya akan keanekaragaman hayati seperti Indonesia. (Nuneza *et al.*, 2021; Susiarti *et al.*, 2018)

2.6 Tumbuhan Obat

Tumbuhan telah menjadi bagian penting dalam pengobatan selama ribuan tahun yang lalu. Sistem pengobatan dan obat tradisional seperti Ayurveda di India, pengobatan tradisional Cina, pengobatan Unani di Arab, pengobatan Jamu di Indonesia dan berbagai macam pengobatan tradisional lainnya yang menggunakan tumbuhan sebagai komponen utama. Terdapat 40.000 - 70.000 jenis tanaman yang digunakan obat oleh masyarakat diberbagai dunia. 80 % pengobatan berbasis tumbuhan masih digunakan di negara-negara berkembang. Tumbuhan obat memiliki potensi yang tinggi sebagai sumber obat modern. (Ahmad Khan & Ahmad, 2018; Boy *et al.*, 2018; Hung, 2020; Taek *et al.*, 2021)

Tumbuhan obat dianggap sebagai sumber alam yang berharga karena memiliki senyawa alami yang unik untuk pengembangan obat antidiabetes, anti inflamasi, anti kanker dan anti mikroba. Tumbuhan obat merupakan bahan baku utama dalam praktik pengobatan tradisional di Cina, India dan banyak negara lain termasuk di Indonesia. Sebagian besar masyarakat Indonesia terutama di pedesaan menggunakan obat-obatan herbal tradisional yang dikenal sebagai jamu untuk mengobati penyakit. Jamu adalah kata dalam bahasa Jawa yang berarti obat tradisional dari tumbuh-tumbuhan. (Audah, 2019; Dechsupa *et al.*, 2007; Elfahmi *et al.*, 2014; Faleiro & Miguel, 2020; Mueller *et al.*, 2015)

Indonesia tercatat sebagai empat besar negara terkaya didunia dalam keanekaragaman hayati bahkan menempati peringkat kedua di dunia setelah hutan hujan Amazon, hal ini ditunjukkan oleh tingginya jumlah tanaman obat asli yang terdapat di Indonesia. Indonesia merupakan negara kepulauan yang memiliki lebih dari 14.000 pulau yang terletak di antara Samudra Hindia dan Pasifik merupakan Kawasan bagi sekitar 11 % atau lebih dari 30.000 jenis tumbuhan berbunga yang ada dunia dan biota lainnya baik di darat maupun laut. (Audah, 2019; Elfahmi *et al.*, 2014)

Obat herbal didefinisikan sebagai bahan atau preparat yang diperoleh dari satu atau lebih tanaman obat baik dari bahan mentah ataupun olahan yang mengandung fitokimia berupa metabolit atau senyawa bioaktif yang memiliki efek farmakologis, memiliki khasiat kuratif, memiliki sifat terapeutik dalam mencegah dan mengobati penyakit, memiliki manfaat lain

bagi kesehatan manusia dan memiliki peran penting dalam promosi kesehatan serta pencegahan penyakit. (Aina *et al.*, 2020; Alamgir, 2018)

Obat herbal sering ditemukan sebagai salah satu bentuk pengobatan CAM yang paling populer dan paling berkembang, tingkat prevalensi penggunaan obat herbal menunjukkan variasi yang luas sebesar 6 – 48 % di negara-negara Uni Eropa. CAM di definisikan sebagai suatu proses terkait sistem medis perawatan dan praktik kesehatan serta produk-produk yang tidak diperlakukan sebagai bagian dari pengobatan konvensional modern. Fitokimia yang terkandung dalam tumbuhan obat memiliki peran penting dalam pengurangan kejadian penyakit khronis, studi epidemiologis telah menunjukkan bahwa konsumsi makanan yang kaya akan fitokimia dan bioaktif lainnya dipercaya memiliki khasiat dalam pencegahan dan pengurangan penyakit kanker, penyakit kardiovaskular dan peningkatan fungsi kekebalan tubuh. (Asfaw Erku & Basazn Mekuria, 2016; Micha *et al.*, 2017; N. H. Nguyen *et al.*, 2020; Probst *et al.*, 2017; Rao & Ali, 2007; Welz *et al.*, 2019; Willett, 1995; Zhang *et al.*, 2015)

Complementary and Alternative Medicine umumnya lebih diminati dalam pengelolaan terapi berbagai penyakit kronis karena keragaman jenis obat, biaya yang relatif rendah serta tingkat kemanan obat yang baik. CAM banyak dimanfaatkan pada kasus kasus penyakit kronis diantaranya adalah: diabetes melitus, hipertensi, hiperlipidemia, osteoporosis, berbagai penyakit kardiovaskular, penyakit paru obstruktif kronik (PPOK), asma, epilepsi, obesitas, masalah kesehatan mulut, hepatitis C, *Human Immunodeficiency Virus/Acquired Immunodeficiency Syndrome* (HIV/AIDS), demensia, alzheimer, autoimun, parkinson, skizofrenia, gangguan bipolar, *multiple sclerosis*, glaukoma dan lain sebagainya. (Alamgir, 2018; Asfaw Erku & Basazn Mekuria, 2016)

Minat dan keyakinan masyarakat terhadap khasiat obat-obatan herbal, keterjangkauan biaya dan ketersediaan obat merupakan faktor terpenting yang mempengaruhi penggunaan obat herbal. Namun, karena kompleksitas dan keterbatasan eksperimental, belum seluruh CAM dapat menjelaskan tentang mekanisme kerja spesifik obat herbal tersebut. Efek sinergis mungkin ada di antara senyawa yang terjadi pada produk alami; namun, cara dan mekanisme aksinya jarang sangat jelas. Oleh karena itu, perlu untuk memanfaatkan sepenuhnya efek sinergis tersebut untuk

meningkatkan efektivitas obat. (Alkhamaiseh & Aljofan, 2020; Lee *et al.*, 2019; Yuan *et al.*, 2016)

Pada kehidupan sehari-hari, masyarakat dihadapkan pada pilihan obat herbal yang diakui efektif dan sistem kesehatan modern yang menawarkan layanan yang tidak memuaskan. Sementara keterjangkauan juga merupakan alasan penting masyarakat menggunakan obat herbal, biaya rumah sakit yang tinggi dan tidak adanya cakupan asuransi kesehatan yang memadai juga menjadi alasan orang tidak memilih layanan medis modern. Selain itu, terdapat hubungan yang signifikan antara pendapatan tahunan, pendidikan, jenis kelamin, usia, agama dan pekerjaan dengan penggunaan obat herbal. (Aina *et al.*, 2020)

Pada beberapa kasus, obat herbal lebih disukai daripada obat konvensional karena bio-karakteristik alamnya yang sangat besar, biaya yang lebih rendah, ketersediaan dan margin keamanan yang luas. Selain itu, banyak obat modern yang digunakan dalam kedokteran gigi memiliki efek samping yang telah diketahui. (Moghadam *et al.*, 2020)

Terdapat paradigma yang muncul di masyarakat bahwa obat tradisional yang digunakan dalam kedokteran gigi dapat meredakan sakit gigi, peradangan periodontal, dan penyakit mukosa mulut. Bidang kedokteran gigi juga sudah mulai memanfaatkan khasiat herbal untuk tujuan meredakan sakit gigi, radang gusi dan sariawan. Namun, sangat penting untuk memahami interaksi ekstrak tumbuhan dengan tubuh dan obat lain, karena banyak dari ekstrak ini memiliki efek anti inflamasi dan mencegah pendarahan, yang penting dalam perawatan gigi. Laporan awal aplikasi obat herbal dalam kesehatan mulut terkait dengan pengobatan tradisional India dan Cina telah menyebutkan bahwa Hippocrates menyarankan "*kombinasi penggunaan tawas, garam dan cuka sebagai obat kumur*". (J. Guo *et al.*, 2020; Martínez *et al.*, 2017; Moghadam *et al.*, 2020)

World Health Organization mendukung proyek penelitian klinis yang berkaitan dengan keamanan dan kemanjuran CAM dan mempromosikan penelitian strategis obat tradisional serta mendukung pengembangan berkelanjutan dari obat tersebut. Ilmu pengetahuan modern telah meningkatkan aksesibilitas, penerimaan dan kenyamanan obat tradisional, bukti empiris menunjukkan bahwa banyak obat yang efektif dan telah digunakan diperoleh dari tanaman yang merupakan aplikasi obat tradisional. (Yuan *et al.*, 2017)

Penemuan obat dari sumber alami melibatkan metodologi khusus yang terdiri dari teknik botani, fitokimia, biologi dan molekuler. Perkembangan terbaru dalam pemodelan molekul dan kimia kombinatorial telah lebih lanjut mendorong kemajuan penggunaan fitokimia dalam penyembuhan, pengendalian dan pengelolaan penyakit fisiologis, defisiensi, infeksi dan keturunan. (P. Sharma *et al.*, 2019)

Saat ini, sebagian besar peran industri farmasi yang terkait dengan bahan alam diambil alih oleh industri kecil bioteknologi yang fokus pada identifikasi senyawa kandidat obat dari ekstrak bahan alam dan mengembangkannya untuk menjadi obat-obatan. Saat ini, banyak senyawa kandidat obat yang berasal dari tumbuhan yang sedang dalam tahap uji klinis dan diperkenalkan oleh industri bioteknologi, yang beberapa diantaranya telah menjadi obat yang tersedia secara komersial.

Audah (2019) menyimpulkan bahwa sejak tahun 1981 hingga 2002, terdapat sekitar 28 % senyawa kimia baru yang diisolasi dari produk alam atau turunannya. Sebanyak 20 % di antaranya merupakan senyawa kimia analog dari bahan alam. Peneliti lain menyimpulkan bahwa di Amerika Serikat, sekitar 50 % obat yang disetujui oleh *Food and Drug Administration* (FDA) berasal dari produk alami atau turunannya. Produk alam juga sebagai titik awal pembuatan senyawa sintetik baru.

Penelitian etnobotani tumbuhan obat juga dilakukan di daerah hutan dataran rendah Bodogol yang merupakan kawasan dataran rendah Taman Nasional Gunung Gede Pangrango dimana kawasan tersebut telah menjadi area penelitian ekologi sejak tahun 2007. Studi etnobotani yang dilakukan di Taman Nasional Gunung Gede Pangrango sejak tahun 2009 mencatat terdapat 93 tanaman obat dan digunakan untuk mengobati kurang lebih 32 penyakit. (Susiarti *et al.*, 2018)

2.7 Ramania (*Bouea macrophylla* Griffith)

2.7.1 Morfologi Ramania

Ramania adalah tumbuhan tropis anggota family Anacardiaceae. Klasifikasi dari tumbuhan ramania: (Harsono, 2017; Hayati & Mindawati, 2019; Khairiah & Salim, 2020)

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Ordo	: <i>Sapindales</i>
Famili	: <i>Anacardiaceae</i>
Genus	: <i>Bouea</i>
Spesies	: <i>Bouea macrophylla</i> Griffith

Ramania adalah salah satu tanaman buah musiman yang tersebar luas di kawasan malesiana berasal dari kepulauan Indonesia dan Malaysia, ramania memiliki nama berbeda untuk setiap daerah, penamaan yang berkembang mengikuti pola penamaan yang berkembang di Kawasan Asia Tenggara sesuai dengan *daerahnya* antara lain: gandaria (Jawa), jataka, gandaria (Sunda), remieu (Gayo), barania (Dayak Ngaju), asam djanar; kedjau lejang; kundang rumania; ramania hutan; ramania pipit; rengas; tampusu; tolok burung; umpas (Kalimantan), dondoriah (Minangkabau), wetes (Sulawesi Utara), kalawasa, rapo-rapo kebo (Makassar), buwa melawe (Bugis), mapraang, somprang (Thailand), kundangan, kondongan, gondongan, sikundangan, rumenia, kemenya, rembunia, rumia, setar, serapoh, asal suku, mendang asal, gandaria, kundang (Malaysia), gandaria (Filipina), marian-plum (Inggris). (Harsono, 2017)



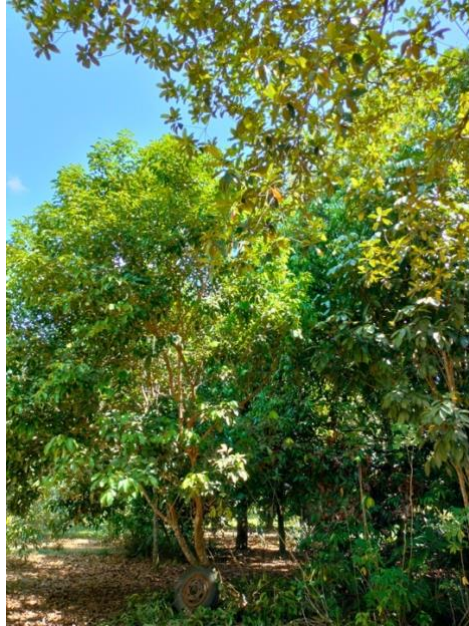
Gambar 2.1. Sebaran ramania di Indonesia (Harsono *et al.*, 2018)

Di Kalimantan Selatan, buah ini dikenal sebagai buah hutan karena bisa tumbuh dengan liar tanpa dibudidayakan. Buah, daun dan batang ramania dimanfaatkan oleh masyarakat sekitar, buah ramania muda berwarna hijau dan sering dikonsumsi sebagai rujak atau campuran sambal ramania sedangkan buah ramania matang berwarna kuning, memiliki rasa masam-manis dan dapat dimakan langsung. Daun ramania digunakan sebagai lalap, sedangkan batangnya dimanfaatkan sebagai papan dan bahan bangunan. Tanaman ini biasanya di tanam di pekarangan, ladang, maupun hutan, tanaman ini tumbuh dengan baik pada ketinggian 5 - 850 mdpl. Perkembangbiakan tanaman ini melalui cara generatif biji, atau vegetatif cangkok. Musim berbunga terjadi pada bulan Juni - November, sedangkan musim buah ramania terjadi kisaran bulan Maret - Juni. (Harsono, 2017; Hayati & Mindawati, 2019; Khairiah & Salim, 2020).

Ramania merupakan tanaman tropis dan bisa tumbuh di tanah yang subur, hutan dataran rendah dengan ketinggian 300 mdpl, namun dalam bila melalui pembudidayaan mampu tumbuh pada ketinggian sekitar 850 mdpl. Pohon ramania termasuk pohon dengan pertumbuhan yang lambat. Tanaman ramania merupakan salah satu tanaman yang hidup di negara tropis. (Concentration, 2020; Harsono, 2017)

Tanaman ramania memiliki ketinggian hingga 27 m dengan tajuk yang rapat, bulat, rimbun dengan daun yang menjuntai, dahannya lebar dan memanjang, dengan ujung tumpul. Ramania memiliki jenis daun tunggal, berbentuk bundar telur-lonjong hingga bentuk lanset atau jorong. Saat muda, daunnya berwarna putih yang kemudian berangsur ungu tua hingga menjadi hijau tua. Permukaan daun ramania mengkilat dan berujung runcing. Daun ramania memiliki ukuran berkisar antara 11 cm - 45 cm (panjang) dan 4 cm – 13 cm (lebar). Bunganya bersifat malai dan muncul di sekitar daun dengan warna kuning yang mirip bunga mangga. Buah ramania berwarna hijau saat muda, kuning saat matang dan mempunyai biji ungu cerah dengan bentuk agak bulat, berdiameter 2,5 cm - 5 cm. Buahnya bulat seperti kelereng, permukaan buah tidak memiliki bulu dengan daging buah yang mengeluarkan cairan kental, rasanya

asam hingga manis, dengan bau khas mirip terpen. Keping bijinya berwarna lembayung. (Concentration, 2020; Harsono, 2017; Hendra *et al.*, 2019)



Gambar 2.2. Pohon ramania (dokumentasi pribadi)



Gambar 2.3. Buah ramania (dokumentasi pribadi)



Gambar 2.4. Daun tumbuhan ramania (dokumentasi pribadi)

Buah ramania merupakan buah tropis yang memiliki rasa manis dengan rasa asam seperti manga (*Anacardiaceae*) tetapi rasanya sedikit berbeda, tekstur daging buah lembut seperti bubur dan dapat dimakan beserta dengan kulit buahnya. Buah yang manis memiliki warna kuning-oranye, buah ramania segar dapat dikonsumsi langsung atau dapat juga diasamkan, dibuat sebagai kolak, kadang juga disajikan bersama sayuran atau salad dan dihidangkan sebagai sambal ramania atau sambal gandaria. (N. Dechsupa *et al.*, 2019)

2.7.2 Kandungan Ramania

Bahan herbal menjadi pilihan sebagai bahan dalam mempercepat proses penyembuhan luka. Dalam pengembangan obat baru, bahan herbal yang diambil dari alam menjadi sumber yang dipilih, salah satunya ramania. Tumbuhan ramania merupakan tanaman rawa yang bisa ditemui di daerah Kalimantan Selatan. Habitat alami dari tumbuhan ramania ialah hutan dan tepi sungai. Diketahui bahwa daun ramania memiliki kandungan berupa senyawa flavonoid, tanin, fenol, terpenoid dan saponin. Berdasarkan skrining fitokimia *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS) yang dilakukan oleh N. H. Nguyen *et al.*, (2020) yang dilakukan di Vietnam dapat diketahui jika daun ekstrak ramania mengandung *caryophyllene*, *humulene*; *hexadecanoic acid, ethyl ester*; *phytol*; *hexadecanoic acid, ethyl ester*; *squalene*; vitamin E; *retinol, acetate*; dan *γ-himachalene* yang berpengaruh dalam menghambat inflamasi. Kandungan metabolit sekunder dari buah ramania adalah senyawa fenolik tanin, vitamin C, flavonoid, antosinin dan minyak atsiri. Senyawa asam amino esensial yang terkandung dalam buah ramania antara lain: isoleusin, leusin, penisalanin, metionin, treonin, valin, histidine, lisin, triptofan, sedangkan untuk asam amino non esensial dari buah ramania adalah: alanin, prolin, cistein, tirosin, asam aspartate, serin, asam glutamate, glisin dan arginin. (AM & K., 2018; Amir *et al.*, 2019; Anisa *et al.*, 2019; Dina & Taufiqurrahman, 2016; Fitriyani *et al.*, 2011; Hanifa & Susilawati, 2017; Jayantie *et al.*,

2022; Kumalasari *et al.*, 2019; Rajan *et al.*, 2014; Rajan & Bhat, 2017; Roni *et al.*, 2021; Rudiana *et al.*, 2018; Saftia aryzi, 2019; Shanmuga Rajan & Bhat, 2016; Syafarina, 2017)

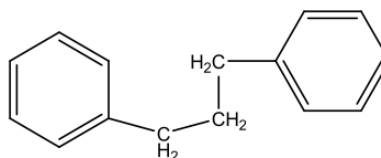
Kandungan nutrisi buah ramania segar sangat baik untuk menunjang pemenuhan nutrisi bagi tubuh, komposisi buah ramania per 100 g pada bagian buah yang dapat dimakan adalah 85 g air, 12 mg protein, 600 mg serat, 230 mg residu, 6 mg kalsium, 10,8 mg fosfor, 0,31 mg zat besi, 0,043 mg karoten, 0,031 mg tiamin, 0,025 mg riboflavin, 0,286 mg niasin dan 75 mg vitamin. Kandungan vitamin A dan vitamin C dari ramania menduduki urutan kedua setelah mangga dan jambu mente. (Tanasale, 2011)

Berdasarkan hasil penelitian perbandingan kandungan total flavonoid ekstrak daun ramania antara pelarut etanol dengan pelarut metanol diketahui bahwa ekstra etanol daun ramania terdapat senyawa metabolik flavonoid. Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder yang menjadi bagian golongan polifenol dengan struktur C6-C3-C6. (Taufiqurrahman & Rahman, 2017)

Flavonoid memiliki manfaat sebagai antinflamasi, anti kanker, antileukimia, anti-HIV dan anti malaria. Senyawa flavonoid mampu menghambat autooksidasi melalui mekanisme penangkapan radikal bebas karena bekerja sebagai antioksidan. Antioksidan juga bekerja sebagai penghenti dan penetralisir serta dapat memperbaiki kerusakan-kerusakan dalam tubuh dan mempercepat proses penyembuhan luka. flavonoid juga berperan sebagai antioksidan dan antimikroba yang berpengaruh dalam penyatuan luka juga mempercepat epitelisasi. (F.Palumpun *et al.*, 2017; Taufiqurrahman & Syafarina, 2017)

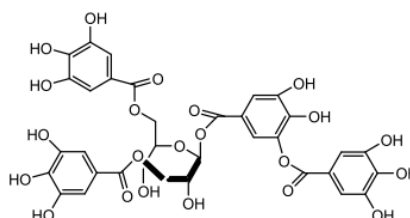
Flavonoid memiliki peran sebagai antioksidan, antikarsinogen, anti-inflamasi, antivirus, antitumor, dapat menghambat penyakit neurodegenerative, serta menjadi inhibitor peroksidasi lipid dan fragilitas. Flavonoid mampu menurunkan kadar NF-kB. Lipopolisakarida yang menstimulasi NF-Kb dengan induksi fosforilasi Ikb (inhibitor NF-kB). Makrofag juga dihambat oleh

flavonoid, sehingga mediator proinflamasi seperti IL–6 (interleukin-6) yang berpotensi menjadi stimulator diferensiasi osteoklas, resorpsi tulang dan menghambat osteogenesis yang mengakibatkan penurunan jumlah osteoblas juga ikut menurun. (Taufiqurrahman & Harliany, 2016; Murningsih & Fathoni, 2016; Sherman Salim & Mefina Kuntjoro, 2015; Taufiqurrahman & Syahdana, 2017)



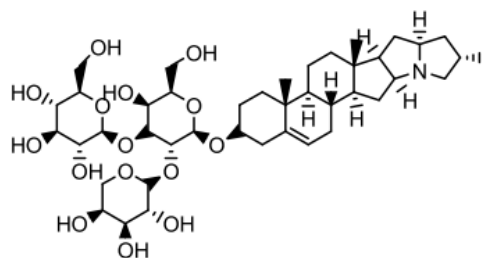
Gambar 2.5. Struktur senyawa flavonoid (Noer *et al.*, 2018)

Antioksidan yang dimiliki tanin berperan sebagai antiinflamasi melalui berbagai cara, di antaranya menjadi inhibitor dalam produksi oksidan O_2 oleh neutrofil, monosit dan makrofag. Produksi oksidan O_2 yang dihambat akan menurunkan produksi H_2O_2 yang menyebabkan produksi asam hipoklorid ($HOCl$) dan OH ikut terhambat. Tanin merupakan senyawa polifenol dengan berat molekul yang sangat besar yaitu lebih dari 1000 g/mol dan dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein. Tanin mempunyai peran biologis yang besar dikarenakan fungsinya mengendapkan protein serta mengkelat logam, sehingga tanin diperkirakan dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis. Tanin terbukti memiliki aktifitas astringen, antidiare, antiinflamasi, diuretik dan antiseptik. (Anisa *et al.*, 2019; Fitriyani *et al.*, 2011; Noer *et al.*, 2018)



Gambar 2.6. Struktur senyawa tannin (Noer *et al.*, 2018)

Saponin adalah senyawa dengan bentuk glikosida yang menyebar luas pada tanaman tingkat tinggi serta beberapa hewan laut dan termasuk dalam kelompok senyawa yang beragam dalam struktur, sifat fisikokimia dan efek biologisnya. Secara farmakologi, saponin terbukti berperan sebagai antiinflamasi, antibiotik, antifungi, antivirus, hepatoprotektor serta antiulser. Saponin berfungsi sebagai antiinflamasi karena mempunyai mekanisme menghambat terbentuknya eksudat dan menghambat terjadinya kenaikan permeabilitas vaskular. (Fitriyani *et al.*, 2011; Yanuartono *et al.*, 2017)



Gambar 2.7. Struktur senyawa saponin (Noer *et al.*, 2018)

Terpenoid bekerja dengan cara menghambat kerja enzim siklooksigenase yang berperan dalam mengkatalis pembentukan suatu prostaglandin. Prostaglandin berfungsi sebagai pengatur suhu dan mediator inflamasi. Selain itu, terpenoid juga melakukan penghambatan enzim fosfolipase melalui jalur asam arakhidonat. Enzim fosfolipase yang dihambat mengakibatkan pembentukan asam arakhidonat dari fosfolipid juga terhambat. (Maifitriant *et al.*, 2019; Sani & Yustimartina, 2016)

Fenol dapat berfungsi sebagai antiinflamasi. Senyawa fenol seperti asam ellagat dan mangiferin berfungsi sebagai antiinflamasi yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Senyawa fenolik memiliki mekanisme melalui penangkapan radikal bebas yang dapat mengakibatkan terjadinya kerusakan jaringan sehingga dapat memicu terjadinya biosintesis arakhidonat menjadi mediator inflamasi yaitu prostaglandin dan menghambat enzim siklogenase sehingga dapat berperan sebagai antiinflamasi. (Anisa *et al.*, 2019; Maulana, 2020)

Tabel 2.1. Daftar senyawa aktif ekstrak daun ramania (N. H. Nguyen *et al.*, 2020)

No.	Senyawa Aktif	Komposisi Elemen	Aktifitas Biologi
1	<i>Caryophyllene</i>	C ₁₅ H ₂₄	Antijamur, antikanker, antioksidan, antiinflamasi dan antimikroba
2	<i>Humulene</i>	C ₁₅ H ₂₄	Antibakteri dan antiinflamasi
3	<i>2-Methyl-cis-7,8-epoxynonadecane</i>	C ₂₀ H ₄₀ O	<i>Unknown</i>
4	<i>Hexadecanoid acid, ethyl ester</i>	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	Antiinflamasi, antikanker dan <i>hepatoprotective</i>
5	<i>Phytol</i>	C ₂₀ H ₄₀ O	Antikanker, antioksidan, antiinflamasi, diurek, antitumor, antimikroba, <i>chemopreventive</i> , digunakan dalam formula vaksin
6	<i>Oxiraneundecanoid acid, 3-pentyl-, methyl ester, trans-</i>	C ₁₉ H ₃₆ O ₃	<i>Unknown</i>
7	<i>Squalene</i>	C ₃₀ H ₅₀	Antioksidan, antitumor dan <i>cytoprotective effect</i>
8	Vitamin E	C ₂₉ H ₅₀ O ₂	Antioksidan, antiinflamasi, antimikroba
9	<i>Retinol, acetate</i>	C ₂₂ H ₃₂ O ₂	Antioksidan
10	<i>γ - himachalene</i>	H ₁₅ H ₂₄	Antioksidan

2.7.3 Pengembangan *Fish Bone Research* Ramania

Pohon penelitian daun ramania ini sudah dimulai sejak tahun 2016. Berangkat dari keprihatinan terhadap terbatasnya sediaan obat penyembuhan luka yang beredar dipasaran dan erat kaitannya dengan tingginya angka kejadian luka, sebagai seorang ahli Bedah Mulut dan Maksilofasial konsultan trauma wajah dan kelainan *temporo mandibular joint* (TMJ) serta profesi sebagai seorang pendidik di Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat yang memiliki visi terwujudnya ULM sebagai Universitas terkemuka dan berdaya saing di bidang lingkungan lahan basah.

Hasil identifikasi potensi etnobotani dan etnografi pohon ramania menunjukkan bahwa ramania menjadi salah satu tanaman dengan sebaran yang merata serta tumbuh pada semua kabupaten di wilayah Kalimantan Selatan. Kemudahan mendapatkan bahan baku menjadi sebuah kekuatan dan potensi dalam mendukung hilirisasi produk dan dikembangkan meluas dengan melibatkan sektor industri bila dikemudian hari daun ramania terbukti dapat berperan sebagai terapi adjuvan untuk terapi pencegahan peradangan dan penyembuhan luka.

Berdasarkan tahapan standarisasi farmasitikal bahan alam menuju fitofarmaka, pohon penelitian ini telah sampai pada tahap uji preklinis untuk menjadi obat herbal terstandar. Penelitian pendahuluan tanaman herbal ini secara *in vitro* telah dilakukan untuk mengkaji kandungan serta prosedur pemrosesan agar menghasilkan ekstrak dengan kandungan yang maksimal. Berbagai uji *in vivo* telah dilakukan untuk melihat potensi tanaman ini terutama pada proses penyembuhan luka.

Studi *in silico* merupakan salah satu metode penelitian yang memanfaatkan teknologi komputasi dan database untuk penelitian pengembangan obat. Studi *in silico* dilakukan untuk mengetahui interaksi senyawa obat dengan protein target baik enzim ataupun reseptor dengan mengilustrasikan jalur kerja gel ekstrak daun ramania sebagai senyawa kandidat obat herbal, pada penelitian ini berfokus melihat jalur antiinflamasi dan antioksidan serta uji toksisitasnya. Secara garis besar, penelitian yang telah dilakukan meliputi beberapa langkah, antara lain:

- 1) Melakukan identifikasi potensi etnobotani dan etnografi pohon ramania di wilayah Kalimantan Selatan
- 2) Analisis standarisasi bahan yang meliputi:
- 3) Analisis uji toksisitas dengan metode *in silico* dan *in vitro*
- 4) Tahap penelitian farmakodinamik dengan melakukan uji bioaktivitas untuk melihat pengaruh ramania terhadap masing-masing sistem biologis tubuh yang meliputi uji pra klinik secara *in vivo*.
- 5) Analisis kandungan senyawa bioaktif sebagai kandidat obat herbal melalui analisis pemodelan metode *in silico*.

2.8 Trauma Maksilofasial

Penyembuhan luka selalu menjadi masalah klinis yang menantang, berbagai upaya dilakukan untuk fokus pada perawatan luka melalui pemahaman fisiologi, baik dari aspek manajemen luka yang tepat dan efisien hingga perawatan luka dengan pendekatan terapeutik baru dan pengembangan teknologi berkelanjutan untuk luka akut dan khronis. (Ghanem *et al.*, 2014; Velnar *et al.*, 2009)

Luka didefinisikan sebagai kerusakan sederhana sampai meluas atau dalam ditandai dengan adanya gangguan struktur dan fungsi anatomi normal berupa terputusnya integritas epitel kulit atau mukosa, tendon, otot, pembuluh darah, saraf, organ parenkim bahkan tulang. (Gupta *et al.*, 2019; Velnar *et al.*, 2009)

Proses penyembuhan luka adalah suatu proses yang kompleks dan melibatkan beberapa fase yang saling berkelanjutan. Proses penyembuhan luka terdapat beberapa faktor yang dapat membuat luka tidak dapat menutup dengan sempurna dan memperlambat penyembuhan luka, seperti kurangnya suplai darah, dehidrasi, eksudat berlebihan dan terdapatnya benda asing. Sebagian kecil luka ekstraksi, diperkirakan 1 sampai 11,5 % mengalami penyembuhan yang tidak optimal dan 11 juta pasien perhari yang mengalami ketidaknyamanan seperti nyeri, pembengkakan dan memar pasca operasi pencabutan gigi molar ketiga. (Devlin & Sloan, 2002; Velnar *et al.*, 2009)

2.9 Luka

Luka merupakan proses terputusnya jaringan kulit yang menyebabkan gangguan pada struktur normal sel maupun molekuler, anatomi dan fungsional tubuh yang diikuti dengan inflamasi atau radang. Inflamasi ditandai dengan tanda-tanda klinis antara lain: *tumor* (bengkak), *dolor* (nyeri), *rubor* (kemerahan), *kalor* (panas) dan *functio laesa* (penurunan fungsi). Luka mengakibatkan kerusakan struktur anatomi jaringan tubuh mengalami diskontinuitas yang bervariasi seperti lapisan epitel dari kulit sampai lapisan yang lebih dalam seperti jaringan subkutis, lemak dan otot bahkan tulang beserta struktur lainnya seperti tendon, pembuluh darah dan syaraf sebagai akibat dari trauma. Luka akan menimbulkan kerusakan

jaringan sehingga sel-sel yang mengalami disrupsi akan melepaskan faktor angiogenesis poten seperti *Fibroblast Growth Factor-2* (FGF-2) dan sel akan mengalami hipoksia yang melepaskan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) serta stres oksidatif yang meningkat sehingga terdapat produksi ROS yang berlebihan tanpa adanya kompensasi aktivitas enzim antioksidan. (Andayani *et al.*, 2018; Anwar *et al.*, 2018; Kewo *et al.*, 2019; Primadina *et al.*, 2019; Simanjuntak & Zulham, 2020)

Terjadinya luka luka dapat disebabkan karena adanya trauma tumpul dan tajam. Trauma tumpul merupakan suatu rudapaksa akibat terbentur oleh benda tumpul yang dapat menyebabkan luka memar (*contusio*), luka lecet (*abrasio*) dan luka robek (*vulnus laceratum*) sedangkan trauma tajam adalah suatu rudapaksa akibat kontak dengan benda tajam. Trauma tajam dapat mengakibatkan terbentuknya luka iris atau luka sayat (*vulnus scissum*), luka tusuk (*vulnus punctum*) terjadi akibat adanya benda seperti peluru atau pisau yang masuk kedalam kulit dengan diameter kecil dan luka tusuk (*vulnus caesum*). (Primadina *et al.*, 2019; Wintoko *et al.*, 2020)

Luka diklasifikasikan sebagai luka akut dan luka kronis menurut proses dan durasi penyembuhan. Luka akut terjadi akibat kecelakaan yang tidak terduga atau cedera bedah, biasanya sembuh pada waktu yang dapat diprediksi umumnya antara 8 dan 12 minggu. Masa penyembuhan tergantung pada tingkat cedera di berbagai lapisan kulit. Luka kronis umumnya didefinisikan sebagai luka yang mengalami kegagalan dalam proses penyembuhan untuk menghasilkan integritas anatomis dan fungsional setelah 3 bulan. (Ellis *et al.*, 2018; Johnson *et al.*, 2018; Kyaw *et al.*, 2018; Rezvani Ghomi *et al.*, 2019)

2.10 Proses Penyembuhan Luka

Definisi luka adalah kerusakan integritas jaringan biologis, termasuk kulit, mukosa dan jaringan organ. Berbagai jenis trauma dapat menyebabkan kondisi ini. Luka dinyatakan sembuh apabila permukaan jaringan dapat menyatu kembali dengan baik dan didapatkan kekuatan jaringan yang mencapai normal. Penyembuhan luka meliputi dua kategori, pertama pemulihan jaringan melalui regenerasi jaringan hingga pulih struktur dan fungsinya. Kedua adalah *repair* yaitu pemulihan atau penggantian jaringan oleh jaringan ikat. (Kujath & Michelsen, 2008; Valenzuela-Silva *et al.*, 2013)

Luka primer memiliki ukuran yang lebih kecil dibandingkan luka sekunder. Hal tersebut mengakibatkan proses penyembuhan luka primer akan membentuk sedikit *scar* dengan kontraksi luka yang minimal. Pada waktu 24 jam pertama celah luka yang terbentuk akan diisi oleh bekuan darah fibrin kemudian digantikan jaringan granulasi dan ditutupi oleh epitel baru setelah beberapa minggu, selain itu terdapat sel neutrofil yang berperan untuk membersihkan debris pada daerah luka dalam penyembuhan luka primer maupun sekunder, setelah 3 hari sel neutrofil akan digantikan dengan sel makrofag. Pada proses penyembuhan luka sekunder terdapat lebih banyak sel makrofag dan pembentukan pembuluh darah baru dibandingkan luka primer. Penyembuhan luka sekunder ditandai dengan adanya peningkatan reaksi inflamasi dan pembentukan jaringan granulasi disertai akumulasi *extra cellular matrix* (ECM). Proses tersebut akan menghasilkan *scar* luas dengan kontraksi luka yang meningkat. Penyembuhan luka yang terjadi setelah beberapa minggu menunjukkan bahwa jumlah sel fibroblas pada penyembuhan luka sekunder lebih banyak dibandingkan penyembuhan luka primer dan pada fase tersebut didominasi oleh serat-serat fibrin. (Kumar, Nagarajan, *et al.*, 2013)

Proses penyembuhan luka memerlukan serangkaian tahapan yang kompleks mulai dari awal terjadinya luka hingga tercapainya penyembuhan luka. Proses penyembuhan luka melalui beberapa fase, antara lain fase hemostasis atau koagulasi, fase inflamasi, fase proliferasi dan fase maturasi. (S. Guo & DiPietro, 2010; Velnar *et al.*, 2009)

2.10.1 Fase Hemostasis / Koagulasi

Terjadinya perlukaan pada kulit akan menyebabkan kerusakan dan kebocoran pembuluh darah disekitar area yang rusak dan mengakibatkan perekrutan trombosit yang tertanam dalam rangkaian serat fibrin yang saling terkait dan berasal dari pembelahan thrombin fibrinogen, bersama dengan sejumlah kecil fibronectin plasma, vitronectin dan tromboplastin yang cepat selanjutnya akan terjadi pembentukan gumpalan darah yang berfungsi sebagai pelindung sementara jaringan luka, keadaan tersebut memaksa tubuh secara fisiologis untuk mengeluarkan

matriks perbaikan di mana sel dapat bermigrasi dan terdeposisi pada area luka selama proses penyembuhan luka. Bekuan terdiri dari trombosit yang tertanam dalam jalinan serat fibrin yang saling terkait yang berasal dari pembelahan trombin fibrinogen, bersama dengan sejumlah kecil fibronektin plasma, vitronektin dan trombospondin. (Clark, 1993; Gonzalez *et al.*, 2016)

Faktor XIII merupakan proenzim yang berperan dalam proses koagulasi dan berfungsi sebagai proteksi fisiologis klot dari proses fibrinolisis. Selain mencegah perdarahan, bekuan fibrin berperan penting dalam adhesi sel, migrasi sel endotel/*endothelial cell* (EC), angiogenesis dan bertindak sebagai matriks ekstraseluler sementara. Gumpalan biofilm fibrin merupakan bagian dari pertahanan sel darah yang berfungsi untuk melindungi dari penyebaran mikroba. (Ariëns *et al.*, 2002; Laurens *et al.*, 2006; Opneja *et al.*, 2019)

Gumpalan darah yang terbentuk pada area cedera berfungsi sebagai reservoir sitokin dan faktor pertumbuhan akan dilepaskan saat trombosit teraktivasi dan mengalami degranulasi. Kandungan granula yang padat antara lain *Adenosine Diphosphate* (ADP), serotonin dan polifosfat akan meningkatkan perekrutan, agregasi dan pembentukan fibrin trombosit tambahan, sedangkan granula alfa memproduksi dan melepaskan banyak kemokin, faktor pertumbuhan, mediator pro-inflamasi dan anti-inflamasi. Diantaranya, *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF) bersifat kemotaktik untuk makrofag dan mendorong proliferasi fibroblas. (Opneja *et al.*, 2019; Ross *et al.*, 1974)

Faktor pertumbuhan epidermal/*Epithelial Growth Factor* (EGF) juga dilepaskan dari trombosit yang memiliki fungsi terutama sebagai sinyal proliferasi keratinosit. Faktor pertumbuhan lain dan kemokin yang disekresikan dari trombosit termasuk ligan kemokin CXC-4 (CXCL-4), faktor trombosit 4 (PF4) dan faktor pertumbuhan transformasi- β /*Transforming Growth Factor- β* (TGF- β) akan merekrut sel inflamasi, mendorong migrasi keratinosit, sintesis matriks fibroblas dan *remodelling*. (Gleissner *et al.*, 2008; Opneja *et al.*, 2019)

Selain mediator terlarut, trombosit juga akan membentuk interaksi heterotipik dengan sel-sel inflamasi yang direkrut di lokasi luka. Interaksi neutrofil-platelet dan makrofag-platelet ini, dimediasi oleh reseptor *integrin* dan *P-selektin* pada permukaan sel yang teraktivasi fungsinya adalah mengatur rekrutmen sel inflamasi dan memfasilitasi perkembangan ke fase inflamasi penyembuhan luka. (Nurden, 2011; Opneja *et al.*, 2019)

2.10.2 Fase Inflamasi

Fase inflamasi merupakan reaksi tubuh terhadap luka yang dimulai setelah beberapa menit dan berlangsung selama sekitar tiga hari setelah cedera. Inflamasi dengan pengamatan secara makroskopis dilakukan untuk menilai aspek edema dan cairan radang pada luka. (Hariyanto *et al.*, 2015; Santosa & Riyono, 2018; Sjamsuhidajat & De Jong, 2010; Sunarno *et al.*, 2018)

Pada fase inflamasi melibatkan aktivasi sistem imun bawaan, neutrofil dan monosit dengan cepat bermigrasi ke kulit yang terluka. Fase ini terjadi bersamaan dengan hemostasis dan digambarkan sebagai tahap awal penyembuhan luka. Sebagai akibat dari cedera sel-sel kulit seperti keratinosit, makrofag, sel dendritik dan sel mast merespon kerusakan dengan mengirimkan sinyal perbaikan. Pensinyalan tersebut terbagi menjadi dua kategori yaitu *Damage-Associated Molecular Patterns* (DAMPs) dan *Pathogen-Associated Molecular Patterns* (PAMPs). DAMPs merupakan pensinyalan lewat molekul yang dilepaskan oleh sel-sel yang mengalami kerusakan, seperti protein intraseluler, DNA dan RNA sedangkan PAMPs merupakan pensinyalan lewat molekul spesifik patogen disekitar luka, misalnya polisakarida esensial bakteri dan polinukleotida. (Dan *et al.*, 2018; Velnar *et al.*, 2009)

Pada proses inflamasi, sinyal kerusakan dikenali oleh TLRs. Stimulasi TLRs menginduksi aktivasi jalur sinyal intraseluler, termasuk NF- κ B dan jalur protein kinase teraktivasi mitogen / *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK). Pada proses ini terjadi ekspresi sejumlah besar gen, termasuk sitokin, kemokin dan peptida

antimikroba untuk menyelesaikan proses inflamasi.(Velnar *et al.*, 2009; Xing *et al.*, 2021)

Tahap awal inflamasi melalui proses *multistep*. Kemokin menginduksi ekspresi molekul adhesi, seperti *Intercellular Adhesion Molecule-1* (ICAM1), *Vascular Cell Adhesion Molecule-1* (VCAM1) pada sel endotel yang memediasi perlekatan neutrofil ke dinding pembuluh darah. Jika luka tidak terinfeksi, neutrofil akan bertahan selama 2-5 hari melakukan fungsi fagositosis untuk menghilangkan patogen dan sisa-sisa sel. Selanjutnya neutrofil memproduksi sitokin seperti tumor necrosis factor (TNF)- α , interleukin (IL)-1 β dan IL-6 untuk memperkuat respon inflamasi. Pada proses inflamasi terjadi proses debridemen sel mati dengan melepaskan berbagai zat seperti peptida kationik dan proteinase. (Barrientos *et al.*, 2008; M. Alsen & Sihombing, 2014; Purnama *et al.*, 2017)

2.10.3 Fase Proliferasi

Pada fase Proliferasi terjadi penurunan jumlah sel inflamasi, tanda radang berkurang, proliferasi fibroblas, pembentukan pembuluh darah baru, epitelialisasi dan kontraksi luka. Matriks fibrin yang dipenuhi platelet dan makrofag mengeluarkan *growth factor* yang mengaktifasi fibroblas yang akan bermigrasi ke daerah luka kemudian fibroblas mulai berproliferasi hingga jumlahnya lebih dominan dibandingkan sel radang pada daerah tersebut. Fase ini terjadi pada hari ketiga sampai hari kelima. Dalam melakukan migrasi, fibroblas mengeluarkan *matrix metalloproteinase* (MMP) untuk memecah matriks yang menghalangi migrasi. Fungsi utama dari fibroblas adalah sintesis kolagen sebagai komponen utama ECM. Kolagen tipe I dan III adalah kolagen utama pembentuk ECM dan normalnya ada pada lapisan dermis. pada minggu pertama fibroblas menghasilkan kolagen tipe III dan *fibronectin* dan kemudian kolagen tipe III digantikan dengan tipe I. Fungsi utama proliferasi kolagen ini adalah untuk mensubstitusi fibrin sebagai penyusun matriks utama

pada luka. (Gonzalez *et al.*, 2016; Karamichos, 2009; Velnar *et al.*, 2009)

Pada proses proliferasi terjadi pembentukan pembuluh darah baru, proses ini disebut angiogenesis. Proses ini distimulasi dan diatur oleh berbagai sitokin yang kebanyakan dihasilkan oleh makrofag dan platelet. Tumor necrosis factor- α (TNF- α) yang dihasilkan makrofag merangsang angiogenesis dimulai dari akhir fase inflamasi. VEGF sebagai faktor angiogenik yang poten dihasilkan oleh keratinosit, makrofag dan fibroblas selama proses penyembuhan. (Bao *et al.*, 2009; Velnar *et al.*, 2009)

Pada fase ini terjadi pula epitelialisasi yaitu proses pembentukan kembali lapisan kulit yang rusak. Pada tepi luka, keratinosit akan berproliferasi setelah kontak dengan ECM dan kemudian bermigrasi dari membran basal ke permukaan yang baru terbentuk. Ketika bermigrasi, keratinosis akan menjadi pipih dan panjang dan juga membentuk tonjolan sitoplasma yang panjang. Pada ECM, mereka akan berikatan dengan kolagen tipe I dan bermigrasi menggunakan reseptor spesifik integrin. Kolagenase yang dikeluarkan keratinosit akan mendisosiasi sel dari matriks dermis dan membantu pergerakan dari matriks awal. Keratinosit juga mensintesis dan mensekresi MMP lainnya ketika bermigrasi. (Barrientos *et al.*, 2008; Lundquist *et al.*, 2008)

2.10.4 Fase Pematangan / Fase Remodelling

Fase ketiga penyembuhan luka adalah *remodelling* yang dimulai dua sampai tiga minggu setelah timbulnya luka. Tujuan inti dari fase *remodelling* adalah untuk mengembalikan luka seperti jaringan sehat semula lewat proses reorganisasi jaringan serta degradasi dan resintesis matriks ekstraseluler. Kolagen baru menyatu, menekan pembuluh darah dalam penyembuhan luka,

sehingga bekas luka menjadi rata dan samar. (Velnar *et al.*, 2009; Visha & Karunagaran, 2019)

Pada proses penyembuhan luka, fase maturasi adalah fase terakhir dan terpanjang, di mana pada fase ini terjadi proses dinamis yang meliputi *remodelling* kolagen, kontraksi luka dan pematangan parut. Aktivitas sintesis dan degradasi kolagen berada dalam kondisi seimbang. Akhir dari penyembuhan ini akan membentuk parut luka matang yang memiliki kekuatan 80 % dari kulit normal. Besarnya luka menentukan pembentukan jaringan penghubung selular dan penguatan epitel baru yang berperan dalam berkembangnya tahap maturasi. Dalam waktu beberapa bulan hingga 2 tahun, jaringan granular selular berubah menjadi massa aselular. (M. Alsen & Sihombing, 2014; Purnama *et al.*, 2017) Selama fase maturasi, terjadi pembentukan kolagen baru yang membuat bentuk luka berubah serta mengalami peningkatan kekuatan jaringan (*tensile strength*). *Remodelling* kolagen bergantung pada berlangsungnya sintesis kolagen dan adanya degradasi kolagen. Sementara sintesis kolagen yang baru tetap, kolagenase dan *metalloproteinase* yang berada di dalam luka akan membuang kolagen yang berlebihan. Kolagen menjadi lebih teratur selama proses *remodelling*. Secara bertahap fibronektin akan lenyap dan posisi dari asam hialuronidase dan glikosaminoglikan akan digantikan oleh proteoglikan. Air yang terdapat pada *scar* akan diserap. Pada kondisi tersebut, serabut-serabut kolagen secara bersama akan menutup, sehingga kolagen mengalami *crosslinking* dan ketebalan *scar* berkurang. Kekuatan luka akan dihasilkan oleh kolagen intermolekul dan intramolekul *cross-link*. (Kartika *et al.*, 2015; Pramono *et al.*, 2016)

2.11 Peranan Faktor Pertumbuhan Pada Penyembuhan Luka

Keberhasilan proses penyembuhan luka tergantung pada faktor pertumbuhan, sitokin dan kemokin yang terlibat dalam integrasi kompleks sinyal yang mengoordinasikan proses seluler. Agen-agen tersebut adalah

polipeptida aktif biologis yang bertindak untuk mengubah pertumbuhan, diferensiasi dan metabolisme sel target yang bertindak dengan mekanisme parakrin, autokrin, juxtacrine atau endokrin dan mempengaruhi perilaku sel sebagai konsekuensi dari pengikatannya pada reseptor permukaan sel spesifik atau protein ECM. Terikatnya reseptor ini akan memicu kaskade peristiwa molekuler. Titik akhir dari pensinyalan ini adalah pengikatan faktor transkripsi ke promotor gen yang mengatur transkripsi protein yang mengendalikan siklus sel, motilitas atau diferensiasi. Ulasan ini akan meringkas faktor pertumbuhan utama dan sitokin yang terlibat dalam penyembuhan luka dengan fokus khusus pada EGF, TGF- β , FGF, VEGF, faktor perangsang koloni makrofag granulosit (GM-CSF), PDGF-BB, CTGF, keluarga IL dan faktor nekrosis tumor (TNF). Faktor pertumbuhan dan sitokin yang berperan terhadap proses penyembuhan luka terangkum dalam tabel 2.2. (Barrientos *et al.*, 2008; Kujath & Michelsen, 2008; Prasetyono, 2009)

Tabel 2.2. Faktor pertumbuhan utama dan sitokin yang berpartisipasi dalam penyembuhan luka. (Barrientos *et al.*, 2008; Kujath & Michelsen, 2008)

Growth Factor	Sel	Luka Akut	Fungsi	Luka Kronis
EGF	Trombosit Makrofag Fibroblas	Peningkatan level	Reepitelisasi	Level menurun
FGF-2	Sel mast Keratinosit Fibroblas Sel endotel Sel otot polos kondrosit	Peningkatan level	Jaringan granulasi Pembentukan reepitelisasi Pembentukan matriks dan renovasi	Level menurun
TGF β	Trombosit Keratinosit Makrofag Limfosit Fibroblas	Peningkatan level	Peradangan Jaringan granulasi pembentukan Reepitelisasi Pembentukan matriks	Level menurun
PDGF	Trombosit Keratinosit Makrofag Sel endotel Fibroblas	Peningkatan level	Peradangan Jaringan granulasi pembentukan Reepitelisasi Pembentukan matriks	Level menurun
VEGF	Trombosit Neutrofil Makrofag sel endotel Sel otot polos Fibroblas	Peningkatan level	Jaringan granulasi pembentukan	Level menurun
IL-1	Neutrofil Monosit Makrofag Keratinosi	Peningkatan level	Peradangan Reepitelisasi	Peningkatan level
IL-6	Neutrofil Makrofag	Peningkatan level	Peradangan Reepitelisasi	Peningkatan level
TNF-A	Neutrofil Makrofag	Peningkatan level	Peradangan Reepitelisasi	Peningkatan level

2.12 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah senyawa atau molekul yang satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan di orbit luarnya. Radikal bebas diproduksi dalam sel secara rutin maupun sebagai reaksi terhadap rangsangan. ROS adalah molekul oksigen yang reaktif. Tidak semua ROS merupakan radikal, contohnya oksigen singlet (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2) dan ion hipoklorit ($HOCl$), sedangkan ROS merupakan radikal bebas meliputi radikal hidroksil (OH^-), peroksil ($ROO^\cdot$), alkoksil ($RO^\cdot$) dan superoksida (O_2^-). Aktivitas ROS yang bukan radikal memiliki aktivitas radikal yang lebih rendah dari yang berbentuk radikal, sehingga bukan berarti tidak berbahaya, namun justru dapat memicu pembentukan radikal bebas yang baru. Produksi dari ROS umumnya terjadi di mitokondria, selain itu juga di peroksisom, retikulum endoplasma dan lisosom. Sifat ROS jika berlebihan dapat sitotoksik, sehingga menyebabkan kerusakan sel seperti kematian, mutasi, karsinogenesis dan penyimpangan kromosom. Kadar ROS dalam tingkat rendah diperlukan untuk pengaturan mekanisme fisiologis seperti proliferasi sel, diferensiasi sel dan apoptosis sel, sedangkan ROS yang berlebihan mampu bereaksi dengan membran lipid, asam nukleat, protein dan enzim serta molekul kecil lainnya yang dihasilkan dalam kerusakan seluler. (Ardhie, 2011; Fafa *et al.*, 2014; Krishnamurthy & Wadhwani, 2012; Layal, 2016; Suhartono *et al.*, 2016; Weydert & Cullen, 2010)

Reactive Oxygen Species yang utama dihasilkan oleh tubuh adalah Superoxide Anion (O_2^-), Hidrogen Peroksida (H_2O_2) dan Hidroksil (OH^-). Hidrogen peroksida merupakan produk uraian hasil metabolisme sel dan jaringan yang menggunakan oksigen sebagai sumber energi. Radikal bebas superoksida (O_2^-) akan dirubah oleh enzim SOD menjadi hidrogen peroksida, kemudian hidrogen peroksida akan direduksi menjadi H_2O oleh enzim Glutathion GPx atau CAT. Masa hidup H_2O_2 *in vivo* sangat singkat dalam kurun waktu mili detik. Kestabilannya dipengaruhi oleh pH dalam lingkungan oksidasi. Sumber utama H_2O_2 sel ada di mitokondria. Peran H_2O_2 meningkatkan permeabilitas endotel dalam penyembuhan luka yang bersifat toksik pada endotel melalui regulasi VEGF. (Layal, 2016; Munoz & Castilla-Cortazar, 2012)

Keuntungan H_2O_2 bersifat bakterisid terhadap bakteri melalui proses *oxidative burst* atau *respiratory burst*. *Respiratory burst* menghasilkan radikal bebas dari pemakaian oksigen yaitu O_2^- , $OH^\cdot$ dan H_2O_2 . Proses tersebut diperantai enzim *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate* (NADPH) oksidase (metabolisme hidrogen peroksida). Peran H_2O_2 juga merupakan faktor virulensi yang dapat merusak jaringan manusia dan dapat menjadi senyawa aktif, karena atom oksigennya mudah menimbulkan oksidasi. Potensi H_2O_2 dapat berinteraksi berbagai molekul dengan adanya ion logam Fe^+ . Interaksi tersebut dapat mengubah H_2O_2 dengan memecah H_2O_2 menjadi OH^- yang merupakan molekul reaktif, sehingga dapat menyebabkan kerusakan sel. (Alaiya *et al.*, 2015; Yunanto *et al.*, 2009)

Hipoksia saat cedera jaringan akan meningkatkan aktivasi ROS. Sel endotel saat kondisi iskemik juga akan menghasilkan O_2^- , H_2O_2 dan $OH^\cdot$. Sumber ROS pada kondisi hipoksia berasal dari mitokondria, xantin oksidase dan aktivitas enzim NADPH (H) oksidase. (Arief & Widodo, 2018) Fase inflamasi awal neutrofil dan makrofag akan memproduksi ROS yang memiliki fungsi sebagai efek bakterisidal dan berperan sebagai sinyal intraseluler sebagai adanya sinyal ekstraseluler. Efek ROS yang berlebihan akan mengganggu proses penyembuhan luka dengan adanya ketidakseimbangan antara antioksidan sebagai pertahanan intrinsik dan ROS atau radikal bebas yang berlebihan sehingga menghasilkan stres oksidatif yang selanjutnya dapat menyebabkan kerusakan sel dan keadaan patologis. Cedera pada kulit dapat menimbulkan reaksi inflamasi akut pada waktu radikal bebas dan oksidan dihasilkan pada area luka. Selama inflamasi ROS yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan oksidatif berat dalam penyembuhan luka. Antioksidan endogen seperti SOD, CAT dan GPx dalam jaringan granulasi mempercepat proses penyembuhan luka dengan menetralkan radikal bebas. (Krishnamurthy & Wadhwani, 2012; Nafiu & Rahman, 2015)

2.13 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat mencegah ataupun meredam dampak negatif dari oksidan dalam tubuh. Antioksidan berfungsi menginaktivasi reaksi oksidasi dengan mencegah terbentuknya radikal.

Potensi antioksidan bisa didapatkan dari pakan yang mengandung metabolit sekunder yang dapat mencegah reaksi oksidasi untuk menghambat radikal bebas yang dapat merusak sel. (Arsana *et al.*, 2014; Badriyah *et al.*, 2017)

Antioksidan dapat digolongkan menjadi antioksidan enzimatis dan non enzimatis. Antioksidan enzimatis disebut juga antioksidan primer atau endogen, sedangkan non enzimatis disebut juga antioksidan sekunder atau eksogen. Adanya potensi toksisitas radikal bebas, tubuh akan melakukan perlindungan dengan menghasilkan enzim antioksidan endogen yaitu SOD, CAT dan GPx yang berperan sangat cepat dalam menetralkan setiap molekul dengan potensi radikal bebas. Antioksidan eksogen yang digolongkan larut dalam lemak seperti tokoferol, flavonoid, quinon, bilirubin dan karetenoid, sedangkan larut dalam air seperti asam askorbat, asam urat, protein pengikat heme dan protein pengikat logam. Pertahanan pertama antioksidan adalah antioksidan yang berfungsi menekan atau mencegah pembentukan radikal bebas atau spesies reaktif dalam sel. (Arsana *et al.*, 2014; Ighodaro *et al.*, 2017)

Pertahanan kedua antioksidan merupakan kelompok antioksidan yang biasa disebut antioksidan *scavenging* yaitu asam askorbat, asam urat, glutathione hidrofilik, alfa tokoferol (Vitamin E) dan ubiquinol lipofilik. Kelompok ini mencari radikal bebas untuk menghambat rantai inisiasi dan mematahkan reaksi rantai propagasi serta menetralkan dengan menyumbangkan elektron kepada radikal bebas. (Ighodaro *et al.*, 2017)

Pertahanan ketiga antioksidan hanya berperan setelah radikal bebas menyebabkan kerusakan. Enzim yang memperbaiki kerusakan yang disebabkan radikal bebas terhadap biomolekul dan menyusun kembali membran sel yang rusak, memperbaiki *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA), protein dan lipid yang rusak adalah enzim *de novo*. Contoh sistem enzim perbaikan yaitu DNA (polimerase, glikosilase dan nuklease), enzim proteolitik (proteinase, protease dan peptidase) yang terletak di sitosol dan mitokondria sel mamalia. Pertahanan keempat antioksidan pada dasarnya melibatkan suatu adaptasi yang diperlukan radikal bebas dan reaksi radikal untuk mencegah pembentukan atau reaksi radikal bebas tersebut. (Ighodaro *et al.*, 2017)

Enzim antioksidan endogen (SOD, CAT, GPx) berfungsi menetralkan radikal bebas dan mempercepat degradasi senyawa radikal bebas untuk

mencegah kerusakan makromolekul sel. Enzim antioksidan mampu menstabilkan atau menonaktifkan radikal bebas sebelum menyerang komponen selular. Enzim antioksidan endogen bertindak dengan mengurangi energi radikal bebas atau memberikan beberapa elektron sehingga menjadi stabil. Enzim antioksidan endogen (SOD, CAT dan GPx) tidak hanya berperan secara mendasar, tetapi sangat diperlukan dalam kapasitas proteksi antioksidan biologi. (Ighodaro *et al.*, 2017; Krishnamurthy & Wadhwani, 2012; Untari *et al.*, 2014)

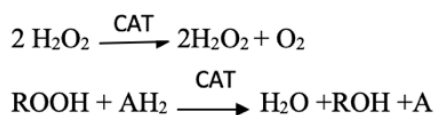
Tugas SOD mengkonversikan radikal superoksida menjadi hidrogen peroksida, selanjutnya katalase dan peroksidase mengubahnya menjadi oksigen dan air. Enzim SOD dan katalase berfungsi tidak memerlukan *co-factor*, berbeda dengan GPx yang memerlukan protein dan lima isoenzim. Pemberian dosis tinggi antioksidan pada ROS dapat berakibat makrofag dalam mencegah produksi faktor angiogenik. Pemberian antioksidan yang benar pada dosis sedang, maka akan memicu makrofag yang produksi angiogenesis secara fisiologis. (Puspitasari & Apriasari, 2017; Weydert & Cullen, 2010)

2.14.1 Enzim Katalase (CAT)

Enzim katalase adalah protein tetramerik 240 kilodalton (kDa) dengan empat subunit serupa dan dikodekan oleh pemetaan gen *ctt* ke kromosom 11 apabila terjadi mutasi pada gen ini akan terjadi penyakit akatalasemia. CAT adalah enzim antioksidan yang hadir hampir seluruh jaringan hidup. Enzim ini menggunakan besi atau mangan sebagai kofaktor. (Ighodaro *et al.*, 2017; Suhartono *et al.*, 2016)

Tubuh manusia mengandung banyak CAT di hati dan sel darah merah. Enzim CAT terletak didalam peroksisom. Kemampuan katalase dapat menetralkan kerusakan akibat ROS dan mengatur proliferasi sel. Katalase merupakan enzim berbentuk tetramer, dengan berat molekul 220.000, sangat sensitif terhadap cahaya dan dapat berubah sangat cepat. Enzim katalase dapat digunakan sebagai parameter peningkatan ROS. Semakin rendah aktivitas katalase, maka aktivitas ROS meningkat. Enzim CAT bekerja langsung dengan menangkap dan menguraikan radikal bebas

didalam sel. (Ferni, 2017; Jones *et al.*, 2013; Miwa *et al.*, 2008; Winarsi, 2007)



Katalase berperan sebagai enzim peroksidase khusus dalam reaksi menguraikan hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan oksigen. Reaksi katalase sangat efisien dalam mengubah H_2O_2 menjadi bentuk air dan molekul oksigen dan mendonorkan atom H (metanol, etanol, fenol dan asam format) dengan aktivitas peroksidase. Keadaan H_2O_2 dalam jumlah yang rendah cenderung mengatur beberapa proses fisiologis seperti sinyal dalam proliferasi sel, kematian sel, metabolisme karbohidrat, fungsi mitokondria dan aktivitas trombosit dalam pemeliharaan keseimbangan redoks normal. Konsentrasi tinggi H_2O_2 sangat merusak sel, sehingga diperlukan kemampuan CAT secara efektif dalam membatasi konsentrasi H_2O_2 dalam sel. Radikal superoksida yang dihasilkan dalam perubahan NADPH menjadi H_2O_2 oleh MnSOD, selanjutnya enzim CAT dapat mengubah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . (Ighodaro *et al.*, 2017; Winarsi, 2007)

Mekanisme CAT secara umum tahapan reaksinya terdiri dari 2 tahap, yakni Tahap 1 : $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe (III)} -\text{E} \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 = \text{Fe(IV)}-\text{E} (\bullet+)$

Tahap 2 : $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2 = \text{Fe(IV)} -\text{E} (\bullet+) \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{Fe (III)} -\text{E} + \text{O}_2$
Molekul H_2O_2 mengoksidasi besi pada gugus heme (ferricatalase) yang terdapat pada katalase untuk membentuk sebuah kelompok oxyferryl dengan π -kationik porfirin radikal, disebut sebagai senyawa I. Pada langkah kedua, senyawa I mengoksidasi kedua molekul peroksida ke molekul oksigen dan melepaskan spesies oxyferryl sebagai molekul air, dengan cara ini dua molekul hidrogen peroksida diubah menjadi dua molekul air dan satu molekul oksigen. Senyawa Fe (III)-E merupakan besi sebagai logam pada gugus heme yang melekat pada enzim. Senyawa Fe(IV)-E($\bullet+$) adalah mesomeric, sedangkan bentuk Fe(V)-E merupakan besi yang tidak sepenuhnya

teroksidasi menjadi +V, tetapi menerima beberapa elektron pendukung dari ligan heme. Heme ini harus ditarik kemudian sebagai radikal kation ($\bullet+$). (Suhartono *et al.*, 2016)

Katalase harus terdapat pada kadar normal dalam tubuh. Apabila tubuh mengalami kekurangan CAT, maka tubuh dapat mengalami beberapa kelainan seperti fibrosis ginjal progresis, akatalasia dan vitiligo. Kekurangan enzim CAT juga dapat menyebabkan rambut beruban. Hal ini disebabkan oleh peroksida yang ada didalam tubuh mampu menghambat pembentukan melanin pada rambut dan menyebabkan rambut lebih cepat berwarna putih. Seiring berjalannya waktu, fungsi pada tubuh manusia akan mengalami degenerasi sehingga mengakibatkan kemampuan tubuh manusia untuk membentuk enzim-enzim yang berperan dalam menangkal radikal bebas semakin menurun. (Ighodaro *et al.*, 2017; Suhartono *et al.*, 2016)

2.14.2 Enzim Glutation Peroksidase (GPx)

Antioksidan enzimatik seperti GPx merupakan enzim yang mempunyai fungsi mengkatabolisme hidrogen peroksida (H_2O_2). Enzim GPx mempunyai peran yang penting dalam melindungi sel, aktivitas enzim GPx mampu mereduksi 70 % peroksida organik dan lebih dari 90 % H_2O_2 . Enzim antioksidan ini terdapat kandungan selenium pada sisi aktifnya. GPx merupakan salah satu cara utama tubuh untuk melindungi dari kerusakan oksidatif, enzim ini bekerja dengan merubah molekul hidrogen peroksida yang dihasilkan oleh enzim SOD dalam sitosol dan mitokondria serta berbagai hidro dan lipid peroksida menjadi air. (Ifayanti, 2017; Winarsi, 2007; Yuniastuti & Susanti, 2013)



Enzim ini bekerja dengan cara mengoksidasi glutation dalam bentuk reduksi (GSH) menjadi bentuk teroksidasi (GSSG). Glutation yang tereduksi berfungsi mencegah lipid membran dan unsur-unsur sel lainnya dari kerusakan oksidatif dengan cara

merusak molekul hidrogen peroksida dan lipid hidroperoksida. Aktivitas GPx memerlukan *glutathione* sebagai kosubstrat dan glutathione reduktase untuk merestorasi *glutathione* menjadi bentuk tereduksi. (Sayuti & Yenrina, 2015)

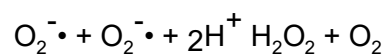
Dalam keadaan stres oksidatif, konsentrasi enzim GPx akan menurun karena terpakainya glutathione untuk menangkal radikal bebas. Konsentrasi tinggi GPx dapat ditemukan pada hepar dan sel darah merah. Jantung, ginjal, paru-paru, adrenal, lambung dan jaringan adiposa memiliki kandungan GPx dalam kadar yang sedang. GPx dalam kadar rendah biasanya ditemukan dalam otak, otot, testis dan lensa mata. (Winarsi, 2007)

Aktivitas enzim GPx tubuh manusia didalam darah biasanya berkisar antara 0,5 - 8 mili molar/l dengan konsentrasi enzim tertinggi di hati. Sedangkan kandungan enzim pada hati tikus normalnya 7 - 8 μmol GSH/g jaringan. Enzim yang berada dalam plasma darah hanya mengandung 0,5 %, sedangkan dalam eritrosit mengandung 99,5 %. Terdapat kandungan enzim GPx sebanyak 90 % didalam eukariot yang berada di sitosol, 10 % terdapat pada mitokondria dan beberapa persen berada di retikulum endoplasma. Enzim GPx bekerja pada membran fosfolipid yang teroksidasi sehingga enzim GPx dikenal juga sebagai *hydroperoxide glutathione peroxidase* dalam sitoplasma. Dalam membrane sel, enzim GPx juga dapat langsung mereduksi hidroperoksida kolesterol, ester kolesterol, lipoprotein dan fosfolipid yang teroksidasi. (Ifayanti, 2017; Winarsi, 2007)

Selenium (Se) merupakan mineral yang memiliki peran penting untuk sintesis protein dan aktivitas enzim GPx yang terdapat dalam bentuk organik dan merupakan nutrisi utama bagi manusia dan hewan. Se penting untuk sintesis dan aktivitas enzim GPx yang mereduksi hidrogen peroksida dan hidroperoksida organik. 4 atom Se pada sisi aktif enzim menentukan aktivitas enzim GPx. Se mempunyai fungsi sebagai perlindungan dari radiasi ultraviolet (UV), karsinogenesis dan penuaan. Selain Se, aktivitas enzim GPx juga dapat diinduksi oleh antioksidan sekunder seperti isoflavon. (Sayuti & Yenrina, 2015; Yuniastuti & Susanti, 2013)

2.14.3 Enzim Superoksida Dismutase (SOD)

Superoksida dismutase merupakan enzim antioksidan endogen yang bekerja dengan melindungi jaringan dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas seperti anion superoksida ($O_2^{\cdot-}$), radikal hidroksil ($\cdot OH$) dan *hydrogen* peroksida (H_2O_2). Enzim SOD berfungsi sebagai katalisator reaksi dismutase dari anion superoksida menjadi *hydrogen* peroksida (H_2O_2) dan Oksigen (O_2). (Winarsi, 2007)



SOD terdapat dalam tiga bentuk, antara lain: (1) Cu-Zn SOD yang terdiri dari dua sub unit dan terdapat pada sitoplasma; (2) Mn-SOD yang terdapat didalam mitokondria dan (3) Cu-SOD yang berada di ekstraseluler. Cu- ZnSOD disebut juga SOD1 merupakan hemodimer yang mengandung dua subunit asam amino ditambah satu Cu dan satu Zn. Ion Cu didalam enzim tersebut berfungsi sebagai reaksi dismutase. MnSOD disebut juga SOD2 merupakan homotetramer mengandung empat sub unit protein dan mudah terdenaturasi oleh adanya panas. (Suarsana *et al.*, 2013; Suhartono *et al.*, 2016) Antioksidan ini dapat bekerja melalui bantuan mineral-mineral seperti tembaga dan mangan yang bersumber dari bahan makanan seperti kacang- kacangan dan padi-padian. (Handito *et al.*, 2022; Maryam, 2014)

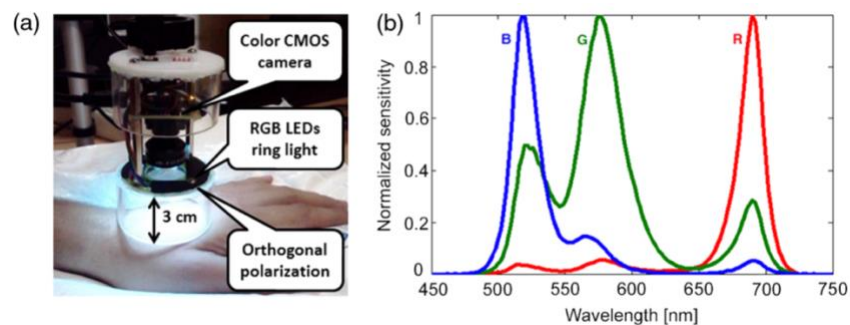
2.14 Indeks Eritema

Eritema adalah kemerahan pada kulit akibat peningkatan aliran darah pada kulit akibat dilatasi pembuluh darah superfisial pada lapisan dermis. Hal ini terjadi melalui interaksi ROS dengan sel *mast* pada lapisan dermis sehingga terjadi pelepasan mediator inflamasi seperti histamin yang menyebabkan vasodilatasi pembuluh darah. (Biworo *et al.*, 2019)

Indeks eritema merupakan parameter yang digunakan untuk memperkirakan kandungan hemoglobin yang ada pada kulit dan berfungsi untuk mengkarakterisasi lesi vaskular secara kuantitatif. Metode untuk

menentukan indeks eritema dapat dilakukan menggunakan *digital color RGB camera* yang menghasilkan tiga pewarnaan spektral yaitu merah (*red*), hijau (*green*) dan biru (*blue*) secara bersamaan dan dapat digunakan sebagai perangkat pencitraan spektral yang sederhana dan cepat. (Jakovels *et al.*, 2013) Pencitraan *RGB* menunjukkan korelasi yang sangat baik dan menunjukkan hasil yang lebih andal. (Saknite *et al.*, 2016) Metode untuk menentukan indeks eritema ini didasarkan pada perbandingan kerapatan optik kulit (*skin optical density*) dalam rentang spektral hijau hingga merah. Hijau merupakan indikator penyerapan hemoglobin tinggi sedangkan merah merupakan penyerapan hemoglobin rendah. Indeks eritema dikaitkan juga dengan kontras darah atau viabilitas jaringan. (Jakovels *et al.*, 2013; Saknite *et al.*, 2016)

Kamera RGB memperoleh tiga gambar spektral secara bersamaan, di mana saluran Merah (*Red*) secara kasar dapat dikaitkan dengan rentang spektral 600 hingga 700 nm, Hijau (*Green*) hingga rentang 500 hingga 600 nm dan Biru (*Blue*) hingga rentang 400 hingga 500 nm. (Jakovels *et al.*, 2013)



Gambar 2.8. (a) Sistem pencitraan RGB; (b) sensitivitas spektral dari setiap warna (Jakovels *et al.*, 2013)

Indeks eritema dapat dinyatakan sebagai perbedaan *optical density* antara rentang spektral hijau dan merah dari detektor gambar. Spektrum penyerapan melanin dapat dicirikan sebagai kurva yang turun dari biru menjadi merah. Oleh karena itu, indeks eritema dapat dinyatakan sebagai perbedaan *optical density* antara *Green* (G) dan nilai rerata saluran *Blue* (B) dan *Red* (R). (Jakovels *et al.*, 2013; Saknite *et al.*, 2016)

$$EI = OD(G) - \frac{OD(B) + OD(R)}{2}$$

optical density yang mewakili penyerapan dapat dinyatakan sebagai: (Jakovels *et al.*, 2013; Saknite *et al.*, 2016)

$$OD(\lambda) = -\log \left[\frac{I(\lambda)}{I_0(\lambda)} \right]$$

I_0 adalah intensitas yang jatuh pada suatu benda (kulit) dan I adalah intensitas cahaya yang dipantulkan secara difus dari kulit.

2.15 Tikus Wistar (*Rattus Novergicus*)

Tikus putih adalah hewan coba yang biasa digunakan karena untuk penelitian memerlukan jumlah yang banyak, mudah diperoleh, mudah dipelihara, peka terhadap yang berhubungan dengan diet, memiliki gambaran secara ilmiah yang mungkin terjadi pada manusia. Tikus putih dengan kelamin jantan banyak digunakan dari pada yang betina karena memiliki kelebihan kondisi biologis tubuh yang stabil dan metabolisme terhadap obat lebih cepat. Tikus putih jantan galur wistar lebih sensitif apabila digunakan penelitian yang berhubungan dengan metabolik tubuh. Tikus laboratorium dengan berat badan rerata 200 - 250 gram dan bisa mencapai 500 gram. mencapai kematangan seksual pada usia 2 - 3 bulan. (Sihombing & Rafizhar, 2010; Untari *et al.*, 2014)

Hewan coba yang umumnya digunakan dalam penelitian *in vivo* adalah tikus putih jantan galur wistar karena lebih sensitif bila digunakan penelitian yang berhubungan dengan metabolik tubuh. Keuntungan pemilihan tikus digunakan sebagai sampel penelitian terutama untuk penelitian yang memerlukan jumlah sampel yang banyak, mudah diperoleh, mudah dipelihara, peka terhadap yang berhubungan dengan diet, memiliki gambaran secara ilmiah yang mungkin terjadi pada manusia. (Sihombing & Rafizhar, 2010; Untari *et al.*, 2014)

Kulit tikus terdiri dari lima lapisan, yaitu Epidermis, Dermis (corium) dan Hipodermis (jaringan putih adiposa), *Paniculus Carnosus* dan *Adventitia* (jaringan subkutis). Lapisan epidermis tikus umumnya tipis karena diselimuti dan dipadati oleh rambut. Lapisan dermis terdiri atas jaringan kolagen dan serat elastis. Bagian dermis dibagi menjadi dua, yaitu *stratum*

papillare dan *stratum reticulare* yang terdiri dari jaringan *connective* yang lebih kasar. Dibawah lapisan dermis, terdapat jaringan putih adiposa yang terdiri dari *adipocyte*. *Paniculus Carnosus* merupakan bagian jaringan subkutis. Pada bagian subkutis tersusun oleh jaringan yang lebih longgar dan jaringan lemak. Subkutis berfungsi menunjang suplai darah ke dermis untuk regenerasi, melekat ke struktur dasar dan mekanikal *shock absorber*. (Krinke, 2000)