

**PENGARUH PERENDAMAN EKSTRAK AIR DAUN TURI
(*Sesbania grandiflora* (L.)) TERHADAP REGENERASI SIRIP
KAUDAL IKAN ZEBRA (*Danio rerio*)**

SKRIPSI



16613061

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

YOGYAKARTA

2020

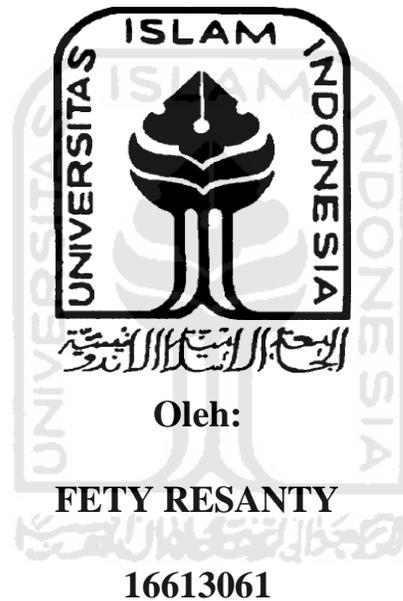
**PENGARUH PERENDAMAN EKSTRAK AIR DAUN TURI
(*Sesbania grandiflora* (L.)) TERHADAP REGENERASI SIRIP
KAUDAL IKAN ZEBRA (*Danio rerio*)**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.)

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia Yogyakarta



PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

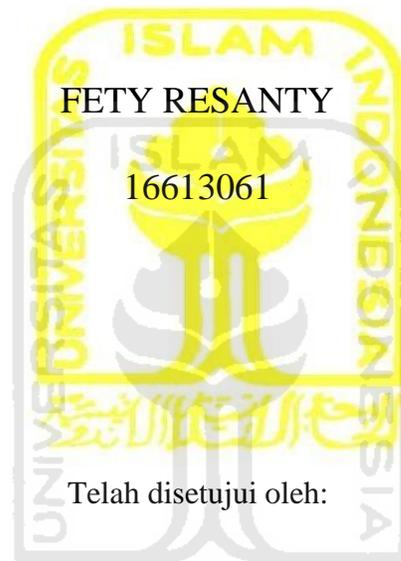
YOGYAKARTA

2020

SKRIPSI

**PENGARUH PERENDAMAN EKSTRAK AIR DAUN TURI
(*Sesbania grandiflora* (L.)) TERHADAP REGENERASI SIRIP
KAUDAL IKAN ZEBRA (*Danio rerio*)**

Yang diajukan oleh:

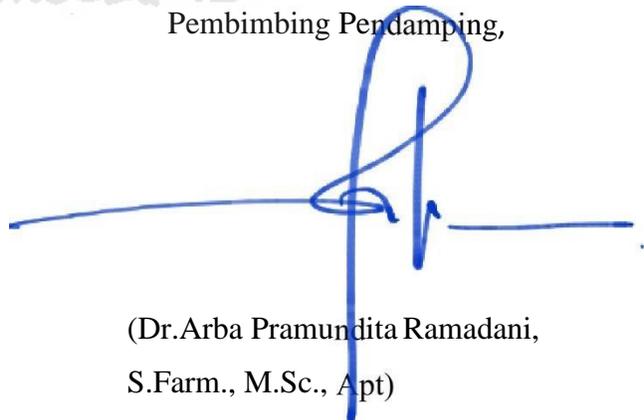


Pembimbing Utama,



(Dr. Farida Hayati, S.Si., M.Si., Apt)

Pembimbing Pendamping,



(Dr. Arba Pramundita Ramadani,
S.Farm., M.Sc., Apt)

SKRIPSI

PENGARUH PERENDAMAN EKSTRAK AIR DAUN TURI (*Sesbania grandiflora* (L.)) TERHADAP REGENERASI SIRIP KAUDAL IKAN ZEBRA (*Danio rerio*)

Oleh:



Telah lulus uji etik penelitian dan dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia
Tanggal: 28 Juli 2020

Ketua Penguji : Dimas Adhi Pradana, M.Sc., Apt
Anggota Penguji : 1. Dr. Farida Hayati, S.Si., M.Si., Apt
2. Dr. Arba Pramundita R, S.Farm., M.Sc., Apt
3. drh. Sitarina Widyarini, M.P., Ph.D.

Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia



Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 28 Juli 2020

Penulis,



Fety Resanty



KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunianya, saya dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi Prodi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia. Saya menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan seperti yang diharapkan, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak pada masa perkuliahan sampai pada proses penyusunan skripsi sangat sulit untuk saya dalam menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu pada kesempatan ini saya ingin mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

- (1) Ibu Dr. Farida Hayati, S.Si., M.Si., Apt. dan ibu Dr. Arba Pramundita Ramadani, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu dan pikiran, serta memberikan motivasi, dukungan dan saran untuk mengarahkan saya selama proses penelitian dan penyusunan skripsi.
- (2) Bapak Dimas Adhi Pradana, M.Sc., Apt. dan ibu drh. Sitarina Widyarini, M.P., Ph.D. selaku dosen penguji yang telah memberikan dukungan, kritik, saran serta motivasi yang membangun sehingga bisa membantu saya dalam menyelesaikan skripsi.
- (3) Bapak Prof. Riyanto, M.Si., Ph. D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
- (4) Bapak Saepudin, M.Si., Ph.D., Apt. selaku Ketua Program Studi Farmasi Universitas Islam Indonesia.
- (5) Ibu Sista Werdyani, M.Biotech., Apt. selaku dosen pembimbing akademik yang selalu memberikan saya saran dan motivasi agar dapat menyelesaikan masa studi saya dengan baik.
- (6) Seluruh dosen pengajar program studi farmasi yang telah memberikan pengetahuan dan bimbingan selama masa perkuliahan sampai saya selesai dalam penulisan skripsi ini.

(7) Staf Laboratorium Biologi Farmasi dan Laboratorium Farmakologi yang telah membantu dalam menyediakan fasilitas serta memudahkan saya selama penelitian berlangsung.

Akhir kata, saya berharap semoga Allah Swt berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Yogyakarta, 28 Juli 2020

Fety Resanty



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
INTISARI	xi
ABSTRACT.....	xii
BAB I.....	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II.....	4
STUDI PUSTAKA	4
2.1 Tinjauan Pustaka.....	4
2.1.1 Penyembuhan Luka.....	4
2.1.2 Ikan Zebra	5
2.1.3 Regenerasi Sirip Kaudal.....	7
2.1.4 Tanaman Turi.....	9
2.2 Landasan Teori.....	10
2.3 Hipotesis	11
2.4 Kerangka Konsep Penelitian.....	11

BAB III.....	12
METODE PENELITIAN.....	12
3.1 Alat dan Bahan.....	12
3.1.1 Alat.....	12
3.1.2 Bahan	12
3.1.3 Subyek Uji	12
3.2 Prosedur Kerja	12
3.2.1 Pengajuan <i>Etichal Clearance</i>	12
3.2.2 Ekstraksi Daun Turi	12
3.2.3 Uji Aktivitas Penyembuhan Luka Pada Ikan Zebra	13
3.3 Analisis Hasil.....	15
3.4 Skema Penelitian.....	16
BAB IV	17
HASIL DAN PEMBAHASAN	17
4.1 <i>Ethical Clearance</i>	17
4.2 Ekstraksi Daun Turi	17
4.3 Identifikasi Ikan Zebra (<i>Danio rerio</i>)	18
4.4 Hasil Pengujian Ekstrak Air Daun Turi Terhadap Regenerasi Sirip Kaudal Ikan Zebra	18
BAB V	22
KESIMPULAN DAN SARAN	22
5.1 Kesimpulan	22
5.2 Saran	22
DAFTAR PUSTAKA.....	23

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 <i>Ethical Clearance</i>	29
Lampiran 2 Hasil Identifikasi Ikan Zebra	30
Lampiran 3 Proses Ekstraksi Daun Turi.....	32
Lampiran 4 Hasil Pengukuran Regenerasi Sirip Kaudal Ikan Zebra Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan	33
Lampiran 5 Kelompok Kontrol Negatif	34



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Penyembuhan luka.....	5
Gambar 2. 2 Ikan Zebra (<i>Danio Rerio</i>)	6
Gambar 2. 3 Sirip ekor dari ikan normal dan diamputasi.....	8
Gambar 2. 4 Proses regenerasi sirip ikan	9
Gambar 2. 5 Tanaman Turi (<i>Sesbania grandiflora</i> (L.)).....	10
Gambar 3. 1 Skema kerja penelitian.....	16
Gambar 4. 1 Grafik perbandingan regenerasi sirip kaudal ikan zebra	18
Gambar 4. 2 Pertumbuhan sirip kaudal ikan zebra.....	20



PENGARUH PERENDAMAN EKSTRAK AIR DAUN TURI (*Sesbania grandiflora* (L.)) TERHADAP REGENERASI SIRIP KAUDAL IKAN ZEBRA (*Danio rerio*)

**Fety Resanty
Prodi Farmasi**

INTISARI

Luka dipahami sebagai adanya kerusakan fisik atau gangguan fungsi pada anatomi tubuh yang normal yang diawali dengan kerusakan pada jaringan epitel kulit atau mukosa hingga dapat mencapai ke jaringan subkutan. Tanaman turi (*Sesbania grandiflora* L.) merupakan tanaman asli Asia yang memiliki efek penyembuhan luka yang didapatkan dari kandungan fitokimia berupa tanin, glikosida dan flavonoid. Penelitian ini dilakukan untuk menguji ekstrak air dari daun turi terhadap aktivitas regenerasi pada sirip kaudal ikan zebra. Uji dilakukan pada ikan zebra yang terbagi menjadi 3 kelompok uji yaitu kontrol negatif berjumlah 10 ikan diamputasi dan tidak diberikan perlakuan, kelompok perlakuan 1 berjumlah 2 ikan yang diamputasi dan diberikan ekstrak air daun turi dengan dosis 40 mg/2 L air dan kelompok perlakuan 2 berjumlah 2 ikan yang diamputasi dan diberikan ekstrak air daun turi dengan dosis 80 mg/2 L air, dilakukan pengamatan pada regenerasi sirip kaudal ikan zebra selama 14 hari. Hasil pengujian aktivitas regenerasi pada masing-masing kelompok uji dapat dilihat dari % regenerasi ikan zebra yaitu, kelompok kontrol negatif 26,59%, kelompok ekstrak daun turi dosis 40 mg 22,22%, dan kelompok ekstrak daun turi dosis 80 mg 86,82%. Dari hasil pengujian, ekstrak air daun turi berpengaruh dalam meningkatkan proses regenerasi sirip kaudal ikan zebra yang mengalami luka.

Kata kunci: *sesbania grandiflora*, ikan zebra, sirip kaudal, regenerasi

THE EFFECT OF IMMERSION AQUEOUS EXTRACT OF *Sesbania grandiflora* (L.) LEAVES AGAINST ZEBRAFISH (*Danio rerio*) CAUDAL FIN REGENERATION

Fety Resanty
Department of Pharmacy

ABSTRACT

A wound is defined as damage or disruption to the normal anatomical structure and function begins with simple break in the epithelial tissue of the skin or mucosal extending into subcutaneous tissue. Turi (*Sesbania grandiflora* (L.)) is originated in Asia has a wound healing effect from phytochemicals content in the form of tannins, saponins and flavonoids. This study aims to test aqueous extract from turi leaves against zebrafish caudal fin regeneration. Zebrafish were divided into 3 tests groups, a negative control consist of 10 fish was amputated and without treatment, treatment 1 consist of 2 fish was amputated and given turi leaf aqueous extract dosage 40 mg/2 L of water and treatment 2 consist of 2 fish was amputated and given turi leaf aqueous extract dosage 80 mg/2 L of water, observations were made on zebrafish caudal fin regeneration for 14 days. The results of regeneration testing on each group can be seen from the % regeneration of zebrafish, negative control group 26,59%, turi leaf extract group dose 40 mg 22,22%, and turi leaf extract group dose 80 mg 86,82%. From the test results, turi leaf aqueous extract has an effect to increase the regeneration process of zebrafish caudal fin that are injured.

Keyword: *Sesbania grandiflora*, zebrafish, caudal fin, regeneration

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Di Indonesia angka terjadinya luka sebesar 8,2% dengan jenis luka tertinggi yang dialami yaitu, luka lecet/memar sebanyak 70,9%, terkilir sebesar 27,5% dan luka robek sebanyak 23,2%. Penyebab luka terbanyak adalah jatuh dengan dengan angka mencapai 40,9% kemudian kecelakaan motor sebesar 40,6% (RISKESDAS, 2013). Saat ini masih banyak penggunaan NaCl 0,9% sebagai cairan perawatan luka. Penggunaan NaCl 0,9% sering diberikan untuk luka-luka yang steril tetapi NaCl bukan antiseptik sehingga tidak dapat membunuh bakteri yang kemungkinan terdapat di luka, selain dengan NaCl 0,9%, banyak juga yang menggunakan *povidon iodine* 10% tetapi pada saat proses penyembuhan berlangsung kandungan dari *povidon iodine* 10% dapat menimbulkan iritasi pada luka (Wibowo, 2017; Rahmawati, 2015).

Selain dengan terapi obat, penyembuhan luka juga bisa diatasi dengan menggunakan alternatif lain berupa penggunaan tanaman obat yang diduga memiliki efek penyembuh luka. Salah satu tanaman obat yang diduga memiliki efek tersebut yaitu, tanaman turi (*Sesbania grandiflora* L.). Tanaman turi merupakan tanaman asli Asia yang tersebar luas di daerah tropis antara lain India, Malaysia, Filipina, dan Indonesia. Tanaman turi termasuk dalam keluarga Fabaceae (kacang-kacangan), bagian dari tanaman ini dapat dimakan dan telah digunakan sebagai obat tradisional berbagai penyakit yang berkaitan dengan infeksi bakteri, seperti gangguan kulit, bisul dan luka (Karthikeyan *et al.*, 2011; Venkateshwarlu *et al.*, 2012). Tanaman ini juga memiliki aktivitas antibakteri dan antijamur (Neethu dan Dhanryaraj, 2016), antituberkulosis (Noviany *et al.*, 2012), antelmintik (Rajagopal *et al.*, 2016), antidiabetes (Sangeetha *et al.*, 2015; Radhika *et al.*, 2014), hepatoprotektif (Bhoumik *et al.*, 2016), antikanker (Ponnanikajamideen *et al.*, 2015), antiinflamasi (Kumar *et al.*, 2012), dan imunomodulator (Arubnaha dan Satish., 2014). Kandungan fitokimia dari

tanaman turi yaitu, alkaloid, flavonoid, glikosida tanin, steroid, protein, karbohidrat, terpenoid, antrakuinon dan saponin (Abbs fan reji *et al.*, 2013).

Penelitian terkait aktivitas penyembuhan luka menggunakan bagian tanaman turi berupa daun belum pernah dilakukan, pada penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya, aktivitas penyembuhan luka dengan model hewan uji tikus memanfaatkan bagian tanaman turi berupa ekstrak metanol kulit kayu tanaman turi dan ekstrak etanol bunga tanaman turi (Sheikh *et al.*, 2011; Karthikeyan *et al.*, 2011). Senyawa fitokimia yang terdapat pada bagian tanaman ini adalah alkaloid, flavonoid, glikosida, tanin, saponin, steroid, protein, dan karbohidrat (Karthikeyan *et al.*, 2014). Berdasarkan hasil dari skrining fitokimia yang dilakukan pada penelitian praklinik sebelumnya, maka ekstrak daun turi dapat digunakan sebagai penyembuh luka karena senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas antioksidan dan antimikroba (Karthikeyan *et al.*, 2014). Antioksidan memiliki peran penting dalam proses penyembuhan luka. Senyawa dengan sifat pembasmi radikal bebas meningkatkan proliferasi *fibroblast* selama penyembuhan luka, merangsang reepitelisasi, neovaskularisasi dan pematangan *extracellular matrix* (ECM). Senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dan antimikroba dapat meningkatkan dan mempercepat proses penyembuhan luka. Beberapa senyawa alami seperti flavonoid, triterpen, alkaloid, polifenol menunjukkan efek antioksidan dan antimikroba dimana mampu menstimulasi satu atau lebih proses mekanisme reparatif (Reddy *et al.*, 2012; Ammar *et al.*, 2015; Frykberg dan Banks, 2015). Penelitian uji aktivitas penyembuhan luka dengan menggunakan kulit kayu tanaman turi dan bunga tanaman turi ini juga masih menggunakan model hewan uji tikus (Sheikh *et al.*, 2011; Karthikeyan *et al.*, 2011), sehingga dilakukan pengembangan model hewan uji berupa ikan zebra (*Danio rerio*).

Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas penyembuh luka dari ekstrak air daun turi dengan menggunakan model hewan uji yang berbeda. Penggunaan model hewan uji menggunakan ikan zebra ini mengikuti prinsip 3R (*Replacement, Reduction, Refinement*) sebagaimana disyaratkan oleh etik penelitian hewan coba nasional dan internasional. Selain itu, penggunaan model ikan zebra menghasilkan pengurangan waktu dan sumber daya yang digunakan jika

dibandingkan dengan model hewan uji yang lain. Jadi, dengan menggunakan model ikan zebra, dimungkinkan untuk mengganti dan mengurangi penggunaan mamalia dalam penelitian serta mengurangi masalah yang berkaitan dengan kesejahteraan hewan-hewan tersebut (Bailone *et al.*, 2020). Ikan zebra secara filogenetis lebih jauh dari manusia daripada tikus, tetapi ikan zebra memiliki ortolog 82% dari gen yang berhubungan dengan penyakit pada manusia. Dalam banyak kasus, ikan zebra menunjukkan konservasi fisiologis dan farmakologis yang mendekati (dan kadang-kadang melampaui) tikus (MacRae dan Peterson, 2015). Ikan zebra menjadi model vertebrata ideal untuk mempelajari area *biomedicine*, bioteknologi dan obat-obatan tradisional (Littleton dan Hove, 2012) serta berperan penting dalam penyembuhan luka dan regenerasi (Yan *et al.*, 2010; Le *et al.*, 2008; Simkin *et al.*, 2015). Setelah evolusi, banyak hewan yang mengembangkan mekanisme pemulihan untuk bagian tubuh yang hilang atau rusak setelah terjadi cedera. Mekanisme pemulihan yang sempurna harus sepenuhnya memperbaiki, baik dari segi bentuk dan fungsi, serta bagian yang rusak, proses ini disebut regenerasi. Dalam beberapa tahun terakhir, ikan zebra (*Danio rerio*) menjadi salah satu model hewan uji yang paling banyak digunakan untuk mempelajari mekanisme regenerasi jaringan. Ikan zebra dapat sepenuhnya menumbuhkan kembali beberapa organ, seperti jantung, retina, otak dan sumsum tulang belakang dan sebagian besar tubuh, seperti sirip. Sirip ekor ikan zebra merupakan salah satu model terbaik untuk mempelajari regenerasi jaringan, karena mudah dalam proses operasi dan amputasi tidak membahayakan kelangsungan hidup hewan (Borbinha, 2016).

Pemaparan latar belakang di atas menjadi dasar penelitian terkait aktivitas ekstrak air daun turi (*Sesbania grandiflora* L.) terhadap regenerasi sirip kaudal ikan zebra (*Danio rerio*).

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh ekstrak air daun turi (*Sesbania grandiflora* L.) terhadap peningkatan regenerasi sirip kaudal ikan zebra (*Danio rerio*) yang mengalami luka?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengkaji pengaruh ekstrak air daun turi (*Sesbania grandiflora* L.) terhadap peningkatan regenerasi sirip kaudal ikan zebra (*Danio rerio*) yang mengalami luka.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Dapat menambah pengetahuan mengenai aktivitas penyembuh luka dari ekstrak daun turi.
2. Memberikan informasi kepada masyarakat terkait terapi alternatif untuk penyembuhan luka dengan pemanfaatan daun turi.
3. Penelitian ini dapat menjadi rujukan untuk penelitian selanjutnya.



BAB II

STUDI PUSTAKA

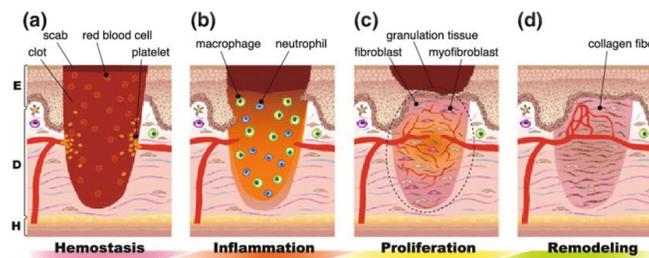
2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Penyembuhan Luka

Luka didefinisikan sebagai kerusakan atau gangguan fungsi pada struktur anatomi yang normal. Luka ini bisa dimulai dari kerusakan jaringan epitel kulit, hingga lebih luas lagi mencapai jaringan subkutan dengan kerusakan struktur seperti tendon, otot, pembuluh, saraf, organ parenkim dan tulang. Luka bisa terjadi karena proses patologis yang diawali secara eksternal maupun internal pada organ yang terlibat, etiologi dapat disengaja, tidak disengaja atau hasil dari suatu penyakit. Respon fisiologis terhadap adanya luka dapat menyebabkan pendarahan, kontraksi pada pembuluh darah diikuti koagulasi, aktivasi komplemen dan respon inflamasi (Velnar *et al.*, 2009).

Penyembuhan merupakan proses kompleks melibatkan interaksi yang terkoordinasi antara sistem imunologis dan biologis. Bagian luka yang terpisah berada pada tahap yang berbeda pada satu waktu. Pengaturan waktu dan komponen dalam proses penyembuhan luka berbeda untuk luka akut dan kronis, meskipun fase utama tetap sama. Berbagai proses perbaikan jaringan akut, yang dipicu oleh cedera jaringan, dapat diurutkan dalam empat fase: (1) koagulasi dan hemostasis, dimulai segera setelah cedera; (2) yang sesudahnya diikuti oleh peradangan; (3) proliferasi, yang dimulai beberapa setelah hari setelah cedera dan meliputi proses utama penyembuhan; dan (4) penyembuhan luka, terjadi pembentukan jaringan parut dan dapat bertahan hingga satu tahun atau lebih. Mekanisme ini dimulai pada saat terjadi cedera fisik dan berlanjut terus-menerus selama proses penyembuhan luka. Sudah diketahui bahwa penyembuhan dimulai segera setelah cedera pada jaringan dan semua luka melalui proses penyembuhan yang serupa, jaringan khusus seperti hati, jaringan kerangka dan mata memiliki bentuk regenerasi dan perbaikan yang berbeda serta jalur yang terpisah (Velnar *et al.*, 2009).

Penyembuhan luka (*wound healing*) merupakan suatu proses yang terdiri dari empat fase: hemostasis, peradangan, proliferasi, dan remodeling. Proses dari empat fase ini harus terjadi secara tepat dan teratur. Interupsi, penyimpangan, atau perpanjangan saat prosesnya dapat mengakibatkan penyembuhan luka yang tertunda atau luka kronis yang tidak sembuh (Guo dan Dipietro, 2010). a) Pada fase hemostasis trombosit melekat pada dinding pembuluh darah yang rusak dan akan memulai proses pembekuan darah dengan mengaktifkan faktor koagulasi. Gumpalan yang dihasilkan dari proses pembekuan darah tadi terdiri dari platelet, sel darah merah dan molekul matriks ekstraseluler; b) Segera dimulai fase peradangan yang akan berlangsung selama beberapa jam, untuk luka akut akan berlangsung hingga beberapa hari. Sel-sel peradangan seperti neutrofil dan makrofag akan menyerang gumpalan, memfagositosis dan memicu respons peradangan. Makrofag memiliki peran penting dalam angiogenesis selanjutnya, deposisi matriks, reepitelisasi dan migrasi *fibroblast* dengan mensekresi *chemokine*; c) Migrasi dan proliferasi *fibroblast* serta sel endotel, yang menyertai reepitelisasi menghasilkan pembentukan jaringan granulasi. Secara bertahap *fibroblast* menggantikan matriks sementara dengan matriks yang kaya kolagen dan akan berubah menjadi *myofibroblast*; d) Transisi dari granulasi ke jaringan parut terjadi, meninggalkan jaringan parut kaya kolagen yang perlahan-lahan di remodeling pada bulan-bulan berikutnya di bawah permukaan luka yang sepenuhnya telah ditutupi dengan neoeperidermis (Kawasumi *et al.*, 2012)

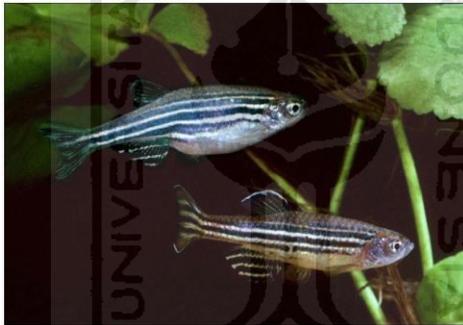


Gambar 2. 1 Penyembuhan luka (Kawasumi *et al.*, 2012)

2.1.2 Ikan Zebra

Danio rerio nama latin untuk ikan zebra sebelumnya disebut *Brachydanio rerio* adalah ikan tropis air tawar yang berukuran kecil berasal dari sungai Gangga di India utara, merupakan ikan teleost bagian dari famili Cyprinidae, yang termasuk ikan mas,

ikan air tawar kecil, ikan bersirip pari dan genus terkait lainnya. Pada habitat alami, ikan zebra biasanya ditemukan di dekat dasar air untuk meminimalkan serangan dari predator, berdasarkan kebiasaannya makannya, ikan zebra diklasifikasikan sebagai omnivora dan ikan ini memakan berbagai makanan (*euryphagous*). Spesies ini memiliki ciri-ciri ukuran kecil, untuk ukuran dewasa 4-5 cm, memiliki tubuh silindris, dan pola warna yang berbeda antara terang dan horizontal gelap bergaris-garis. Dimorfisme seksual, jantan lebih tipis dan umumnya berwarna emas di daerah perut, betina lebih bulat dan keperakan terutama di daerah perut, akan terlihat lebih jelas pada saat dekat periode bertelur. Ikan betina dapat bertelur setiap 2-3 hari dan satu betina dapat berisi ratusan telur. Benih mungkin mengandung 200 butir telur dari satu betina; benih tersebut tumbuh dengan cepat dan dapat mencapai kematangan seksual dalam 2-3 bulan (Tsegay *et al.*, 2019; Simonetti *et al.*, 2015).



Gambar 2. 2 Ikan Zebra (*Danio Rerio*) (Braunbeck, 2006)

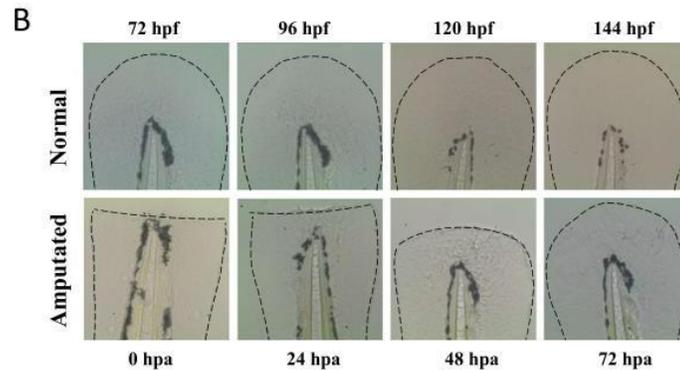
Ikan zebra digunakan untuk mempelajari pengembangan vertebrata karena keunggulannya seperti mudah bereproduksi, embrio transparan dengan pengembangan eksternal, perkembangannya yang cepat serta ikan zebra, tikus dan manusia memiliki 12719 gen umum, 70% gen manusia ditemukan di ikan zebra (Howe *et al.*, 2013), selain itu berbagai aspek fisiologis dan morfologi menyerupai manusia seperti serat otot, sistem saraf pusat, sistem kerangka, beberapa sel *hematopoietic* (eritrosit, sel myeloid, Band T limfosit, dll), dan sistem kardiovaskular (Lieschke dan Currie, 2007). Ikan zebra memiliki kapasitas regeneratif yang kuat, dapat dengan cepat memperbaiki atau mengganti sel dan jaringan yang tidak dapat dilakukan oleh hewan mamalia, termasuk jantung, otak, sumsum tulang belakang dan sel-sel sensorik di mata dan telinga (Gemberling *et al.*, 2013). Beberapa sistem seperti sistem regenerasi sirip

kaudal, regenerasi retina, dan regenerasi jantung, sel-sel dekat tempat cedera dapat berdiferensiasi, berkembang biak dan mengganti sel yang rusak atau hilang (Stewart dan Stankunas, 2012).

2.1.3 Regenerasi Sirip Kaudal

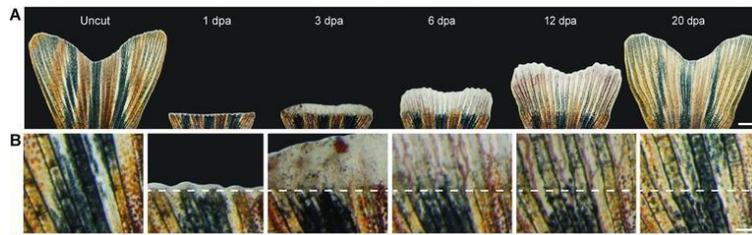
Regenerasi adalah kemampuan untuk sepenuhnya memulihkan struktur, fungsi organ dan anggota tubuh, setelah terjadi kerusakan atau cedera. Proses regeneratif masing-masing organisme memiliki persamaan, kematian sel akibat cedera atau luka membantu mengaktifkan proses penyembuhan luka untuk menutup bagian yang mengalami cedera, sehingga mencegah infeksi lebih lanjut. Stimulasi dari jaringan yang tidak mengalami cedera sangat penting, karena bertanggung jawab untuk menginduksi sel untuk berproliferasi dan berdiferensiasi yang dibutuhkan untuk memperoleh jaringan utuh yang berfungsi secara penuh (Borbinha, 2016).

Sirip kaudal ikan zebra merupakan salah satu model hewan untuk mempelajari regenerasi jaringan, karena mudah untuk dilakukan operasi dan amputasi tidak membahayakan kelangsungan hidup hewan. Setelah amputasi regenerasi terjadi selama 1-2 minggu dan memiliki kemampuan regenerasi yang hampir tidak terbatas dalam mengembalikan ukuran normal, struktur dan fungsi jaringan bahkan ketika diamputasi beberapa kali. Struktur sirip kaudal ikan zebra relatif sederhana terdiri dari beberapa jaringan dan jenis sel seperti sel berpigmen, *osteoblast*, *fibroblast*, arteri, *endothelium*, saraf, kulit dan sel darah (Borbinha, 2016). Setelah amputasi, ikan zebra dewasa meregenerasi sirip ekor melalui proses yang rumit namun dengan pengaturan yang baik proses yang disebut regenerasi epimorfik, termasuk penyembuhan luka, pembentukan blastema, dan perkembangan regeneratif, yang mengarah pada pemulihan sirip baik bentuk dan ukuran dalam 2-3 minggu (Mathew *et al.*, 2009; Petrie *et al.*, 2014). Regenerasi epimorfik adalah proses yang mengarah pada penggantian organ atau jaringan secara penuh saat terjadi cedera atau amputasi, yang ditandai oleh pembentukan struktur sementara yang disebut blastema (Sousa *et al.*, 2011).



Gambar 2. 3 regenerasi sirip ekor larva ikan zebra setelah diamputasi. Amputasi dilakukan pada 72 jam pasca fertilisasi (hpf). Representatif dari sirip ekor ikan normal (tidak teramputasi) dan diamputasi. Garis putus-putus hitam menunjukkan garis besar lipatan sirip. Gambar diambil pada 72 hpf (*hour post fertilization*) atau 0 jam hpa (*hour post amputation*), 96 hpf (atau 24 hpa), 120 hpf (atau 48 hpa), dan 144 hpf (atau 72 hpa) (L sun *et al.*, 2018)

Amputasi pada sirip ikan zebra dapat menyebabkan luka, setelah adanya amputasi maka proses regenerasi dengan tiga fase utama diaktifkan. Prosesnya dimulai dengan penyembuhan luka (0-18 jam pasca amputasi), dimana sel-sel epitel akan bermigrasi untuk menutupi luka membentuk luka epidermis yang juga bertanggung jawab menginduksi langkah selanjutnya dalam proses regenerasi. Fase penyembuhan luka diikuti oleh pembentukan blastema (18-48 jam pasca amputasi), suatu struktur terdiri dari sel yang proliferasif dan kurang terdiferensiasi, menyediakan sejumlah sel yang memadai untuk mengembalikan jaringan yang hilang. Fase pertumbuhan regeneratif terjadi pada 48 jam setelah amputasi sampai 10 hari pasca amputasi, yang melibatkan peristiwa pemodelan dan diferensiasi untuk memulihkan struktur dan fungsi jaringan asli (Chablais dan Jazwinska, 2010; Kawakami, 2010; Hale *et al.*, 2017).



Gambar 2. 4 Timelapse dari sirip yang sama selama proses regenerasi. Pada 1 dpa (*days post amputation*), jaringan putih diatas bagian yang teramputasi terdapat luka epidermis dan beberapa sel blastema. Pada 3 dpa diatas bidang amputasi mengandung blastema. Pada 6 dpa, pertumbuhan proksimal mulai menampilkan struktur tulang dan pigmentasi, yang merupakan penanda makroskopik dari redifferensiasi jaringan. Pada 12 dpa, regenerasi sirip berada pada tahap lanjut. Pada 20 dpa sirip hampir mencapai ukuran dan pola aslinya (Pfefferli dan Jazwinska, 2015)

Regenerasi jaringan sirip kaudal terjadi melalui dediferensiasi osteoblas dewasa. Selama regenerasi sirip, setelah ablasi osteoblas dewasa epidermis dan mesenkim yang mengelilingi matriks tulang merespon dengan meningkatkan proliferasi sel dan memproduksi osteo-progenitor, menunjukkan bahwa sel ini dapat bertindak sebagai sumber potensial untuk pembentukan osteoblast (Meyers, 2018).

2.1.4 Tanaman Turi

Tanaman turi (*Sesbania grandiflora* L.) dikenal sebagai pohon kolibri atau wisteria merah, yang berasal dari Asia Tenggara dan terutama tumbuh di daerah tropis yang panas dan lembab. Berasal dari Negara-negara di Asia seperti India, Malaysia, Indonesia dan Filipina biasa terlihat tumbuh di antara sawah, di sepanjang sisi jalan, dan di kebun-kebun sayur. Tanaman turi merupakan sebatang pohon yang pendek, tumbuh cepat, kayu lunak, tinggi 6-9 m dan lingkaran 0,6 m. Panjang daunnya 15-30 cm, menyirip, panjang bunga 6-10 cm dengan kelopak Bungaran berdaging berwarna putih mencolok, merah muda atau merah, panjang polong 30 cm atau lebih panjang, agak datar dan memiliki 4 ujung, septate dengan pinggir yang tebal dan memiliki 15-50 biji berwarna pucat. Tanaman ini memiliki tingkat pertumbuhan yang sangat cepat, terutama selama 3 atau 4 tahun pertama setelah di tanam (Gandhi *et al.*, 2017).

Klasifikasi tanaman turi dapat dilihat sebagai berikut (Wagh *et al.*, 2009):

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Tracheobionta

Divisi super : Spermatophyta

Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Subkelas : Rosidae
 Ordo : Fabales
 Famili : Fabaceae
 Genus : *Sesbania scop*
 Spesies : *Sesbania grandiflora*



Gambar 2. 5 Tanaman Turi (*Sesbania grandiflora* L.) (Dokumentasi pribadi)

Tanaman turi banyak mengandung zat kimia yang bermanfaat yaitu, arginin, sistein, histidin, isoleusin, fenilalanin, triptofan, valin, treonin, alanin, aspargin, asam aspartat dan saponin yang menghasilkan asam oleanolik, galaktosa, ramnosa dan asam glukuronat serta mengandung flavonoid, glikosida, kaempferol (Bhoumik *et al.*, 2016). Salah satu kandungan zat kimia yang tinggi dari tanaman turi adalah tanin dan flavonoid (Panda *et al.*, 2013).

2.2 Landasan Teori

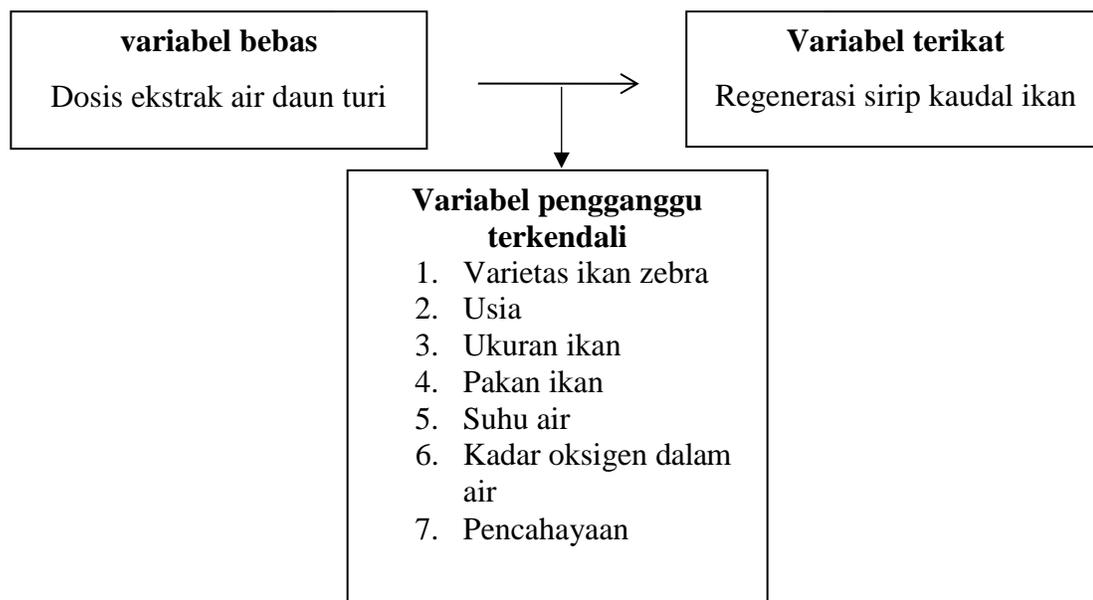
Ikan zebra dapat sepenuhnya meregenerasi banyak organ setelah mengalami luka, termasuk jantung, retina, sumsum tulang belakang, dan sirip ekor, dalam proses yang disebut regenerasi epimorfik (Pfefferli dan Jazwinska, 2015). Secara umum, regenerasi sirip ekor ikan zebra terjadi secara berurutan melalui tiga fase berbeda: penyembuhan luka dimulai pada 0-18 jam pasca amputasi, pembentukan blastema dimulai langsung setelah fase penyembuhan luka yaitu pada 18-48 jam pasca amputasi,

dan pertumbuhan regeneratif dimulai pada 48 jam pasca amputasi sampai 10 hari pasca amputasi (Hale *et al.*, 2017). Ekstrak metanol kulit kayu *Sesbania grandiflora* memiliki aktivitas penyembuhan luka yang signifikan seperti obat standar diujikan pada model hewan uji tikus, yang diasumsikan dari efek sinergis penghambatan lipid peroksidasi dan aktivitas antimikroba dari flavonoid dapat mempercepat proses penyembuhan luka (Karthikeyan *et al.*, 2011). Ekstrak etanol bunga *Sesbania grandiflora* Linn memiliki sifat penyembuhan luka yang signifikan dengan tikus sebagai model hewan uji (Laladhas, 2009). Aktivitas penyembuhan luka yang terdapat pada bagian bunga *Sesbania grandiflora* karena terdapat tanin dan konten zat kimia yang bermanfaat lainnya (Sheikh *et al.*, 2011). *Sesbania grandiflora* L. memiliki kandungan kimia yaitu, tanin, saponin, flavonoid, kumarin, steroid, alkaloid dan triterpen yang ada pada semua bagian tanaman (Bahera *et al.*, 2012). Kandungan tanin dan saponin pada daun turi berkhasiat sebagai obat luka yang banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional oleh masyarakat luas (Dalimartha, 2009). Flavonoid juga mempercepat proses penyembuhan luka karena aktivitas astringen dan antimikroba, bertanggung jawab pada kontraksi luka dan periode epitelisasi yang lebih cepat (Thakur *et al.*, 2011).

2.3 Hipotesis

Ekstrak air daun turi (*Sesbania grandiflora* L.) berpengaruh dalam meningkatkan proses regenerasi sirip kaudal ikan zebra (*Danio rerio*) yang mengalami luka.

2.4 Kerangka Konsep Penelitian



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Peralatan gelas, peralatan infundasi, *hot plate heater*, *vacuum pump*, *rotary evaporator*, corong Buchner, timbangan analitik, oven, *grinder* simplisia, akuarium, mikroskop stereo Olympus®, pisau bedah (bisturi), aplikasi *ImageJ*®, aplikasi *ImageRaster*®.

3.1.2 Bahan

Bahan yang akan digunakan pada penelitian ini yaitu, daun turi (*Sesbania grandiflora* L.) yang diambil dari Kecamatan Kediri, Kabupaten Lombok Barat (Nusa Tenggara Barat), aquades, tricaine®.

3.1.3 Subyek Uji

Subyek uji yang digunakan yaitu, ikan zebra (*Danio rerio*) jantan dan betina dengan umur rata-rata 118 hari (3-6 bulan) dengan ukuran 1-1,5 inchi yang didapatkan dari peternakan ikan hias di Bogor, Jawa Barat yang dikembangbiakkan di Laboratorium Farmakologi Praktikum, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.

3.2 Prosedur Kerja

3.2.1 Pengajuan *Ethical Clearance*

Mengajukan proposal penelitian kepada Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.

3.2.2 Ekstraksi Daun Turi

Tumbuhan turi diperoleh dari daerah Kediri, Lombok Barat, Nusa Tenggara Barat, dipanen pada umur 4 bulan dengan cara langsung dipetik dari pohonnya. Pembuatan ekstrak daun turi dengan metode infundasi. Serbuk daun turi sebanyak 50 gram dilarutkan ke dalam 500 ml aquades, kemudian dipanaskan menggunakan *hot*

plate heater sampai mencapai suhu 90°C ditunggu selama 15-20 menit sambil sesekali diaduk menggunakan batang pengaduk. Ekstrak yang didapat disaring menggunakan corong Buchner yang sebelumnya sudah dilapisi kertas saring dan *vacuum pump*. Ekstrak selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator suhu 50°C sampai ekstrak kental didapatkan. Ekstrak kental yang didapatkan sebanyak 9,161 gram dengan hasil rendemen ekstrak 18,322%.

3.2.3 Uji Aktivitas Penyembuhan Luka Pada Ikan Zebra

3.2.3.1 Identifikasi Ikan Zebra

Identifikasi ikan zebra dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor untuk mengetahui spesies dan varietas ikan zebra yang digunakan pada penelitian.

3.2.3.2 Kriteria Hewan Model

Kriteria inklusi yaitu, ikan dewasa dengan usia 3-6 bulan, ikan sehat berdasarkan keadaan fisik dan aktivitas berenang, ikan jantan dan betina. Pemilihan ikan jantan dan betina pada penelitian ini karena jenis kelamin tidak berpengaruh terhadap regenerasi sirip kaudal ikan zebra (Hosseini *et al.*, 2019; Nachtrab *et al.*, 2011). Kriteria eksklusi berupa, ikan yang sakit atau mati pada saat penelitian berjalan.

3.2.3.3 Aklimatisasi

Ikan zebra yang didapatkan dari Bogor selanjutnya akan diaklimatisasi di laboratoirum untuk dapat beradaptasi dengan lingkungan yang baru selama 7 hari dengan kondisi air yang sesuai.

3.2.3.4 Pemeliharaan Ikan Zebra

Ikan zebra dipelihara dalam akuarium berbahan kaca yang telah diberikan aerator, filter air dan dipasang termometer digital untuk monitoring air tetap pada suhu 26°C dan kondisi pencahayaan 14:10 jam (terang:gelap). Media yang digunakan untuk pemeliharaan ikan zebra adalah air RO (*Reverse Osmotic*) yang ditambahkan *ocean salt* dengan kadar yang telah ditentukan. Kadar pH air harus diperiksa setiap hari dan dipertahankan antara 6,8 dan 7,5. Bila perlu, natrium bikarbonat harus digunakan untuk meningkatkan pH. Tangki ikan harus dibersihkan secara teratur. Sistem filter sirkulasi harus diperiksa dan diubah secara teratur untuk memastikan fungsinya yang tepat.

Filter ini harus diganti secara berkala untuk memastikan pasokan air yang layak dan bersih ke semua tangki ikan. Ada beberapa parameter untuk menguji kualitas air pemeliharaan ikan yaitu, konduktivitas, derajat keasaman (pH), suhu, kesadahan, nitrat, nitrit dan oksigen (Avdesh *et al.*, 2012).

3.2.3.5 Perhitungan Besar Sampel

Jumlah sampel dihitung dengan menggunakan rumus Federer, perhitungannya sebagai berikut:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(4-1) \geq 15$$

$$(n-1)(3) \geq 15$$

$$n-1 \geq 5$$

$$n \geq 6$$

Keterangan: n = jumlah subjek uji; t = jumlah kelompok

Berdasarkan perhitungan dibutuhkan 6 ekor ikan, terdapat 4 kelompok uji sehingga dibutuhkan sebanyak 24 ekor ikan.

3.2.3.6 Amputasi Sirip Kaudal

Sebanyak 14 ekor ikan zebra berusia 3-6 bulan di anastesi dengan cara, ditimbang tricaine sebanyak 16,8 mg, kemudian dimasukkan ke dalam gelas beaker yang sudah terisi 100 ml air. Ikan direndam dalam larutan tricaine yang sudah dibuat tadi sampai tidak ada pergerakan. Ikan zebra yang sudah di anastesi kemudian di amati dengan mikroskop sebelum dilakukan proses amputasi. Sirip kaudal dipotong dengan menggunakan bisturi pada bagian satu segmen di bawah percabangan pertama atau secara vertikal pada setengah panjang dari sirip ekor (Utami., 2016; Azevodo *et al.*, 2012; Sari *et al.*, 2016)

3.2.3.7 Pemberian Ekstrak Daun Turi Pada Ikan Zebra

Ikan zebra yang sudah diamputasi kemudian dimasukkan ke dalam aquarium sesuai dengan masing-masing kelompok uji yang telah ditetapkan. Pada penelitian ini terdiri dari 3 kelompok uji yaitu, kelompok kontrol negatif terdiri dari 10 ikan yang sirip ekornya di amputasi dan tidak diberikan perlakuan, kelompok perlakuan 1 terdiri dari 2 ikan yang sirip ekornya di amputasi dan diberikan ekstrak daun turi dengan dosis

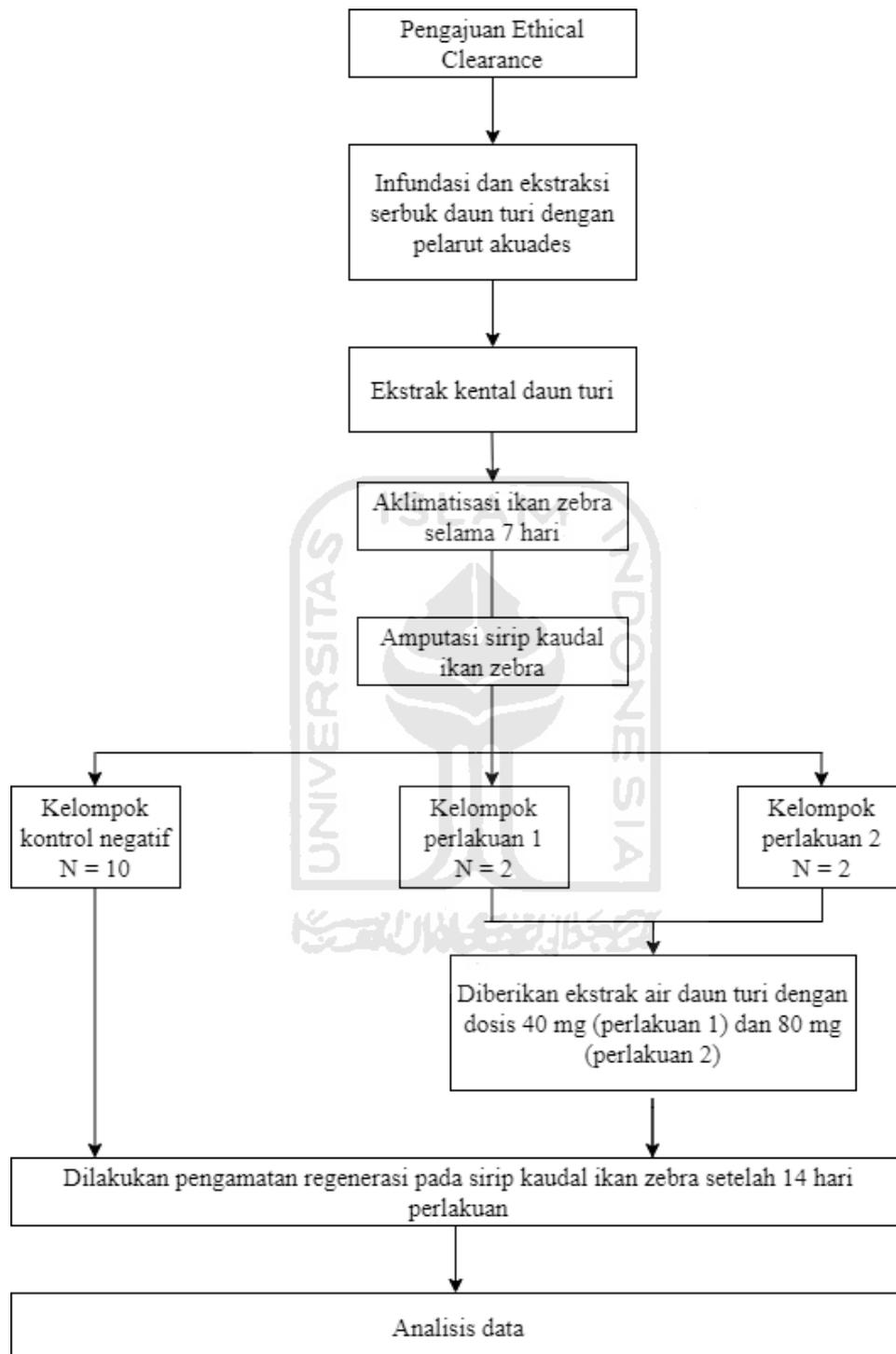
40 mg, dan kelompok perlakuan 2 terdiri dari 2 ikan yang sirip ekornya diamputasi dan diberikan ekstrak daun turi dengan dosis 80 mg, acuan dosis diambil dari penelitian sebelumnya pada model hewan uji tikus yang masih berbentuk persen berat (%b/b), yang pada penelitian ini akan diubah menjadi berat per volume (b/v). Untuk preparasi dosis dalam sediaan, disiapkan terlebih dahulu 2 aquarium yang sudah terisi air sebanyak 2 liter. Ekstrak air daun turi kemudian ditimbang sesuai dengan dosis yang sudah ditetapkan yaitu 40 mg dan 80 mg, dimasukkan ekstrak air daun turi tadi ke dalam 2 akuarium yang sudah disiapkan diaduk sampai ekstrak larut dalam air. Kelompok perlakuan 1 dan 2 direndam dalam ekstrak daun turi selama 12 jam, setelah 12 jam ikan dipindahkan ke dalam akuarium berisi air yang sudah disediakan. Perendaman yang dilakukan selama 12 jam berdasarkan dari fase pertama proses regenerasi yaitu, penyembuhan luka. Penyembuhan luka dimulai pada waktu 0-18 jam pasca amputasi, maka dari itu waktu perendaman ikan zebra didalam ekstrak air daun turi dilakukan selama 12 jam (Hale *et al.*, 2017). Setelah 14 hari perendaman dengan ekstrak daun turi ikan zebra dianastesi untuk kemudian diamati regenerasi sirip kaudal dari masing-masing kelompok uji. Pengamatan menggunakan mikroskop stereo dengan perbesaran 40x yang dibantu dengan aplikasi *ImageRaster* dan *ImageJ*.

3.3 Analisis Hasil

Untuk mendapatkan nilai persentase regenerasi sirip kaudal maka dari masing-masing kelompok uji dilakukan perhitungan dengan rumus sebagai berikut (Utami, 2016):

- a. Daerah yang hilang = Daerah sebelum amputasi – Daerah pasca amputasi
- b. Daerah regenerasi = Daerah regenerasi 14 dpa (*days post amputation*/hari pasca amputasi) – Daerah yang hilang
- c. Persentase regenerasi = $\frac{\text{Daerah regenerasi}}{\text{Daerah amputasi}} \times 100\%$

3.4 Skema Penelitian



Gambar 3. 1 Skema kerja penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektifitas ekstrak air daun turi (*Sesbania grandiflora* (L.)) terhadap regenerasi sirip kaudal ikan zebra (*Danio rerio*). Penelitian diawali dengan pembuatan ekstrak air daun turi, dilanjutkan dengan optimasi dosis dan pengujian pada ikan zebra.

4.1 Ethical Clearance

Penelitian ini telah mendapatkan surat kelayakan etik dengan nomor surat 4/Ka.Kom .Et/70/KE/VII/2020 dari Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta (Lampiran 1).

4.2 Ekstraksi Daun Turi

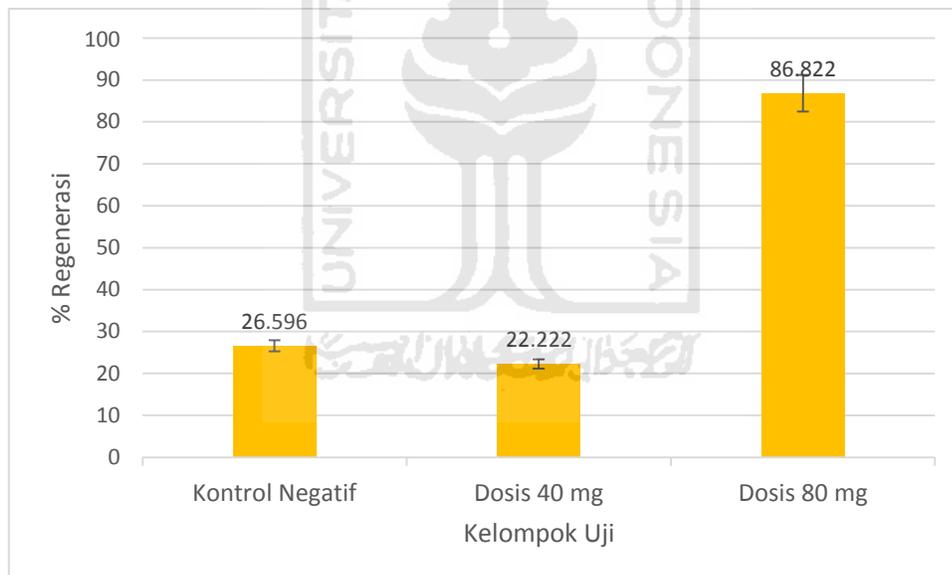
Ekstraksi daun turi menggunakan metode infundasi dengan pelarut air. Pemilihan metode infundasi dalam penelitian ini karena pemanasan akan memudahkan pelepasan senyawa fitokimia yang terkandung dalam tumbuhan (Anggraini, 2013). Infusa yang diperoleh kemudian diuapkan dengan *waterbath* (penangas air) untuk mendapatkan ekstrak kental karena kandungan airnya yang mengandung sebagian senyawa fitokimia dalam infusa daun turi (Rusita dan Suhartono, 2016). Penggunaan air sebagai pelarut karena murah, mudah diperoleh, stabil, tidak beracun, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selain itu juga daun turi sepenuhnya larut dalam air (Sa'adah dan Nurhasnawati, 2017; Bahera *et al.*, 2012). Hasil organoleptik dari ekstrak daun turi yang diperoleh yaitu berwarna hijau kehitaman, bau yang khas, rasa pahit, konsistensinya padat dengan tekstur agak lengket. Ekstrak kental didapatkan sebanyak 9,161 gram dengan hasil rendemen ekstrak sebanyak 18,322%. Rendemen ekstrak merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk menentukan mutu ekstrak. Hasil rendemen diperoleh dengan membandingkan bobot ekstrak kental dan bobot simplisia awal yang digunakan, rendemen menggunakan satuan persen (%). Semakin tinggi nilai rendemen yang didapat maka menunjukkan semakin banyak nilai ekstrak yang dihasilkan (Wijaya *et al.*, 2018).

4.3 Identifikasi Ikan Zebra (*Danio rerio*)

Ikan zebra yang digunakan pada penelitian ini telah diidentifikasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Bogor dan dinyatakan benar spesies ikan zebra (*Danio rerio*) dengan genus *Danio* (Lampiran 2).

4.4 Hasil Pengujian Ekstrak Air Daun Turi Terhadap Regenerasi Sirip Kaudal Ikan Zebra

Berdasarkan pengujian pada regenerasi sirip kaudal ikan zebra dengan menggunakan dua variasi dosis ekstrak air daun turi hasilnya menunjukkan ekstrak air daun turi berpengaruh terhadap proses regenerasi pada ikan zebra yang sirip kaudalnya diamputasi. Hasil ini dapat diketahui dengan membandingkan hasil kelompok uji ekstrak air daun turi dengan hasil rata-rata kelompok uji kontrol negatif. Hal ini terlihat pada gambar 4.1.



Gambar 4. 1 Grafik perbandingan regenerasi sirip kaudal ikan zebra dari rata-rata kelompok kontrol negatif dan kelompok ekstrak air daun turi (untuk masing-masing kelompok perlakuan n = 1)

Adanya faktor atau keadaan yang membatasi pada saat penelitian berlangsung menyebabkan jumlah hewan dan kelompok uji yang digunakan menjadi berkurang, jumlah awal ikan zebra yang dibutuhkan yaitu 40 ekor yang nantinya akan dibagi menjadi 10 ekor untuk masing-masing 4 kelompok uji. Pada saat pelaksanaan

penelitian jumlah ikan zebra yang digunakan menjadi 14 ekor dengan pembagiannya, 10 ekor ikan zebra untuk kelompok kontrol negatif, 2 ekor ikan zebra untuk kelompok perlakuan ekstrak air daun turi dosis 40 mg dan 2 ekor ikan zebra untuk kelompok perlakuan ekstrak air daun turi dosis 80 mg. Jumlah awal kelompok uji total ada 4 kelompok, kemudian yang digunakan hanya 3 kelompok uji karena pada saat pelaksanaan penelitian salah satu kelompok uji tidak menunjukkan adanya aktivitas regenerasi setelah diberikan ekstrak air daun turi yang disebabkan kesalahan pada pemotongan sirip kaudal ikan zebra sehingga menyebabkan gagalnya proses regenerasi pada ikan zebra, kelompok uji tersebut dikeluarkan dari penelitian.

Pelaksanaan metode pemotongan sirip kaudal ikan zebra memiliki tingkat keberhasilan pengujian 70%. Adapun tingkat kematian 30% kemungkinan disebabkan oleh faktor lamanya ikan terpapar oleh anestesi yang digunakan yaitu Tricaine baik pada saat perlakuan maupun pada saat pengamatan (Meilinda, 2020). Tricaine merupakan anestesi yang paling banyak digunakan pada ikan dan sudah dianggap aman (Collymore *et al.*, 2014), meskipun aman namun pemakaian tricaine dapat menyebabkan efek samping yang merugikan tergantung pada dosis dan waktu paparan, efek sampingnya seperti lesi pada epidermal dan kornea, hipoksia, penurunan denyut jantung dan kematian (Wong *et al.*, 2014), namun pada penelitian ini dosis yang digunakan dibawah dosis letal sehingga tidak berpengaruh pada kematian ikan, serta untuk durasi waktu sudah sesuai.

Berdasarkan Gambar 4.1 menunjukkan kedua variasi dosis ekstrak air daun turi memiliki efektivitas terhadap regenerasi sirip kaudal ikan zebra yang diamputasi, di antara kedua dosis tersebut yang memiliki efektivitas lebih baik yaitu ekstrak air daun turi dengan dosis 80 mg.



Gambar 4. 2 Pertumbuhan sirip kaudal ikan zebra kelompok uji kontrol negatif dan kelompok perlakuan ekstrak air daun turi dosis 40 mg dan dosis 80 mg

Hasil gambar 4.2 diambil menggunakan kamera mikroskop stereo yang dilakukan saat pengamatan pertumbuhan sirip kaudal ikan zebra setelah 14 hari diamputasi. Dari gambar dapat dilihat perbedaan antara pertumbuhan sirip kaudal kelompok uji kontrol negatif dengan kelompok uji ekstrak air daun turi, pada kelompok uji kontrol negatif sirip kaudal ikan zebra sudah mengalami pertumbuhan selama 14 hari tetapi pertumbuhan sirip kaudal diambil dari perhitungan rata-rata hasil daerah regenerasi atau daerah pertumbuhan didapatkan hasil $0,04 \text{ cm}^2$, kelompok perlakuan ekstrak air daun turi dengan dosis 40 mg daerah regenerasi sebesar $0,03 \text{ cm}^2$, dan kelompok perlakuan ekstrak air daun turi dosis 80 mg daerah regenerasi $0,11 \text{ cm}^2$. Dengan rata-rata % regenerasi untuk kelompok kontrol negatif $26,59 \pm 13,28$ sedangkan untuk kelompok uji ekstrak air daun turi dengan dosis 40 mg diperoleh hasil % regenerasi 22,22%, dan ekstrak air daun turi dosis 80 mg hasil yang didapat untuk perhitungan % regenerasi 86,82%, dari kedua dosis ekstrak air daun turi tersebut dapat dilihat bahwa dosis yang lebih efektif dalam proses regenerasi sirip kaudal ikan zebra yaitu ekstrak air daun turi dengan dosis 80 mg. Perbandingan antara kelompok uji kontrol negatif dengan kelompok uji ekstrak air daun turi dosis 80 mg menunjukkan perbedaan hasil yang cukup signifikan berdasarkan data yang diperoleh bahwa dosis ekstrak air daun turi memiliki efektivitas paling baik dalam proses regenerasi sirip kaudal ikan zebra. Dari gambar 4.1 juga menunjukkan bahwa hasil % regenerasi dari kelompok kontrol negatif lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan ekstrak air daun turi dengan dosis 40 mg, hal ini kemungkinan disebabkan dosis 40 mg masih termasuk sub dosis atau dosis terlalu kecil sehingga tidak ada efek.

Hasil penelitian ini mendukung hasil pada penelitian sebelumnya bahwa kedua konsentrasi salep (2 dan 4% b/b) dari ekstrak etanol bunga turi menunjukkan penyembuhan luka yang signifikan (penutupan luka) dan adanya peningkatan gaya tarik pada luka eksisi maupun luka sayatan yang diujikan kepada tikus Wistar apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol, efeknya sebanding dengan salep standar Nitrofurazone 0,2% (Sheikh *et al.*, 2011). Pada pengujian menggunakan tikus Wistar albino secara *in vivo* juga terbukti bahwa ekstrak metanol kulit turi menyembuhkan luka yang efektif pada konsentrasi 10% b/b apabila dibandingkan dengan obat standar Framycetin sulfat 1% (Karthikeyan *et al.*, 2011). Kemungkinan mekanisme dari penyembuhan luka ini dipengaruhi oleh aktivitas daun turi sebagai antiinflamasi, yang ditunjukkan aktivitasnya pada dosis 250 mg/kgBB namun hasil ini masih lebih kecil dibandingkan dengan obat standar Natrium diklofenak (Khoirunnisa *et al.*, 2015). Ekstrak metanol daun turi dosis 400 mg/kgBB menunjukkan adanya aktivitas antiinflamasi dalam model edema telapak kaki tikus yang diinduksi formaldehid, dengan Dexamethasone dosis 0,5 mg/kg digunakan sebagai obat standar (Kumar *et al.*, 2012). Pada pengujian aktivitas antiinflamasi dari ekstrak petroleum eter, kloroform, dan metanol dari kulit kayu tanaman turi dosis 300 mg/kgBB p.o, karagenan yang diinduksikan pada tikus berkurang secara signifikan dengan Ibuprofen sebagai obat standar (Patil *et al.*, 2010).

Hasil analisis fitokimia dari daun turi yaitu terdapat alkaloid, flavonoid, glikosida, tanin, antrakuinon, steroid, phlobatannins, terpenoid, protein dan karbohidrat (Abbs dan Rexin, 2013). Berbagai aktivitas tadi sangat dipengaruhi oleh kandungan zat aktif daun turi diantaranya adalah, flavonoid dapat mencegah peroksidasi lipid, tidak hanya mencegah atau memperlambat timbulnya nekrosis sel tetapi juga meningkatkan vaskularisasi (Karthikeyan *et al.*, 2011). Selain flavonoid kandungan zat aktif dari daun turi yaitu tanin, memiliki efek penyembuhan luka melalui beberapa mekanisme seluler. Tanin meningkatkan penyembuhan luka dan mengurangi pembentukan jaringan parut, selain itu juga meningkatkan pembentukan pembuluh kapiler dan *fibroblast* (Li *et al.*, 2011). Alkaloid mampu menstimulasi leukosit sumsum tulang, yang memodulasi fase inflamasi pada proses penyembuhan luka (Sobarzo *et al.*, 2012). Alkaloid dan steroid

memiliki aktivitas penyembuhan luka dan sebagai antimikroba. Tanaman obat lain yang diidentifikasi berpotensi untuk penyembuhan luka, mengandung zat fitokimia yang serupa. Metabolit ini memiliki peran penting dalam proses penyembuhan luka dengan meningkatkan laju kontraksi luka, epitelisasi dan pencegahan infeksi bakteri yang akan mempersulit dan menunda proses penyembuhan luka (Mekonnen *et al.*, 2013; Shailajan *et al.*, 2011; Sasidharan *et al.*, 2010; Zeng *et al.*, 2016). Tanin, glikosida, terpenoid dan flavonoid juga dapat meningkatkan proses penyembuhan luka karena ada aktivitas astringen dan antimikroba yang bertanggung jawab pada kontraksi luka dan mempercepat durasi dari proses epitelisasi (Vinothapooshan dan Sundar, 2010; Venkatanarayana *et al.*, 2010; Sasidharan *et al.*, 2010). Maka dari penjelasan diatas dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak air daun turi memiliki berpengaruh dalam meningkatkan proses regenerasi ikan zebra yang mengalami luka.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Ekstrak air daun turi berpengaruh dalam meningkatkan proses regenerasi sirip kaudal ikan zebra yang mengalami luka.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait efektivitas ekstrak air daun turi terhadap regenerasi sirip kaudal ikan zebra dengan jumlah hewan coba yang sesuai dan mencukupi serta variasi dosis yang lebih banyak.



DAFTAR PUSTAKA

- Abbs Fen Reji dan N. Rexin Alphose., 2013. Phytochemical Study on *Sesbania grandiflora*. *Journal of chemical & pharmaceutical research*. 5(2), 196-201.
- Alamsyah, H.K., Widowati, I., Sabdono, A., 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumpun Laut Sargassum cinereum (J.G. Agardh) dari Perairan Pulau Panjang Jepara terhadap Bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus epidermidis. *Journal Of Marine Research*. 3, 69-78.
- Ammar I., Bardaa S., Mzid M., Sahnoun Z., Rebaï T., Attia H., Ennouri M., 2015. Antioxidant, antibacterial and in vivo dermal wound healing effects of Opuntia flower extracts. *Int. J. Biol. Macromol.* 81, 483–490.
- Anggraini, I. D., 2013. Mineral dalam Buah Naga Sebagai Penurun Asam Urat. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*.
- Arunabha, M., Satish, N., 2014. Evaluation of immunomodulatory activity of *Sesbania grandiflora* flowers extract in mice. 25(4), 277-283.
- Arun, A., Karthikeyan, P., Sagadevan, P., et al., 2014. Phytochemical Screening of *Sesbania grandiflora* (Linn). *International Journal of Bioscience and Nanoscience*. 1(2), 33-36.
- Avdesh, A., Chen, M., Martin-Iverson, M.T., Mondal, A., Ong, D., Rainey-Smith, S., Martins, R.N., 2012. Regular Care and Maintenance of A Zebrafish (Danio rerio) Laboratory: An Introduction. *Journal of visualized experiments : JoVE*. 69, e4196.
- Azevedo, A.S., Sousa, S., Jacinto, A., Saúde, L., 2012. An Amputation Resets Positional Information to A Proximal Identity in The Regenerating Zebrafish Caudal Fin. *BMC developmental biology*. 12, 24.
- Bahera, M., Karki, R., Shekar, C., 2012. Preliminary Phytochemical Analysis of Leaf and Bark Methanolic Extract of *Sesbania grandiflora*, *The Journal of Phytomedicine*. 1, 11-12.
- Bailone, R. L., Fukushima, H., Ventura Fernandes, B. H., De Aguiar, L. K., Corrêa, T., Janke, H., Grejo Setti, P., Roça, R. O., & Borra, R. C., 2020. Zebrafish as an alternative animal model in human and animal vaccination research. *Laboratory animal research*. 36, 13.
- Bhounik, D.A., Berhe, A.M., 2016. Evaluation of Gastric Anti-Ulcer Potency of Ethanolic Extract of *Sesbania grandiflora* Linn Leaves in Experimental Animals. *Am. J. Phytomedicine Clin. Ther.* 4(6), 174-182.
- Bhounik, D., Mallik, A., Berhe, A.H., 2016. Hepatoprotective activity of aqueous extract of *Sesbania grandiflora* Linn leaves against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in Albino rats. 8, 294-299.
- Borbinha, J.M.R., n.d., 2016. A Study on Regeneration: Insights From The Zebrafish Caudal Fin and Neural Retina. 57.
- Braunbeck, T dan Lammer, E., 2006. Detailed review paper fish embryo toxicity assays. UBA Report under Contract.
- Chablais, F., Jazwinska, A, 2010. IGF Signaling Between Blastema and Wound Epidermis Is Required For Fin Regeneration. *Development*. 137, 871–879.

- Collymore, C., Tolwani, A., Lieggi, C., Rasmussen, S., 2014. Efficacy and safety of 5 anesthetics in adult zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science : JAALAS*. 53(2), 198–203.
- Dalimartha, Setiawan., 2009. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 2*. PT. Pustaka Pembangunan Swadaya Nusantara: Jakarta.
- Dhivya, S., Padma, V.V., Santhini, E., 2015. Wound Dressings – A Review. *BioMedicine*. 5(4), 22.
- Frykberg R.G., Banks J., 2015. Challenges in The Treatment of Chronic Wounds. *Adv. Wound care*. 4, 560-582.
- Gandhi, A.D., Vizhi, D.K., Lavanya, K., Kalpana, V.N., Devi Rajeswari, V., Babujanathanam, R., 2017. *In Vitro* Anti- Biofilm and Anti-Bacterial Activity of *Sesbania grandiflora* Extract Against *Staphylococcus aureus*. *Biochemistry and biophysics reports*. 12, 193–197.
- Gemberling, M., Bailey, T.J., Hyde, D.R., Poss, K.D., 2013. The Zebrafish as A Model for Complex Tissue Regeneration. *Trends in genetics : TIG*. 29(11), 611–620.
- Guo, S., Dipietro, L.A., 2010. Factors Affecting Wound Healing. *Journal of dental research*. 89(3), 219–229.
- Guyader, D., Redd, M., Colucci-Guyon., 2008. Origins and Unconventional Behavior of Neutrophils in Developing Zebrafish. *Blood*. 111, 41-132.
- Hale AJ, Kiai A, Sikkens J, den Hertog J., 2017. Impaired caudal fin-fold regeneration in zebrafish deficient for the tumor suppressor Pten. *Regeneration (Oxf)*. 4(4), 217-226.
- Hosseini, S., Ha, N., Simianer, H. et al, 2019. Genetic mechanism underlying sexual plasticity and its association with colour patterning in zebrafish (*Danio rerio*). *BMC Genomics* 20, 341.
- Howe, K., Clark, M.D., Torroja, C.F., Torrance, J., Berthelot, C., Muffato, M., Stemple, D.L., 2013. The Zebrafish Reference Genome Sequence and it's Relationship to The Human Genome. *Nature*. 496(7446), 498–503.
- Karthikeyan, P., Suresh, V., Suresh, A., Aldrin, B.J., Senthivelan, S, Arunachalam, G., 2011. Wound Healing Activity of *Sesbania grandiflora* (L) Poir. bark. *Int J Pharm Res Dev*. 3, 87–93.
- Kawakami, A., 2010. Stem Cell System in Tissue Regeneration in Fish. *Dev. Growth Differ*. 52, 77–87.
- Kawasumi, Aiko., Sagawa, Natsume., Hayashi, Shinichi., Yokoyama, Hitoshi., Tamura, Koji., 2012. Wound Healing in Mammals and Amphibians: Toward Limb Regeneration in Mammals. *Current topics in microbiology and immunology*. 367, 33-49.
- Khoirunnisa, F. K., Rahmawati, D., & Rijai, L., 2015. Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Turi (*Sesbandia grandiflora* Pers.) Sebagai Antiinflamasi. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*. 1(1), 164-170.
- Kumar, A., Gaur, S., Jha, K.K., et al, 2012. Comparing of anti-inflammatory activity of *Sesbania grandiflora* and *Acacia nilotica* on Formalin induced paw edema in rats. *The Journal Of Phytopharmacology*. 1(3), 42-50.

- Laladhas K.P., 2009. A Novel Protein Fraction From *Sesbania grandiflora* Show Potential Anticancer and Chemoprotective Efficacy *In Vitro* and *In Vivo*. *J.Cell mol. Med.* 61(3), 200-207.
- Li, K., Diao, Y., Zhang, H. *et al.*, 2011. Tannin extracts from immature fruits of *Terminalia chebula Fructus* Retz. promote cutaneous wound healing in rats. *BMC Complement Altern Med* 11, 86.
- Lieschke, G., Currie, P., 2007. Animal Models of Human Disease: Zebrafish Swim Into View. *Nat Rev Genet.* 8, 353–367.
- Littleton, R.M., Hove, J.R., 2013. Zebrafish: A Nontraditional Model of Traditional Medicine. *Journal of ethnopharmacology.* 145(3), 677-685.
- Loganayaki, N., Suganya, N., Manian, S., 2012. Evaluation of Edible Flowers of Agathi (*Sesbania grandiflora* L. Fabaceae) For *in vivo* Anti-Inflammatory and Analgesic, and *in vitro* Antioxidant Potential. *Food Science and Biotechnology.* 21.
- MacRae C.A., Peterson R.T., 2015. Zebrafish as tools for drug discovery. *Nat Rev Drug Discov.* 14(10), 721-731.
- Mathew, L.K., Simonich, M.T., Tanguay, R.L., 2009. AHR-Dependent Misregulation of Wnt Signaling Disrupts Tissue Regeneration. *Biochem. Pharmacol.* 77, 498–507.
- Mogi, B.C., Harjanti, R., Samsumaharto, R.A., 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Fraksi N-Heksana, Etil Asetat, dan Air dari Daun Turi (*Sesbania grandiflora Pers*) terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. *Biomedika.* 9(2).
- Meilinda, R., 2020. Pengembangan Metode Uji Regenerasi Penyembuhan Luka Melalui Pengamatan Sirip Kaudal Ikan Zebra (*Danio rerio*). Skripsi. Universitas Islam Indonesia.
- Mekonnen, A., T. Sidamo, K. Asres, and E. Engidawork, 2013. In vivo wound healing activity and phytochemical screening of the crude extract and various fractions of *Kalanchoe petitiiana* A. Rich (Crassulaceae) leaves in mice. *Journal of Ethnopharmacology.* 145(2), 638–646.
- Meyers, J.R., 2018. Zebrafish: Development of A Vertebrate Model Organism. *Curr. Protocols Essent. Lab. Techn.* 19.
- Nachtrab, G., Czerwinski, M., & Poss, K. D, 2011. Sexually dimorphic fin regeneration in zebrafish controlled by androgen/GSK3 signaling. *Current biology : CB.* 21(22), 1912–1917.
- Neethu S. Kumar, Dhanyaraj F.S., 2016. Phytochemical analysis and antimicrobial activities of *Sesbania grandiflora* (L) leaf extracts. *International Journal of Pharmaceutical Science.* 36(1), 144-148.
- Noviany Hasan, Hasnah osman, Suriyati Mohanad, et al., 2012. The Chemical Components of *Sesbania grandiflora* root and their antituberculosis activity. *Pharmaceuticals.* 5, 882-889.
- Panda, C., Mishra, S., Mahapatra, G., Panigrahi., 2013. Free Radical Scavenging Activity and Phenolic Content Estimation of *Glinus oppositifolius* and *Sesbania grandiflora*. *Int. J. Pharm.* 3(4), 722-727.

- Padmalochana, K., Rajan M.S.D., 2014, Antimicrobial Activity of Aqueous, Ethanol and Acetone Extracts of *Sesbania grandiflora* Leaves and it's Phytochemical Characterization. *International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR)*. 5(12), 957-962.
- Patil.R., Nanjwade.K., et al, 2010. Effect of *sesbania grandiflora* and *sesbania sesban* bark on Carragennan induce acute inflammation and adjuvant induced arthritis in rats. *IJPS*. Vol 1, 75-89.
- Petrie, T.A., Strand, N.S., Yang, C.T., Rabinowitz, J.S., Moon, R.T., 2014. Macrophages modulate adult zebrafish tail fin regeneration. *Development*. 141, 2581–2591.
- Pfefferli, C., Jaźwińska, A., 2015. The Art of Fin Regeneration in Zebrafish. *Regeneration* (Oxford, England). 2(2), 72–83.
- Ponnanikajamideen, M., Nagalingam, M., Vanaja, C., et al, 2015. Anticancer activity of different solvent extracts of *Sesbania grandiflora* against neuroblastoma (IMR-32) and Colon (HT-29) cell line. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Science*. 2(3), 509-517.
- Radhika, J., Ruth Christia, C., Jothi, G., 2014. Effect of the aqueous extract of *Sesbania grandiflora* Linn in alloxan induced diabetes in albino rats. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 3(9), 677-685.
- Rahmawati, I., 2014. Perbedaan Efek Perawatan Luka Menggunakan Gerusan Daun Petai Cina (*Leucaena glauca*, Benth) dan Povidon Iodine 10% dalam Mempercepat Penyembuhan Luka Bersih pada Marmut (*Cavia porcellus*). *Jurnal Wiyata*. 1(2).
- Rajagopal, P.L., Premaletha, K., Sreejith., K.R., 2016. Anthelmintic activity of the flower of *Sesbania grandiflora* Pers. *Journal of Innovations in Applied Pharmaceutical Sciences*. 1(2), 8-11.
- Reddy M., Gill S.S., Wu W., Kalkar S.R., Rochon P.A., 2012. Does this patient have an infection of a chronic wound? *JAMA*. 307, 605–611.
- RISKESDAS., 2013. Riset Kesehatan Dasar. Departemen Kesehatan. x.
- Rusita, Y.D., & Suhartono, 2016. Flavonoids content in extracts secang (*Caesalpinia Sappan* L.) maceration method infundation analysis and visible ultraviolet spectrophotometer. *International Journal of Medical Research and Health Sciences*. 5, 176-181.
- Sa'adah., H., Nurhasnawati., H., 2017. Perbandingan Pelarut Etanol Dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* Merr) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 1(02), 149-153.
- Sangeetha, A., Sriram Prasath, G., and Subramanian, S., 2015. Antihyperglycemic and antioxidant potential of *Sesbania grandiflora* leaves studied in STZ induced experimental diabetic rats. *International Journal of Pharmaceutical Science And Research*. 2266-2275.
- Sari, N., Listyorini, D., Gofur, A., 2016. Proses Regenerasi Sirip Ekor Pada Ikan Zebra. *Edubiotik : Jurnal Pendidikan, Biologi Dan Terapan*. 1(01), 25-29.

- Sasidharan, S., R. Nilawaty, R. Xavier, L. Y. Latha, and R. Amala, 2010. Wound healing potential of *Elaeis guineensis* Jacq leaves in an infected albino rat model. *Molecules*. 15(5), 3186–3199.
- Shailajan, S., S. Menon, S. Pednekar, and A. Singh, 2011. Wound healing efficacy of *Jatyadi Taila*: *In vivo* evaluation in rat using excision wound model. *Journal of Ethnopharmacology*. 138(1), 99–104.
- Sheikh, A.A., Sayyed, Z., Siddiqui, A.R., Pratapwar, A.S., Sheakh, S.S., 2011. Wound Healing Activity of *Sesbania grandiflora* Linn Flower Ethanolic Extract Using Excision and Incision Wound Model in Wistar Rats. *International Journal of PharmTech Research*. 3, 895-898.
- Simkin, J., Sammarco, M.C., Dawson, L.A., Schanes, P.P., Yu, L., Muneoka, K., 2015. The Mammalian Blastema: Regeneration at Our Fingertips. *Regeneration (Oxford, England)*. 2(3), 93–105.
- Simonetti, R., Marques, L., Streit Jr, D., Oberst, E., 2015. Zebrafish (*Danio rerio*): The Future of Animal Model in Biomedical Research. 9(3), 39-45.
- Sobarzo-Sánchez, E., Soto, P. G., Valdés Rivera, C., Sánchez, G., & Hidalgo, M. E., 2012. Applied biological and physicochemical activity of isoquinoline alkaloids: oxoisoaporphine and boldine. *Molecules (Basel, Switzerland)*. 17(9), 10958–10970.
- Stewart, S., Stankunas, K., 2012. Limited Dedifferentiation Provides Replacement Tissue During Zebrafish Fin Regeneration. *Dev. Biol.* 365, 339-349.
- Sun, L., Gu, L., Tan, H., Liu, P., Gao, G., Tian, L., Chen, H., Lu, T., Qian, H., Fu, Z., Pan, X., 2018. Effects of 17 α -ethinylestradiol on Caudal Fin Regeneration in Zebrafish Larvae. *Science of The Total Environment*. 653, 10-22.
- Thakur, R., Jain, N., Pathak, R., & Sandhu, S. S., 2011. Practices in wound healing studies of plants. *Evidence-based complementary and alternative medicine*.
- Tsegay, T., Zhen, Z., Chao, R., 2019. The Use of zebrafish (*Danio rerio*) as Biomedical Models, *Animal Frontiers*. 9(3), 68–77.
- Utami, N., 2016. Propolis dapat Meningkatkan Regenerasi Sirip Kaudal Zebrafish (*Danio rerio*) yang Diberi Induksi Kombinasi Alloxan dan Glukosa, Thesis Program Magister, Institut Teknologi Bandung, 44 – 45.
- Venkatanarayana, D., A.S. Kumar and S.M. Lakshmi, 2010. Review on natural wound healing agents. *Int. J. Phytopharm. Res.*1, 1-4.
- Venkateswarlu, G., Shantha, T.R., Shiddamallayya, N., Kishore, K.R., 2012. Traditional and Ayurvedic Medicinal Importance of *Agasthya* Leaves (*Sesbania grandiflora* (L) Pers.) W.R.T. it's Pharmacognostic and Physicochemical Evaluation. *Int J Res Ayurveda Pharm.* 3, 193–197.
- Velnar, T., Bailey, T., Smrkolj, V., 2009. The Wound Healing Process: An Overview of The Cellular and Molecular Mechanisms. *Journal of International Medical Research*. 37(5), 1528–1542.
- Vinothapooshan, G., Sundar, K., 2010. Wound Healing Effect of Various Extract of *Adhatoda vasica*. *Int. J. Pharma Bio Sci.* 1, 530-536.
- Wagh V.D., et al, 2009. Phytochemical, pharmacological and phytopharmaceutics aspects of *Sesbania grandiflora* (Hadga) : A review. *Journal of Pharmacy Research*. 2(5), 889-892.

- Wibowo, Nugroho., 2017. Pengaruh Olesan Minyak Cengkeh (*Syzygium Aromaticum* L) Terhadap Proses Penyembuhan Luka Insisi Pada Hewan Coba Mencit (*Mus Musculus*) Strain Balb/C. *Jurnal Keperawatan Muhammadiyah*. 2(1).
- Wijaya, Heri., Novitasari., Jubaidah, Siti., 2018. Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambai Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 4(1), 79-83.
- Yan, H., Jahanshahi, M., Horvath, E.A., Liu, H.Y., Pflieger, C.M., 2010. Rabex-5 Ubiquitin Ligase Activity Restricts Ras Signaling to Establish Pathway Homeostasis in *Drosophila*. *Curr. Biol*. 20(15), 1378—1382.
- Zeng, Q., Xie, H., Song, H., Nie, F., Wang, J., Chen, D., & Wang, F, 2016. In Vivo Wound Healing Activity of *Abrus cantoniensis* Extract. *Evidence-based complementary and alternative medicine*.



LAMPIRAN

Lampiran 1 *Ethical Clearance*



FAKULTAS
KEDOKTERAN

Gedung Dr. Soekman Wirjosandjojo
Kampus Terpadu Universitas Islam Indonesia
Jl. Kalurang km 14,5 Yogyakarta 55584
T. (0274) 898444 ext. 2096, 2097
F. (0274) 898459 ext. 2007
E. fk@uii.ac.id
W. fk.uii.ac.id

Nomor : 4/ Ka.Kom .Et/70/KE/VII/2020

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK ETHICAL APPROVAL

Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran dan kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Islamic University of Indonesia, with regards of the protection of human rights and welfare in medical and health research, has carefully reviewed the research protocol entitled :

"Uji Aktivitas Ekstrak Air Daun Turi (*Sesbania grandiflora* (L.)) terhadap Regenerasi Sirip Kaudal Ikan Zebra (*Danio rerio*)"

Peneliti Utama : Fety Resanty
Principal Investigator

Nama Institusi : Program Studi Farmasi FMIPA UII
Name of the Institution

dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
and approved the above-mentioned protocol.

Yogyakarta, 6 Juli 2020
Ketua
Chairman
Dr. Rahma Yuantari, M.Sc, Sp.PK

***Ethical Approval** berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan

****Peneliti berkewajiban**

1. Menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian
2. Memberitahukan status penelitian apabila :
 - a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini *ethical clearance* harus diperpanjang
 - b. Penelitian berhenti di tengah jalan
3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (*serious adverse events*)
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subyek sebelum penelitian lolos kaji etik dan *informed consent*

Lampiran 2 Hasil Identifikasi Ikan Zebra



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(*INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES*)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(*RESEARCH CENTER FOR BIOLOGY*)

Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta - Bogor KM. 46 Cibinong 16911
Telp. (+62 21) 87907636 - 87907604, Fax. 87907612
Website : www.biologi.lipi.go.id



Cibinong, 09 November 2017

Nomor : B-3853/IPH.1./KS.02.03/XI/2017
Lamp. :
Hal : Hasil identifikasi fauna

Kepada Yth.
Dr. Farida Hayati, M.Si, Apt
Universitas Islam Indonesia
Fakultas MIPA
Kampus UII Terpadu Jl. Kaliurangn
Yogyakarta 55584 Kotak Pos 75

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil verifikasi fauna yang telah dilaksanakan oleh Sdr. Gema Wahyu Dewantoro, M.Si. staf peneliti Laboratorium Ichtiologi Bidang Zoologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI, dengan hasil terlampir.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

An. Kepala Pusat Penelitian Biologi - LIPI
Kepala Bidang Zoologi,

Dr. Hari Sutrisno
NIP. 196606051994031009

HASIL IDENTIFIKASI IKAN

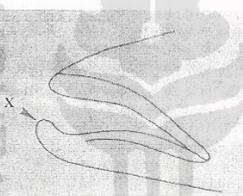
Nama ilmiah : *Danio rerio* (Hamilton, 1822)
 Lokasi : -
 Jumlah : 5 ekor

Klasifikasi berdasar Nelson (2006):

Ordo : Cypriniformes
 Familia : Cyprinidae
 Genus : *Danio*
 Species : *Danio rerio*
 Distribusi : Pakistan, India, Bangladesh, Nepal, Myanmar, Bhutan

Deskripsi:

- Tubuh ikan relatif ramping memanjang dengan panjang standar 23,5 – 25,7 mm.
- Mata besar, mulut menghadap ke atas dan terdapat tonjolan kecil di ujung rahang bawah (Gambar 1).



(Gambar 1. X menunjukkan tonjolan kecil)

- Mempunyai 2 pasang sungut, dimana sungut rahang atas mencapai operkulum (tutup insang).
- Pada sisi tubuhnya terdapat 5 buah garis horisontal yang mengarah ke sirip ekor.
- Sirip analnya bercorak garis-garis.
- Jumlah jari-jari sirip punggung 8 buah jari-jari.
- Jumlah jari-jari sirip anal yaitu 13-14 buah jari-jari lemah bercabang.
- Sisik sebelum sirip punggung 13-14 buah sisik.
- Sisik pada linea lateralis 32-34 buah sisik.



Sumber :

Fishbase. 2017. *Danio rerio*. <http://fishbase.org>. Diakses tanggal 1 November 2017.

Nelson, J.S. 2006. *Fishes of The World*. John Wiley and Sons, Inc. 601p.

Lampiran 3 Proses Ekstraksi Daun Turi



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)

Keterangan: (a) sortasi kering; (b) sortasi basah; (c) pengeringan menggunakan cabinet dryer; (d) serbuk daun turi; (e) proses infundasi; (f) ekstrak setelah di infundasi.

Lampiran 4 Hasil Pengukuran Regenerasi Sirip Kaudal Ikan Zebra Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan

Kontrol	Sebelum Amputasi (cm²)	Sesudah Amputasi (cm²)	setelah 14 hari amputasi (cm²)	Daerah yang hilang (cm²)	Daerah regenerasi (cm²)	% regenerasi
1	0,307	0,153	0,221	0,154	0,067	43,506
2	0,378	0,168	0,243	0,210	0,033	15,714
3	0,284	0,130	0,188	0,154	0,034	22,078
4	0,304	0,165	0,200	0,139	0,061	43,885
5	0,352	0,150	0,253	0,202	0,051	25,248
6	0,448	0,172	0,299	0,276	0,023	8,333
7	0,281	0,146	0,172	0,135	0,037	27,407
Rata-rata						26,596
SD						13,289

Dosis ekstrak air daun turi	Sebelum Amputasi (cm²)	Sesudah amputasi (cm²)	Setelah 14 hari amputasi (cm²)	Daerah yang hilang (cm²)	Daerah regenerasi (cm²)	% regenerasi
40 mg	0,298	0,127	0,209	0,171	0,038	22,222
80 mg	0,252	0,123	0,241	0,129	0,112	86,822

Lampiran 5 Kelompok Kontrol Negatif