DETAIL DOCUMENT
Research

Detail Research

Verified by at 0000-00-00 00:00:00

NIDN Leader
0517048302

Leader Name
RINI DWIASTUTI

PDDIKTI Code PT (Leader)
051012

Institution (Leader)
Universitas Sanata Dharma

Title
Pengembangan formulasi nanopartikel lipid dengan bahan aktif ekstrak tempe terstandar genistein sebagai sediaan penyembuhan luka pada kondisi Diabetes Mellitus.

Skema Abbreviation
PPS-PTM

Skema Name
Penelitian Tesis Magister

The First year of the proposal
Tahun Pertama Usulan
2018

Proposed Year of Activities
Tahun Usulan Kegiatan
2018

The Year of The Activity
Tahun Pelaksanaan Kegiatan
2019

Duration of activity
Lama Kegiatan
1 Year

Proposal Status
didanai

Funds are approved
Rp. 59.890.000,-

SINTA Afiliasi ID
422

Funds Institution
Universitas Sanata Dharma ✔ in sync with Sinta Affiliation

Target TKT
TKT 3

Hibah Program
Penelitian Kompetitif Nasional

Focus Area
Kesehatan

Fund Source Category
Pemerintah

Fund Source

Country Fund Source
ID

Research Member

RINI DWIASTUTI
*Registered in Sinta using **RINI DWIASTUTI** (Sinta ID : 6016606)*
Status : Leader (Leader) | Universitas Sanata Dharma

SRI HARTATI YULIANI
*Registered in Sinta using **SRI HARTATI YULIANI** (Sinta ID : 5977336)*
Status : Member (Member 1) | Universitas Sanata Dharma

UNIVERSITAS
SANATA DHARMA
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

SURAT TUGAS PENELITIAN

No. 035b/ LPPM USD /IV/2019

Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Sanata Dharma Yogyakarta dengan ini memberikan tugas kepada:

Nama	: Dr. Rini Dwiastuti, Apt.
Pekerjaan	: Dosen
NIP/NIDN	: P.2246/ 0517048302
Jabatan Fungsional	: Lektor
Program Studi	: S2 Farmasi
Fakultas	: Farmasi
Status	: Ketua Peneliti

Untuk melaksanakan penelitian Kompetitif yang didanai oleh Kementrian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan dengan:

Judul Penelitian	: Pengembangan formulasi nanopartikel lipid dengan bahan aktif ekstrak tempe terstandar genistein sebagai sediaan penyembuhan luka pada kondisi Diabetes Mellitus.
Skim Penelitian	: Penelitian Tesis Magister Kompetitif Nasional
Waktu Penelitian	: April – November 2019

Penerima tugas penelitian wajib mematuhi ketentuan-ketentuan penelitian sebagaimana diatur oleh Kementrian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan.

Demikian surat tugas penelitian ini dibuat, mohon dilaksanakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 1 April 2019
Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat USD

Dr. ter. nat. Herry Pribawanto Suryawan
Ketua

Tembusan:

1. Yth. Rektor
2. Yth. Wakil Rektor I
3. Yth. Dekan/Direktur Pasca Sarjana
4. Yth. Ketua Program Studi
5. Arsip

UNIVERSITAS
SANATA DHARMA
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

SURAT TUGAS PENELITIAN

No. 035b/ LPPM USD /IV/2019

Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Sanata Dharma Yogyakarta dengan ini memberikan tugas kepada:

Nama	: Dr. Sri Hartati Yuliani, Apt.
Pekerjaan	: Dosen
NIP/NIDN	: P.1828/ 0520077201
Jabatan Fungsional	: Lektor Kepala
Program Studi	: S2 Farmasi
Fakultas	: Farmasi
Status	: Anggota Peneliti

Untuk melaksanakan penelitian Kompetitif yang didanai oleh Kementrian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan dengan:

Judul Penelitian	: Pengembangan formulasi nanopartikel lipid dengan bahan aktif ekstrak tempe terstandar genistein sebagai sediaan penyembuhan luka pada kondisi Diabetes Mellitus.
Skim Penelitian	: Penelitian Tesis Magister Kompetitif Nasional
Waktu Penelitian	: April – November 2019

Penerima tugas penelitian wajib mematuhi ketentuan-ketentuan penelitian sebagaimana diatur oleh Kementrian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan.

Demikian surat tugas penelitian ini dibuat, mohon dilaksanakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 1 April 2019
Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat USD

Dr. rer. nat. Herry Pribawanto Suryawan
Ketua

Tembusan:

1. Yth. Rektor
2. Yth. Wakil Rektor I
3. Yth. Dekan/Direktur Pasca Sarjana
4. Yth. Ketua Program Studi
5. Arsip

Alamat: Jl. Affandi, Mrican, Tromol Pos 29, Yogyakarta 55002 Telp. (0274) 513301 Ext. 1527, Fax (0274) 562383 website: http:/www.usd.ac.id/lembaga/lppm Email : lemlit@usd.ac.id
Acc. No, CIMB NIAGA LEMBAGA PENELITIAN UNIV. SANATA DHARMA 287.01.00277.00.5

Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan seringkas mungkin. Dilarang menghapus/memodifikasi template ataupun menghapus penjelasan di setiap poin.

C. **HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN:** Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian dapat berupa data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

1. Pembuatan ekstrak etanol tempe terstandarisasi genistein dan penetapan kadar genistein dalam ekstrak tempe.

Pembuatan ekstrak tempe terstandar genistein dilakukan menggunakan bahan dasar tempe dengan merk ”MUCHLAR”. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi melalui beberapa tahapan mulai dari perajangan bahan baku hingga diperoleh ekstrak kental tempe terstandar genistein. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan shaker selama 270 menit dengan kecepatan 150 rpm. Hasil akhir proses ekstraksi menggunakan maserasi adalah hasil berupa padatan dan larutan berwarna kuning. Larutan kuning diambil dan dimasukkan ke dalam labu alas bulat untuk diuapkan dengan alat rotary evaporator untuk mendapatkan ekstrak kental tempe.

Ekstrak kental tempe terstandar genistein (gambar 2a) yang diperoleh dari hasil pemekatan ekstrak cair (gambar 2b) ekstraksi adalah berupa cairan berwarna kuning. Ekstrak ini selanjutnya digunakan sebagai bahan aktif pembuatan gel nanopartikel lipid.

Gambar 1a

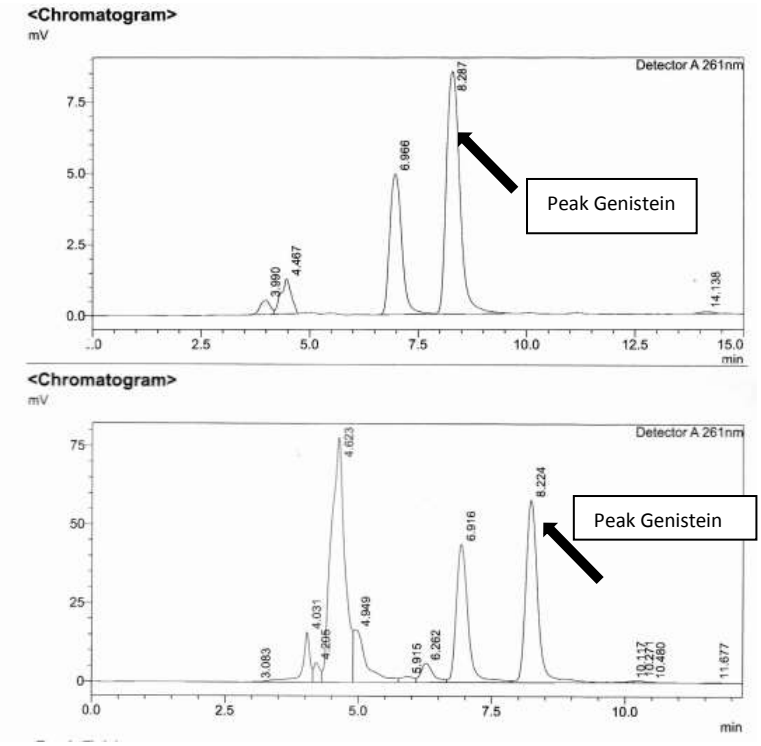
Gambar 1b

Gambar 1(a) Ekstrak kental tempe terstandar genistein hasil ekstraksi; gambar (b) Ekstrak cair tempe sebelum proses pemekatan

Ekstrak tempe yang didapatkan dari proses ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi ini selanjutnya ditetapkan kadar genistein yang terkandung di dalamnya dengan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (fase diam: Oktadesilsilan C18, fase gerak metanil: air (70:30) dengan hasil penetapan kadar genistein seperti pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil penetapan kadar genistein dalam ekstrak tempe menggunakan KCKT

REPLIKASI	Ret. Time	AUC	KONSENTRASI (µg/mL) ppm	Bobot Genistein (mg)	Konsentrasi dalam Ekstrak (%b/b)	Konsentrasi dalam tempe kering (%b/b)
1	8,041	914985	8,624	1,725	0,034	0,00056
2	8,030	1476960	13,285	2,657	0,053	0,00086
3	8,021	948050	8,898	1,780	0,036	0,00058
4	8,022	926841	8,722	1,744	0,035	0,00057
5	8,021	399879	4,351	0,870	0,017	0,00028
6	8,027	976850	9,137	1,827	0,037	0,00059
Rata2			8,836	1,767	0,035	0,00057
SD			2,83042	0,56608	0,01132	0,00018
%RSD			32,03259	32,03259	32,04565	32,03259



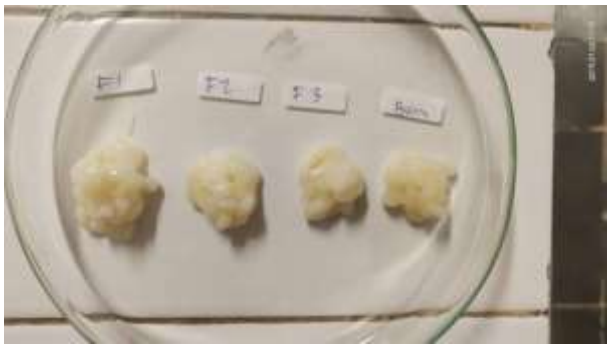
Gambar 2. Hasil kromatogram baku standard genistein (atas) vs ekstrak genistein (bawah)

Hasil kromatogram baku standart genistein dengan kadar 1 ppm dibandingkan dengan ekstrak etanol tempe ditunjukkan pada gambar 1. Hasil kromatogram menunjukkan bahwa dalam ekstrak tempe yang digunakan dalam formulasi mengandung genistein di dalamnya. Hal ini dapat dilihat

pada kemunculan peak pada waktu yang sama antara baku standart dengan ekstrak tempe yang diinjeksikan.

Formulasi sediaan gel ekstrak etanol tempe terstandarisasi genistein

Sediaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sediaan hidrogel. Pemilihan sediaan hidrogel didasarkan pada pertimbangan bahwa sediaan hidrogel mampu menjaga kelembaban dan dapat diformulasikan untuk menghantarkan bahan obat sehingga sesuai dengan tujuan penggunaan yaitu sebagai sediaan penyembuh luka. Sediaan hidrogel dibuat dengan metode sterilisasi basah dengan menggunakan pemanasan autoklaf pada 115 ˚C selama 30 menit. Tujuan dari sterilisasi ini adalah untuk menjamin bahwa sediaan yang akan diaplikasikan pada luka adalah sediaan steril untuk mencegah terjadinya infeksi pada luka setelah aplikasi yang disebabkan karena sediaan yang terkontaminasi dengan bakteri. Sediaan hidrogel dibuat dengan menggunakan ekstrak tempe terstandar genistein. Formula hidrogel dibuat dalam 4 formula yang mengandung ekstrak tempe terstandar genistein. Formula F1 adalah hidrogel dengan konsentrasi ekstrak tempe terstandar genistein 2,5%; F2 adalah hidrogel dengan konsentrasi ekstrak tempe terstandar genistein 5%; F3 adalah hidrogel dengan konsentrasi ekstrak tempe terstandar genistein 7,5% dan formula F4 adalah basis tanpa ekstrak tempe terstandar genistein.



Gambar 3. Hidrogel dengan berbagai konsentrasi ekstrak tempe terstandar genistein

Formulasi sediaan gel dengan nanopartikel lipid ekstrak etanol tempe terstandarisasi genistein.

Formulasi sediaan gel dengan nanopartike lipid ekstrak tempe terstandarisasi genistein dilakukan untuk melihat perbedaan respon penyembuhan luka dibandingkan dengan gel ekstrak tempe terstandarisasi genistein. Dengan adanya pendekatan teknologi nanopartikel apakah dapat dihasilkan respon penyembuhan luka yang lebih cepat sehingga diharapkan dapat lebih efektif dalam menyembuhkan luka diabetik. Hasil pengukuran partikel nanopartikel lipid dengan ekstrak tempe terstandarisasi genistein ditampilkan pada tabel 2 dan hasil pengujian sifat fisis gel nanopartikel lipid ekstrak tempe terstandarisasi genistein dapat dilihat pada table 3.

Tabel 2. Hasil pengukuran partikel nanopartikel lipid dengan ekstrak tempe terstandarisasi genistein

Replikasi	Nanopartikel Lipid Ekstrak Tempe (nm)	Nilai PI
Replikasi 1	129	0,187
Replikasi 2	124	0,174
Replikasi 3	124,2	0,189
Rata-rata	130,03 ± 6,41	

Tabel 3. Hasil pengujian sifat fisis gel nanopartikel lipid ekstrak tempe terstandarisasi genistein

Data Viskositas dan pH Gel Nanopartikel (Pa.s)					
Replikasi	Uji Viskositas Tiap Formula				Uji pH
	1	2	3	Tanpa Ekstrak	
1	8,46535	8,3528	6,8794	7,46455	6,7
2	8,20231	8,25637	6,66546	7,29964	6,7
3	8,00893	8,08297	6,56929	7,13287	6,7

Hasil pengujian pengamatan kecepatan penyembuhan luka pada hewan uji dengan pemberian gel ekstrak etanol tempe terstandarisasi genistein.

Penyiapan hewan uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus galur WISTAR dengan bobot hewan uji kisaran 170 – 190 gram.

Tabel 4. Hasil pengukuran berat badan tikus yang digunakan sebagai hewan uji

Kelompok hewan uji	Pengukuran Berat Badan (gram)			
	Hari ke 0	Hari ke 3	Hari ke 7	Hari ke 14
DM1	180,60±6,62	178,00±6,63	175,60±7,16	173,60±7,09
DM2	181,60±5,36	178,60±5,13	176,00±4,42	172,75±4,57
DM3	185,40±5,08	183,20±5.22	180,20±5,45	177,40±6,11
DM4	184,00±4,95	181,20±5,89	181,80±5,31	178,80±5,40
DM5	181,80±1,79	178,25±2,22	178,25±2,06	176,00±2,00

Keterangan : tiap kelompok hewan uji digunakan 5 hewan uji sebagai replikasi

Pengukuran berat badan dilakukan dalam beberapa rentang waktu yaitu hari ke-0, hari ke-3, hari ke-7 dan hari ke-14. Hal ini dimaksudkan untuk melakukan monitoring bobot hewan uji yang akan digunakan untuk perlakuan tetap berada pada rentang yang telah ditentukan. Hasil pengukuran berat badan ditampilkan pada tabel 4 di bawah ini.

Kadar glukosa darah hewan coba

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus wistar jantan berumur 8 minggu dengan bobot antara 170-200g. Pertimbangan pemilihan bobot hewan uji didasarkan pada kondisi hewan uji sudah mencapai usia optimal untuk digunakan sebagai hewan coba. Kondisi diabetes secara umum mempengaruhi penurunan berat badan secara berkala. Hal ini disebabkan adanya gangguan metabolisme lipid dan glukosa di dalam tubuh. Kondisi diabetes menurunkan penyimpanan trigliserida di dalam tubuh. Sehingga sumber energi yang diperoleh hanya dari asupan pangan saja.

Glukosa yang ada di dalam darah tidak bisa digunakan sebagai sumber energi bagi otot. Sehingga masa otot akan mengecil dan menjadi salah satu penurunan berat badan.

Kondisi diabetes untuk hewan uji tikus adalah kondisi dimana tikus mempunyai kadar glukosa darah diatas 200mg/dl. Dalam penelitian ini dilakukan pengukuran kadar serum darah tikus untuk mengukur kadar glukosa darah pada hari ke 0, 3, 7 dan 14. Dari hasil uji diperoleh kadar gula darah hewan uji pada pengukuran hari ke 0, 3, 7, 14 adalah >200mg/dl. Hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa hewan uji mengalami kondisi diabetes selama masa pengujian penyembuhan luka untuk menggambarkan proses penyembuhan luka pada kondisi diabetes.

Tingginya kadar glukosa pada penderita diabetes akan memberikan pengaruh terhadap proses penyembuhan luka. Menurunnya migrasi neutrofil dan makrofag, sehingga menimbulkan meningkatnya potensi infeksi dan perpanjangan kondisi inflamasi. Ekspresi TNF-α (Tumor Necrosis Factor- Alpha) akan meningkat selama terjadinya ulkus. Tingginya TNF-α akan mengakibatkan terjadinya peningkatan apoptosis dan menurunkan proliferasi fibroblas (Rosyid 2016). Dengan menurunya jumlah fibroblas, maka sintesis kolagen pada area luka juga akan mengalami penurunan. Tingginya ekspresi MMP (Matrix Metalloproteinase) pada kondisi diabetes akan memperburuk proses penyembuhan luka. MMP akan menyebabkan degradasi beberapa ECM (extracellular matrix), termasuk salah satunya adalah kolagen.

Respon penutupan luka, sintesis kolagen, epitelisasi dan kapilarisasi jaringan

Tahapan proses penyembuhan luka dikelompokan menjadi empat tahapan yaitu, hemostasis, inflamasi, proliferasi dan remodeling (Velnar et al. 2009). Tahap hemostasis terjadi pada tahap awal setelah terjadinya luka. Terjadinya inflamasi pada daerah luka ditandai dengan meningkatnya aktivitas neutrofil dan makrofag pada are luka. Pembentukan pembuluh darah baru dan fibroblas terjadi pada tahap proliferasi. Selain itu mulai terbentuk jaringan epitel dari bagian tepi luka. Pada tahap remodeling, kolagen yang disintesis oleh fibroblas akan berikatan dan menjadi semakin padat. Pada tahap ini, jaringan epitel yang terbentuk semakin menebal dan menutup daerah permukaan luka (Baltzis et al. 2014).

Kecepatan penutupan luka ditunjukan dengan menutupnya permukaan luka yang diakibatkan oleh adanya proses pembentukan sel epitel pada permukaan luka. Dari hasil percobaan (tabel 5) pada kelompok gel basis, terdapat subyek uji yang tidak mengalami proses penyembuhan luka. Kondisi ini diperlihatkan dengan tidak menurunya ukuran diameter luka. Kecepatan penutupan luka dengan rata-rata tertingi dihasilkan pada kelompok gel ekstrak 7,5%.

Tabel 5. Hasil penutupan luka, sintesis kolagen, epitelisasi dan kapilarisasi

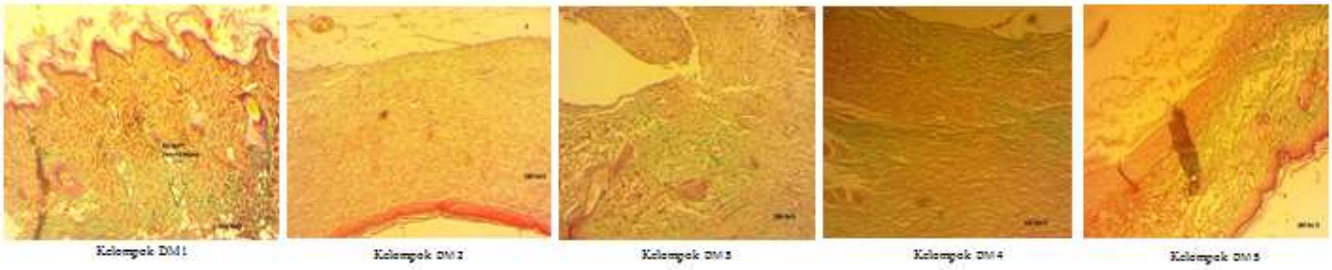
Kelompok Perlakuan	Penutupan Luka (%)	Skor Kolagen	Skor Epiteliasi	Skor Kapilarisasi
DM1	16,23±4,07	1,11±0,33	6,00±2,64	8,33±4,61
DM2	48,99 ± 7,72	1,22±0,44	6,66±0,57	9,66±3,21
DM3	91,89±14,05 *	3,00±0,50*	7,33±2,31*	8,66±3,05
DM4	94,68 ±9,21*	3,67±0,50*	7,33±1,53*	7,66±3,21
DM5	33,82 ±10.30	1,67±1,00	5,00±1,73	5,66±2,51

Keterangan: *, perbedaan bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok Tanpa Perlakuan

Pengamatan ekspresi kolagen

Hasil pengamatan ekspresi kolagen dilakukan dengan pengamatan kualitatif dan kuantitatif. Pengamatan kualitatif dilakukan dengan menggunakan pengamatan histopatologi jaringan dan pengamatan kuantitatif dilakukan dengan menghitung prosentase kerapatan kolagen yang terbentuk pada jaringan. Pengamatan histopatologi jaringan sampel dilakukan untuk melakukan pengamatan terhadap proses penyembuhan luka dari proses pembentukan jaringan epitel, pembentukan pembuluh darah dan kolagen. Pada pengamatan ini dilanjutkan dengan penilaian scoring terhadap pembentukan sel epitel, pembuluh darah dan kolagen.

Penutupan luka dapat terjadi ketika sel epitel, yang terbentuk akibat adanya diferensiasi keratinosit, bermigrasi di atas matriks provisional. menuju ke tengah luka. Sel epitel akan bertemu pada area tengah luka, sehingga migrasi sel akan terhenti. Setelah itu pembentukan membrane basialis akan dimulai. Ketebalan jaringan epitel dilakuan dengan melakukan pengukuran gambar dengan menggunakan bantuan Image Raster.



Gambar 4. Hasil pengamatan histopatologi pembentukan kolagen pada jaringan

Pengamatan kuantitatif dengan menghitung prosentase kerapatan kolagen yang terbentuk pada jaringan ditampilan pada tabel 6 berikut:

Tabel 6. Hasil perhitungan prosentase pembentukan kolagen pada jaringan

DM1	Prosentase Kerapatan	0.097	0.23	0.32	0.09	0.03	0.02	0.08	0.10	0.08
	score	1	1	2	1	1	1	1	1	1
	Rata-rata score	1.11±0.33								
DM2	Prosentase Kerapatan	0.40	0.20	0.16	0.36	0.23	0.12	0	0	0
	score	2	1	1	2	1	1	1	1	1
	Rata-rata score	1.22±0.44								
DM3	Prosentase Kerapatan	0.76	0.70	0.55	0.46	0.51	0.53	0.63	0.64	0.65

	score	4	3	3	2	3	3	3	3	3
	Rata-rata score	3.00±0.50								
DM4	Prosentase Kerapatan	0.69	0.82	0.68	0.85	0.89	0.85	0.58	0.82	0.75
	score	3	4	3	4	4	4	3	4	4
	Rata-rata score	3.67±0.50								
DM5	Prosentase Kerapatan	0.11	0.18	0.23	0.54	0.65	0.70	0	0	0
	score	1	1	1	3	3	3	1	1	1
	Rata-rata score	1.67±1.00								

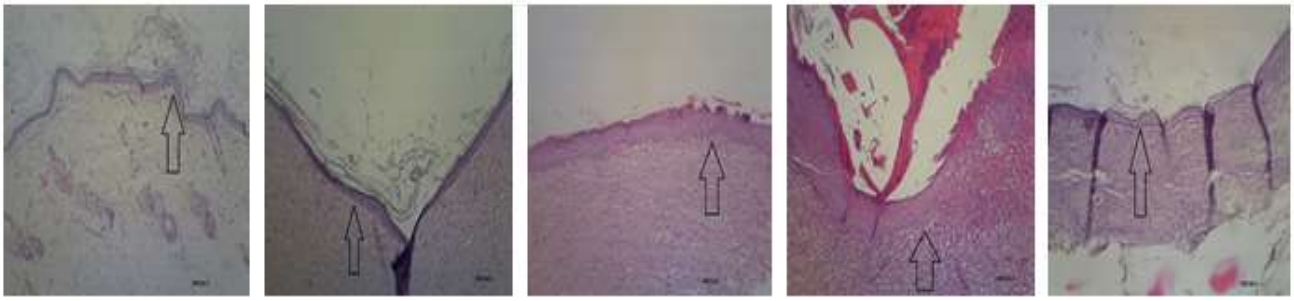
Pengamatan Respon Penutupan luka

Tabel 7. Hasil penutupan luka, sintesis kolagen, epitelisasi dan kapilarisasi

Kelompok Perlakuan	Penutupan Luka (%)	Skor Kolagen	Skor Epiteliasi	Skor Kapilarisai
DM1	16,23±4,07	1,11±0,33	6,00±2,64	8,33±4,61
DM2	48,99 ± 7,72	1,22±0,44	6,66±0,57	9,66±3,21
DM3	91,89±14,05 *	3,00±0,50*	7,33±2,31*	8,66±3,05
DM4	94,68 ±9,21*	3,67±0,50*	7,33±1,53*	7,66±3,21
DM5	33,82 ±10.30	1,67±1,00	5,00±1,73	5,66±2,51

Keterangan: *, perbedaan bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok Tanpa Perlakuan

Pengamatan epithelisasi dan kapilarisasi



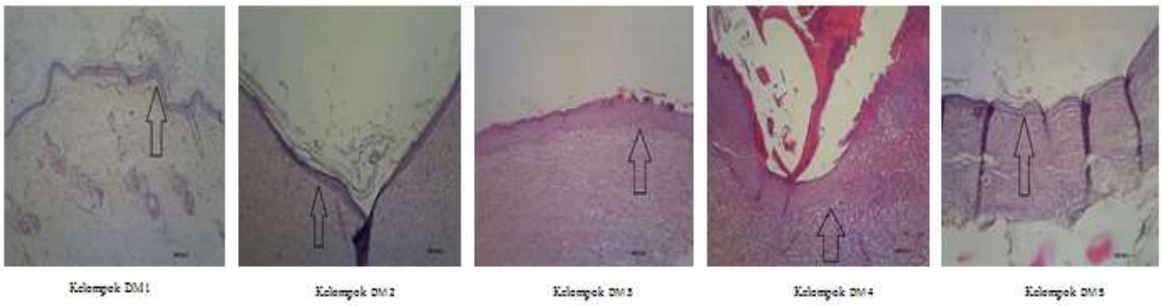
Kelompok DM1 Kelompok DM2 Kelompok DM3 Kelompok DM4 Kelompok DM5

Gambar 5. Hasil pengamatan histopatologi epitalisasi dan kapilarisasi jaringan

Epithelisasi memiliki peran dalam proses penutupan permukaan luka pada kulit. Pengamatan epithelisasi (gambar 5) dilakukan dengan melihat pembentukan lapisan epithel kulit pada area luka.

Pengamatan histopatologi jaringan sampel dilakukan untuk melakukan pengamatan terhadap proses penyembuhan luka dari proses pembentukan jaringan epitel, pembentukan pembuluh darah dan kolagen. Pada pengamatan ini dilanjutkan dengan penilaian scoring terhadap pembentukan sel epitel, pembuluh darah dan kolagen.

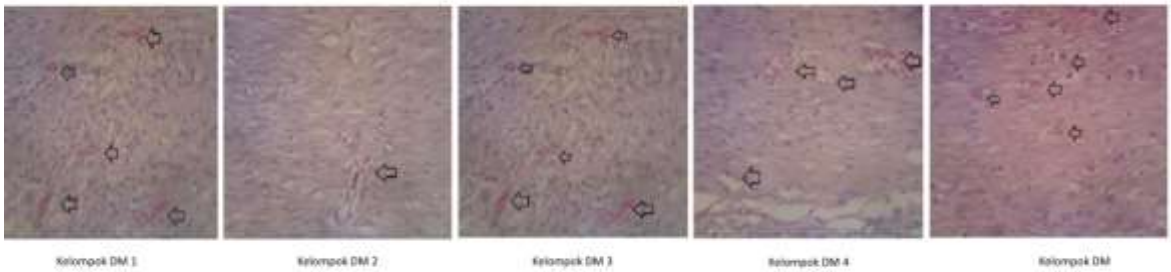
Penutupan luka dapat terjadi ketika sel epitel, yang terbentuk akibat adanya diferensiasi keratinosit, bermigrasi di atas matriks provisional. menuju ke tengah luka. Sel epitel akan bertemu pada area tengah luka, sehingga migrasi sel akan terhenti. Setelah itu pembentukan membrane basialis akan dimulai. Ketebalan jaringan epitel dilakuan dengan melakukan pengukuran gambar dengan menggunakan bantuan Image Raster. Tampilan jaringan epitel dapat ditunjukan dengan anak panah pada gambar 6.



Gambar 6. Gambaran mikroskopik epitelisasi pada setiap kelompok.

Hasil analisa statistik dengan menggunakan ($p < 0,05$) menunjukan adanya perbedaan bermakna derajad epitelisasi dari pemberian formula 5% dan 7,5% terhadap kelompok tanpa perlakuan. Sedangkan pada kelompok uji pemberian basis dan formula 2,5% tidak memiliki perbedaan yang bermakna terhadap kelompok tanpa perlakuan.

Pembentukan pembuluh darah baru memiliki peran yang besar dalam proses penyembuhan luka. Adanya pembuluh darah pada area luka akan meningkatkan proses penyembuhan luka. Pembuluh darah memberikan kontribusi terhadap suplai darah, oksigen dan nutrisi ke area luka. Pembuluh darah akan terlihat dengan adanya sel darah merah pada pengamatan preparat histologi seperti pada gambar 7. Dari hasil penelitian didapatkan hasil, tidak ada perbedaan bermakna pembentukan pembuluh darah dari setiap kelompok uji.

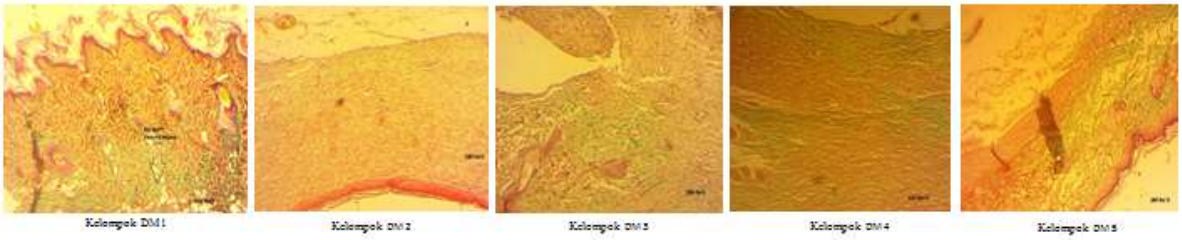


Gambar 7. Gambaran mikroskopik kapilarisasi setiap kelompok.

Kolagen adalah salah satu protein yang menyusun kulit. Serat kolagen memiliki ketahanan yang kuat terhadap tekanan. Semakin banyak kolagen yang terdapat pada jaringan menunjukan semakin kuat jaringan tersebut terhadap tekanan. Pengamatan kolagen dilakukan dengan pewarnaan menggunakan Masson Thrichrome Goldner. Hasil pewarnaan kolagen memberikan visualisasi warna hijau pada preprat histologi seperti pada gambar 4. Semakin banyak warna hijau yang dimunculkan menunjukan semakin banyak jumlah kolagen yang terdapat jaringan uji.

Dari hasil analisis kolagen didapatkan hasil, adanya perbedaan bermakna ekepresi kolagen pada kelompok uji. Kelompok uji formula 5% dan formula 7,5% memiliki perbedaan yang bermakna terhadap ekspresi kolagen kelompok tanpa perlakuan. Kelompok uji pemberian basis dan formula 2,5% tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna terhadap kelompok tanpa perlakuan.

Kandungan genistein yang terdapat dalam ekstrak tempe memiliki pengaruh terhadap sintesis kolagen. Dari penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya, genistein memiliki efek terhadap sintesis kolagen dengan berikatan dengan estrogen reseptor dan menghambat tyrosin kinase (Irrera et al. 2017).



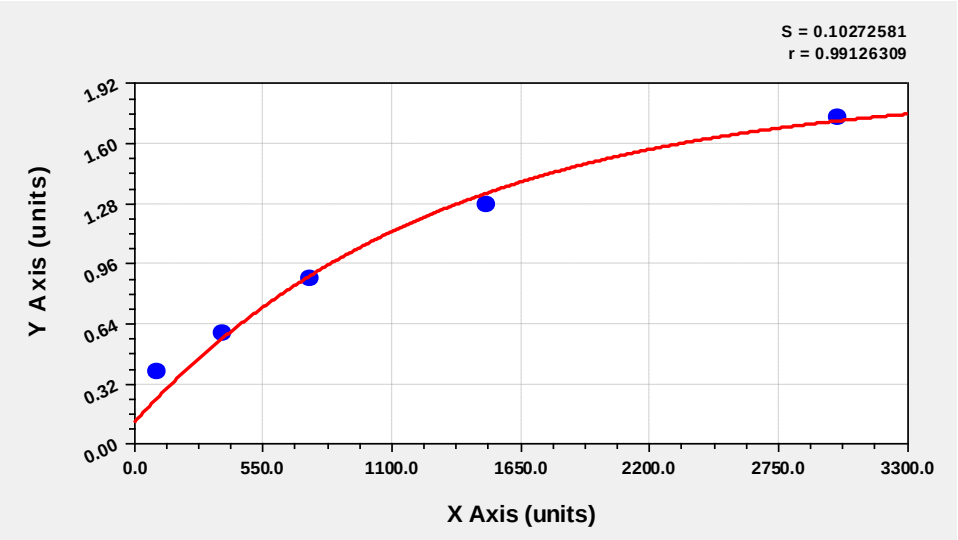
Gambar 8. Gambaran mikroskopik kolagen pada setiap kelompok

Pada kondisi diabetes, kolagen yang terbentuk akan terdegradasi akibat tingginya MMP pada jaringan. Berkurangnya jumlah kolagen akan membuat jaringan menjadi lebih rapuh, sehingga luka yang sudah tertutup lebih mudah terbuka kembali. Dengan tingginya jumlah kolagen pada area luka, diharapkan meningkatkan ketahan jaringan terhadap tekanan pada kulit.

Pengujian kadar TNF Alpha dengan menggunakan ELISA pada sampel serum darah tikus memberikan hasil sebagai berikut

Hasil kurva baku standar TNF Alpha:

Kadar (pg/ml)	O.D
0	0.091
93.75	0.393
375	0.592
750	0.888
1500	1,279
3000	1,744



Exponential Association (3)

$$y = a(b - e^{-cx})$$

Coefficients:

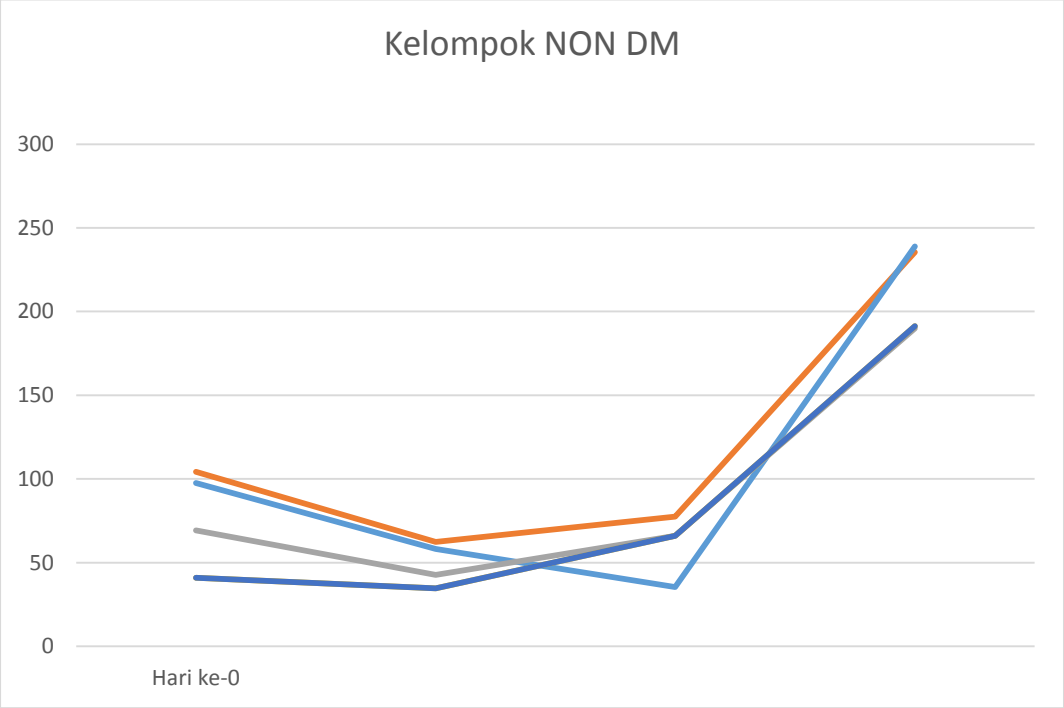
a = 1.77935490545E+000
b = 1.06616601519E+000
c = 7.66618262412E-004

Absorbansi Sampel Serum

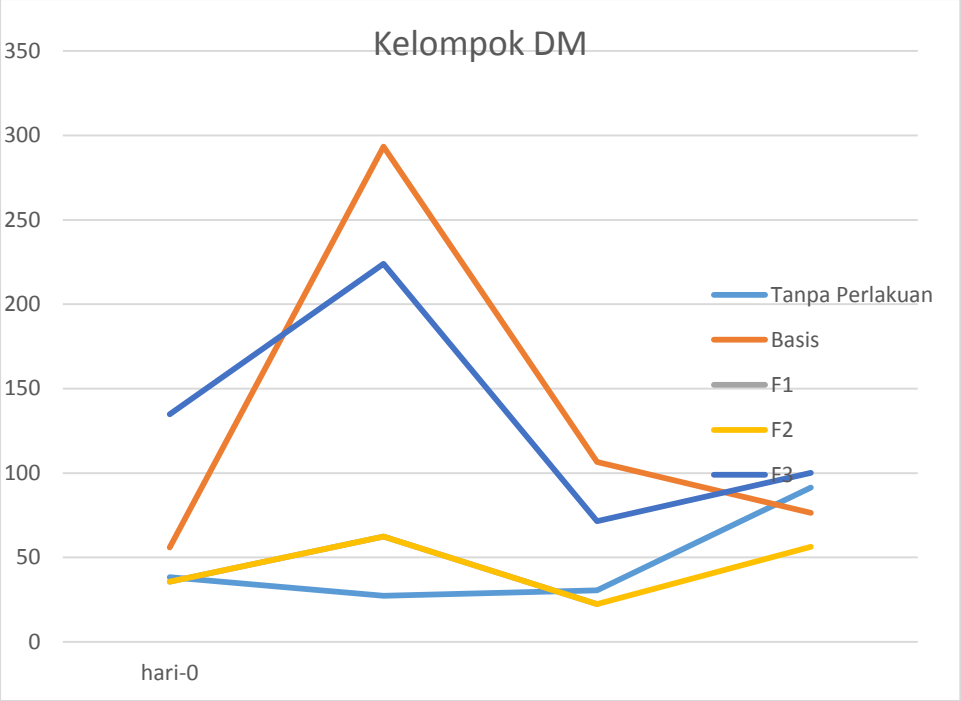
Kelompok		Sampel	Hari Ke 0 pg/ml	Hari Ke 1 pg/ml	Hari Ke 3 pg/ml	Hari Ke 5 pg/ml
Non DM	Tanpa Perlakuan	Tikus 1	63.286	132.015	52.557	215.764
		Tikus 2	210.584	11.24	14.206	443.929
		Tikus 3	18.656	31.359	39.646	57.144

		Rata-rata	97.508667	58.20467	35.469667	238.945667
	Basis (Tanpa Ekstrak)	Tikus 7	20.144	31.359	58.577	41.159
		Tikus 8	137.706	37.381	85.799	182.459
		Tikus 9	154.928	118.298	88.148	482.661
		Rata-rata	104.25933	62.346	77.508	235.426333
	Formula 1	Tikus 13	90.5019	11.98	89.716	170.708
		Tikus 14	14.201	37.381	42.672	210.584
		Tikus 15	103.135	78.766	65.597	188.375
			69.2793	42.709	65.995	189.889
	Formula 2	Tikus 17	52.557	98.383	33.614	73.328
		Tikus 18	23.871	32.111	48.746	65.597
		Tikus 19	764.673	991,456	201.142	1,226.125
			280.367	330528.8	94.500667	455.016667
	Formula 3	Tikus 21	74.1045	46.465	138.521	493.268
		Tikus 22	9.301	23.879	6.074	18.656
		Tikus 23	39.6462	33.614	53.324	61.748
		Rata-rata	41.017233	34.65267	65.973	191.224
DM	Tanpa Perlakuan	Tikus 27	20.144	15.687	74.104	209.723
		Tikus 28	72.5535	46.465	6.811	21.634
		Tikus 29	22.379	19.399	10.501	42.672
	Basis (Tanpa Ekstrak)	Rata-rata	38.358833	27.18367	30.472	91.343
		Tikus 33	68.684	126.349	77.212	15.687
		Tikus 34	43.432	657.235	182.459	112.691
		Tikus 35	55.613	96.802	60.217	100.757
		Rata-rata	55.909667	293.462	106.62933	76.3783333
	Formula 1	Tikus 37	86.579	56.3787	35.119	87.3627
		Tikus 38	115.892	35.119	85.013	61.748

		Tikus 39	79.313	78.768	60.217	66.368
		Rata-rata	93.928	56.75523	60.116333	71.8262333
	Formula 2	Tikus 41	51.794	65.597	6.074	114.29
		Tikus 42	31.359	14.201	0.997	13.46
		Tikus 43	23.871	107.108	60.212	41.158
		Rata-rata	35.674667	62.302	22.427667	56.3026667
	Formula 3	Tikus 47	169.455	438.781	34.366	127.996
		Tikus 48	147.519	171.544	145.059	127.996
		Tikus 49	87.362	61.748	35.119	44.188
		Rata-rata	134.77867	224.0243	71.514667	100.06

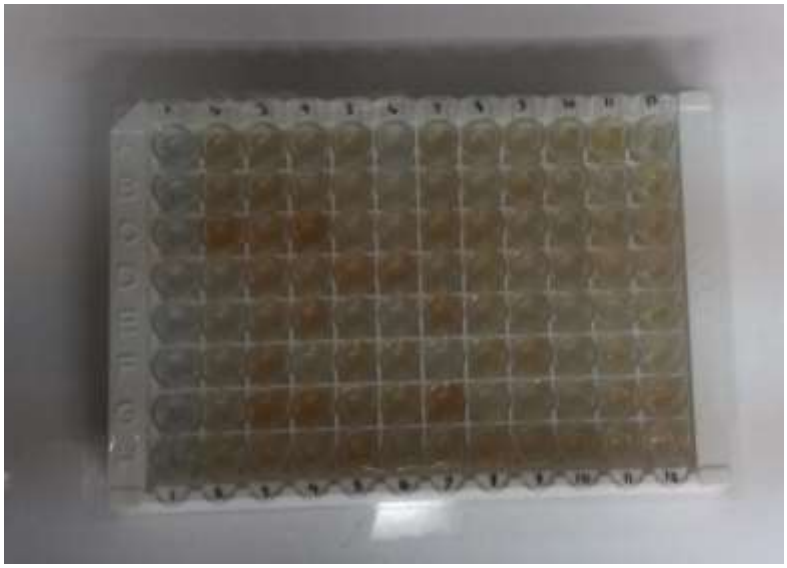


Hasil analisis data untuk pola kelompok non diabetes melitus menunjukkan kesamaan adanya peningkatan tnf alpha pada hari ke 5, pemberikan topikal tnf alpha tidak berpengaruh terhadap TNF alpha pada darah

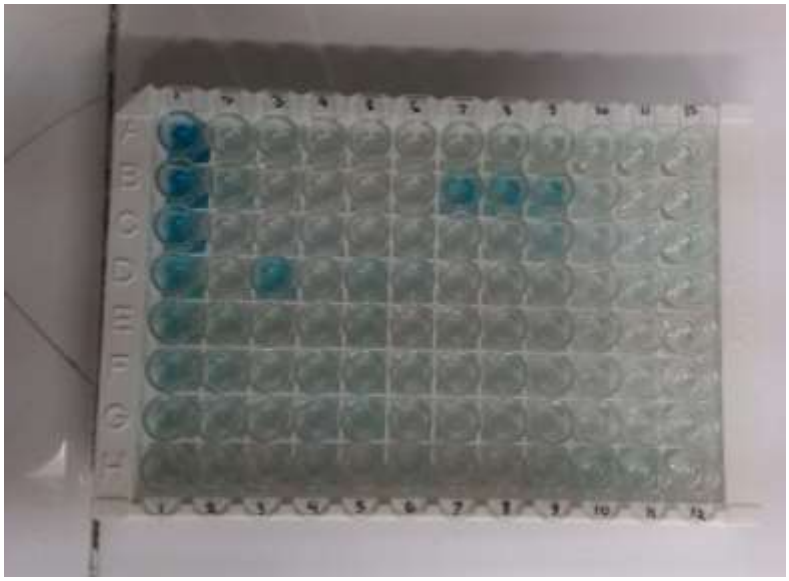


Hasil analisis data pada kelompok diabetes melitus (DM) menunjukkan Peningkatan tnf alpha pada darah pada hari ke5, tidak sebanyak kelompok non DM, dan TNF alpha relatif lebih rendah pada hari ke 5 dibanding kelompok Non DM. Formula 2 memberikan pola TNF alpha yg lebih rendah dari kelompok pelakuan lain

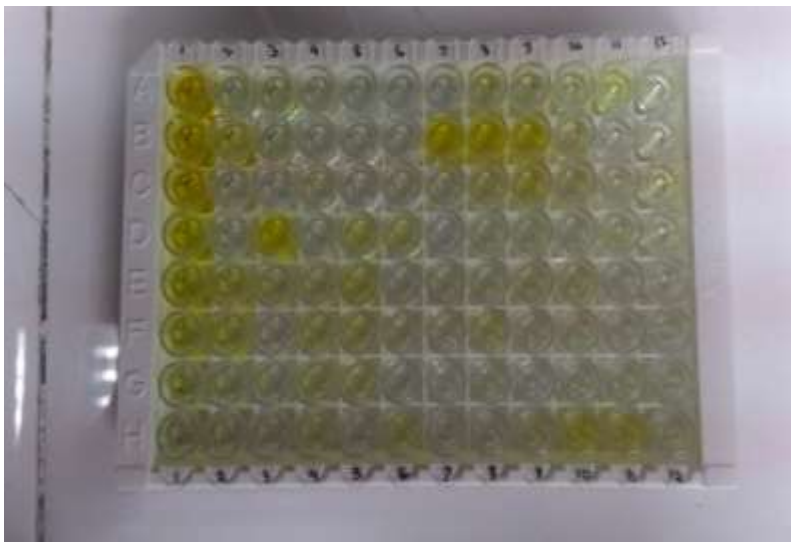
Dokumentasi pengujian ELISA



Well Microplate ELISA setelah penambahan standard dan sampel serum



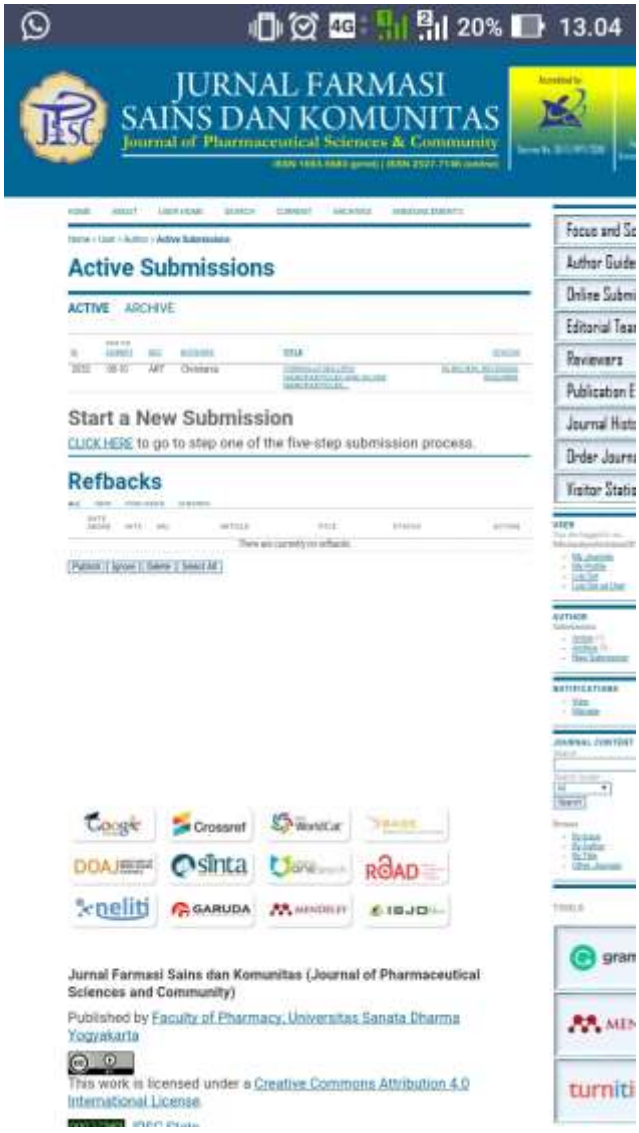
Well Microplate ELISA setelah penambahan TMB



Well Microplate ELISA setelah penambahan stop solution.....

D. **STATUS LUARAN**: Tuliskan jenis, identitas dan status ketercapaian setiap luaran wajib dan luaran tambahan (jika ada) yang dijanjikan pada tahun pelaksanaan penelitian. Jenis luaran dapat berupa publikasi, perolehan kekayaan intelektual, hasil pengujian atau luaran lainnya yang telah dijanjikan pada proposal. Uraian status luaran harus didukung dengan bukti kemajuan ketercapaian luaran sesuai dengan luaran yang dijanjikan. Lengkapi isian jenis luaran yang dijanjikan serta mengunggah bukti dokumen ketercapaian luaran wajib dan luaran tambahan melalui Simlitabmas mengikuti format sebagaimana terlihat pada bagian isian luaran

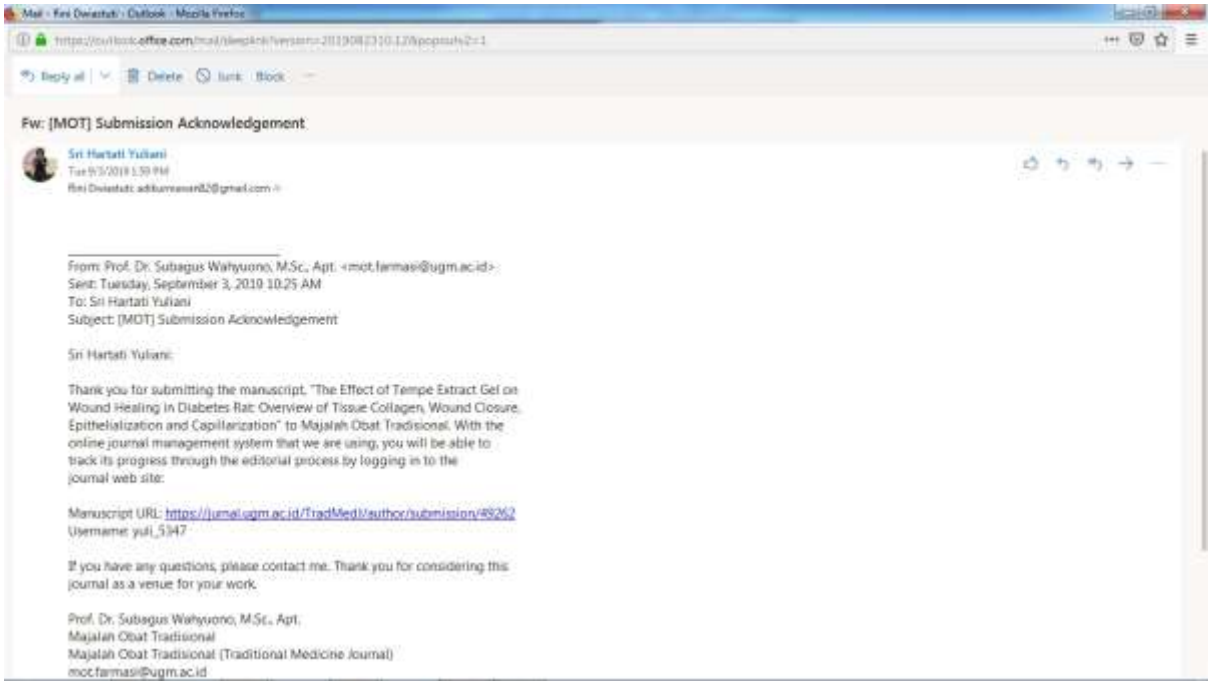
Luaran dalam penelitian ini adalah 2 publikasi pada jurnal terindex SINTA 2 dan Penelitian ini menghasilkan 2 publikasi ilmiah pada jurnal nasional bereputasi (terindex SINTA 2) yaitu jurnal Farmasi dan Sains Komunitas dan Majalah Obat Tradisional. Status luaran pada Jurnal Farmasi dan Sains Komunitas sampai dengan laporan kemajuan ini dibuat adalah “In review: Revision required” dan pada Majalah Obat Tradisional statusnya adalah “In review”. Berikut adalah bukti dari status luaran yang telah di submit pada jurnal terindex SINTA 2:



Active Submissions

ACTIVE ARCHIVE

ID	MM-DD SUBMIT	SEC	AUTHORS	TITLE	STATUS
2032	08-10	ART	Christania	FORMULATION LIPID NANOPARTICLES AND SILVER NANOPARTICLES...	IN REVIEW: REVISIONS REQUIRED



Fw: [MOT] Submission Acknowledgement

Sri Hartati Yuliani

From: Prof. Dr. Subagus Wahyuono, M.Sc., Apt. <mot.farmasi@ugm.ac.id>
Sent: Tuesday, September 3, 2019 10:25 AM
To: Sri Hartati Yuliani
Subject: [MOT] Submission Acknowledgement

Sri Hartati Yuliani:

Thank you for submitting the manuscript, "The Effect of Tempe Extract Gel on Wound Healing in Diabetes Rat: Overview of Tissue Collagen, Wound Closure, Epithelialization and Capillarization" to Majalah Obat Tradisional. With the online journal management system that we are using, you will be able to track its progress through the editorial process by logging in to the journal web site:

Manuscript URL: https://jurnal.ugm.ac.id/TradMedJ/author/submission/49262
Username: yuli_5347

If you have any questions, please contact me. Thank you for considering this journal as a venue for your work.

Prof. Dr. Subagus Wahyuono, M.Sc., Apt.
Majalah Obat Tradisional
Majalah Obat Tradisional (Traditional Medicine Journal)
mot.farmasi@ugm.ac.id

Active Submissions

ACTIVE ARCHIVE

ID	MM-DD SUBMIT	SEC	AUTHORS	TITLE	STATUS
49262	09-03	ART	Yuliani, Kurniawan, Dwiastuti	THE EFFECT OF TEMPE EXTRACT GEL ON WOUND HEALING IN...	IN REVIEW

.....

E. **PERAN MITRA:** Tuliskan realisasi kerjasama dan kontribusi Mitra baik *in-kind* maupun *in-cash* (jika ada). Bukti pendukung realisasi kerjasama dan realisasi kontribusi mitra dilaporkan sesuai dengan kondisi yang sebenarnya. Bukti dokumen realisasi kerjasama dengan Mitra diunggah melalui Simlitabmas mengikuti format sebagaimana terlihat pada bagian isian mitra

.....
.....

F. **KENDALA PELAKSANAAN PENELITIAN**: Tuliskan kesulitan atau hambatan yang dihadapi selama melakukan penelitian dan mencapai luaran yang dijanjikan, termasuk penjelasan jika pelaksanaan penelitian dan luaran penelitian tidak sesuai dengan yang direncanakan atau dijanjikan.

Pada penelitian ini aktivitas terhadap ekspresi protein pada pengujian TNF Alpha baik untuk kelompok DM maupun non DM dengan menggunakan sampel serum darah yang dilakukan pada hewan uji dengan pemberian sediaan gel nanopartikel lipid ekstrak tempe terstandarisasi genistein tidak menunjukkan hasil yang signifikan sehingga disarankan untuk menggunakan pengujian TNF Alpha pada jaringan luka bukan pada sampel darah hewan uji sehingga bisa diperoleh hasil dengan faktor bias yang lebih kecil ...

G. **RENCANA TINDAK LANJUT PENELITIAN:** Tuliskan dan uraikan rencana tindaklanjut penelitian selanjutnya dengan melihat hasil penelitian yang telah diperoleh. Jika ada target yang belum diselesaikan pada akhir tahun pelaksanaan penelitian, pada bagian ini dapat dituliskan rencana penyelesaian target yang belum tercapai tersebut.

Target Penelitan telah selesai dan disarankan untuk dapat dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan pengujian TNF Alpha pada jaringan luka untuk melihat ekspresi protein TNF Alpha pada proses penyembuhan luka

H. DAFTAR PUSTAKA: Penyusunan Daftar Pustaka berdasarkan sistem nomor sesuai dengan urutan pengutipan. Hanya pustaka yang disitasi pada laporan akhir yang dicantumkan dalam Daftar Pustaka.

1. Agrawal, S.S., Saxena, S., and Sharma, A., 2015. Phytoestrogen " Genistein ": Its Extraction and Isolation from Soybean Seeds. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research, 7 (6), 1121–1126.

2. Anwar, K., 2018. Aktivitas Gel Ekstrak Etanol Umbi Akar Tawas Ut (Ampelocissus rubiginosa L .) Terhadap Penyembuhan Luka Insisi Pada Tikus Wistar. Traditional Medicine Journal, 23 (April), 30–39.

3. Baltzis, D., Eleftheriadou, I., and Veves, A., 2014. Pathogenesis and Treatment of Impaired Wound Healing in Diabetes Mellitus: New Insights. Advances in Therapy, 31 (8), 817–836.

4. Emmerson, E., Campbell, L., Ashcroft, G.S., and Hardman, M.J., 2010. The phytoestrogen genistein promotes wound healing by multiple independent mechanisms. Molecular and Cellular Endocrinology, 321 (2), 184–193.

5. Etuk, E.U., 2010. Animals models for studying diabetes mellitus Department of Pharmacology , College of Health Sciences , Usmanu Danfodiyo University ,. Agriculture and Biology Journal of North America, 1 (2), 130–134.

6. Gupta, B., Agarwal, R., and Alam, M.S., 2011. Hydrogels for wound healing applications. Biomedical Hydrogels: Biochemistry, Manufacture and Medical Applications. Woodhead Publishing Limited.

7. Irrera, N., Pizzino, G., Anna, R.D., Vaccaro, M., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., and Bitto, A., 2017. Dietary Management of Skin Health : The Role of Genistein. MDPI, 1–10.

8. Júnior, M.C.S., Colchon, P.H., and Portes, A.G., 2011. Histological evaluation on Brazilian green propolis effect in tissue repair of wistar rats cutaneous wounds Histological Evaluation on Brazilian Green Propolis Effect in Tissue Repair of Wistar Rats Cutaneous Wounds, Lat. Am. J. Pharm. 30 (2): 383-7 (2011).

9. Kintoko, 2017. Effect of Diabetes Condition on Topical Treatment of Binahong Leaf Fraction in Wound Healing Process Pengaruh Kondisi Diabetes pada Pemberian Topikal Fraksi Daun Binahong dalam. Majalah Obat Tradisional, 22 (August), 103–110.

10. Martsiningsih, M.A., 2016. Gambaran Kadar Glukosa Darah Metode GOD-PAP (Glucose Oxsidase – Peroxidase Aminoantypirin) Sampel Serum dan Plasma EDTA (Ethylen Diamin Terta Acetat), Jurnal Teknologi Laboratorium, Vol.5, No.1, Maret 2016, pp. 45 ~ 48.

11. Rosyid, F.N., 2016. Role of TNF-α in Diabetic Ulcer Healing Process. In: The 2nd International Conference on Science, Technology, and Humanity. 142–149.

12. Sharp, A.N.U. and Jane, C., 2011. Diabetes and its effects on wound healing. Nursing Standard, 25 (45), 41–47.

13. Suvik, A., 2012. The Use Of Modified Masson's Trichrome Staining In Collagen Evaluation In Wound Healing Study, Malaysian Journal of Veterinary research, Volume 3 No.1 Januari 2012, 39-47.

14. Tie, L., An, Y., Han, J., Xiao, Y., Xiaokaiti, Y., Fan, S., Liu, S., Chen, A.F., and Li, X., 2013. Genistein accelerates refractory wound healing by suppressing superoxide and FoxO1/iNOS pathway in type 1 diabetes. Journal of Nutritional Biochemistry, 24 (1), 88–96.

15. Utami, D.T. and Karim, D., 2014. Diabetes mellitus dengan ulkus diabetikum, Jom Psik Vol. 1 No. 2 Oktober 2014 1–7.

16. Utari, 2010. Tempe Terhadap Kadar Isoflavon, PGM 2010, 33(2): 148-153.

17. Velnar, T., Bailey, T., and Smrkolj, V., 2009. The wound healing process: An overview of the cellular and molecular mechanisms. Journal of International Medical Research, 37 (5), 1528–1542.

18. Vidinsk'y, B., Gál, P., Toporcer, T., Longauer, F., and Sabo, N.B.J., 2006. Histological Study of the First Seven Days of Skin Wound Healing in Rats Wound healing is one of the most complex biological events after birth, Acta Vet. Brno 2006, 75: 197–202.

19. Yuliani, S.H., Gani, M.R., Istyastono, E.P., and Riswanto, F.D.O., 2018. Optimization of genistein and daidzein extraction from a tempeh- fermented product of soybean, Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research, 6 (4), 231-241, 2018, 231–241.