

UJI AKTIVITAS HEMOSTATIK EKSTRAK PROTEIN FIBROIN KEPOMPONG ULAT SUTERA (*BOMBYX MORI*) PADA MENCIT JANTAN GALUR SWISS-WEBSTER

¹Hera Nurwendah, ²Fetri Lestari, dan ³Siti Hazar

^{1, 2, 3} Jurusan Farmasi, Universitas Islam Bandung, Jl. Ranggagading No.8 Bandung 40116
E-mail : ¹ea_nw90@yahoo.co.id, ²fetрил@yahoo.com, ³tea_zar@yahoo.com

Abstrak. Telah dilakukan penelitian mengenai aktivitas hemostatik dari ekstrak protein fibroin kepompong ulat sutera (*Bombyx mori*) terhadap mencit jantan galur Swiss-webster sebagai obat alternatif antipendarahan dengan metode waktu perdarahan menggunakan induktor heparin natrium 13 IU/20 g BB/i.v dan metode kecepatan penutupan luka sayatan. Hasil menunjukkan bahwa pemberian ekstrak protein fibroin 2 mg/kg BB/i.v, 4 mg/kg BB/i.v dan 6 mg/kg BB/i.v mampu mempersingkat rata-rata waktu perdarahan secara berturut-turut 22,14 menit ($p=0,00$; $\alpha=0,05$), 12,38 menit ($p=0,00$; $\alpha=0,05$) dan 6,33 menit ($p=0,00$; $\alpha=0,05$) dibandingkan kelompok yang tidak diberi ekstrak (38,94 menit). Waktu perdarahan yang ditunjukkan oleh kelompok uji dosis 4 mg/kg BB/i.v setara dengan kondisi normal ($p=0,853$, $\alpha=0,05$). Pemberian ekstrak protein fibroin 0,512% menunjukkan penutupan luka yang lebih cepat dibanding kelompok yang tidak diberi ekstrak ($p=0,000$, $\alpha=0,05$).

Kata kunci: Ekstrak protein fibroin, hemostatik, kepompong ulat sutera (*Bombyx mori*)

1. Pendahuluan

Pengobatan menggunakan substrat hewan kini sedang marak diteliti. Salah satunya penelitian Prasetyo dkk (2010) mengenai jaring laba-laba yang mempunyai aktivitas hemostatik. Aktivitas hemostatik memegang peranan penting dalam kehidupan. Gagalnya faktor pembekuan darah pada proses hemostasis atau karena faktor patologi lain akan mengakibatkan pendarahan yang membahayakan jiwa (Mutschler, 1991).

Telah dilakukan penelitian menggunakan kepompong ulat sutera (*Bombyx mori*) sebagai alternatif hemostatik. Hal ini dilakukan karena kepompong ulat sutera (*Bombyx mori*) merupakan salah satu substrat hewan dengan produksi yang melimpah. Berdasarkan kandungannya, kepompong ulat sutera tersusun oleh 70-80% fibroin, 20-30% serisin, 0,4-0,8% materi lilin dan 1,2-1,5% karbohidrat (Rui, 1997). Hal ini menjadi landasan utama melakukan penelitian uji aktivitas hemostatik pada kepompong ulat sutera (*Bombyx mori*), karena mengandung protein fibroin yang dilansir mempunyai aktivitas hemostatik (Kim, 2007).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas hemostatik pada kepompong ulat sutera (*Bombyx mori*) serta mengetahui dosis efektif dari ekstrak protein fibroin untuk menghasilkan aktivitas hemostatik. Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah mendapatkan informasi mengenai aktivitas hemostatik dari kepompong ulat sutera (*Bombyx mori*), dapat diaplikasikan kepada masyarakat, serta dapat dijadikan sebagai prospek pengembangan budidaya kepompong ulat sutera.

2. Metode Penelitian

2.1 Penyiapan Hewan Percobaan

Mencit yang digunakan adalah mencit jantan galur Swiss Webster berusia sekitar dua bulan.

2.2 Preparasi Ekstrak Protein Fibroin

Kepompong ulat sutera disortir kemudian dipotong-potong sampai berukuran sekitar 1 cm². Sebanyak 20 gram kepompong dicuci dan dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C selama 1 jam. Kemudian sebanyak 0,25 gram natrium lauril sulfat dicampurkan dengan 0,25 gram natrium karbonat dalam 200 mL air dan dididihkan selama 1 jam sambil diaduk, setelah mencapai suhu 95⁰C kepompong ditambahkan untuk memperoleh hasil *degumming*. Hasil *degumming* dicuci dengan air mendidih selama 1 jam kemudian dibilas dengan air suling pada suhu 50°C selama 1 jam. Hasil *degumming* dilarutkan dalam larutan *caotropik* kalsium klorida: etanol: air (1:2:8) pada suhu 95°C selama 2,5 jam sambil diaduk menggunakan magnet stirer.

Larutan fibroin didialisis dalam selofan selama 3 hari. Setiap 6 jam air diluar selofan diganti. Kemudian larutan didalam selofan disentrifugasi pada suhu 5-10°C dengan perputaran 4.500 rpm selama 30 menit. Larutan kemudian di simpan pada suhu 4°C. Larutan konsentrat diukur konsentrasinya menggunakan metode Kjeldhal yang dilakukan di LIPI (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia) Bandung.

2.3 Uji Waktu Perdarahan

2.3.1 Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan terhadap mencit dengan pemberian induksi heparin natrium sebanyak 13 UI/20 gram BB mencit yang merupakan konversi dari dosis terapi manusia. Dosis tersebut memberikan efek pendarahan yang cukup besar yang ditunjukkan dengan rata-rata panjang waktu perdarahan lebih besar enam kali dari waktu perdarahan normal yaitu 4-10 menit.

2.3.2 Perlakuan Hewan Uji

Uji aktivitas hemostatik dibagi ke dalam lima kelompok mencit. Satu kelompok kontrol positif yang hanya diberikan induksi heparin natrium tanpa diberikan sediaan uji. Satu kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan NaCl fisiologis dengan cara intravena. Kelompok uji terdiri dari 3 kelompok dengan variasi dosis ekstrak. Kelompok uji pertama diberi induksi heparin natrium dan 10 menit kemudian diberi ekstrak protein fibroin sebesar 2 mg/kg BB/i.v, kelompok uji kedua diberi induksi heparin natrium dan 10 menit setelahnya diberi ekstrak protein fibroin sebesar 4 mg/kg BB/i.v dan kelompok uji ketiga diberi induksi heparin natrium dan setelah 10 menit diberi ekstrak protein fibroin sebesar 6 mg/kg BB/i.v. Untuk pemberian sediaan uji, mencit dimasukkan ke dalam kandang restriksi dan ekornya dijulurkan keluar.

2.3.3 Pengukuran Waktu Perdarahan

Pengukuran waktu perdarahan dilakukan dengan cara ekor mencit diberi perdarahan setelah 5 menit perlakuan. Ekor mencit diletakkan diatas kertas tissue kemudian sepanjang 2 mm ekor mencit dipotong dan waktu perdarahan diukur dari mulai perdarahan sampai berhenti. Pengamatan awal perdarahan dilihat pada saat pertama kali ekor mencit mengalami perdarahan setelah dipotong. Waktu perdarahan dicatat setelah ekor mencit sudah tidak mengalami perdarahan lagi.

2.4 Uji Kecepatan Penutupan Luka

Mencit dibagi ke dalam tiga kelompok yaitu kelompok kontrol positif, kelompok pembanding dan kelompok uji. Punggung mencit di cukur menggunakan pisau cukur dan didiamkan selama dua hari kemudian dilakukan penyayatan pada punggung mencit. Sebelum sayatan dilakukan, daerah yang akan disayat terlebih dahulu dioleskan alkohol sebagai antiseptik. Masing-masing kelompok diberi perlakuan yang sama yaitu disayat dengan panjang 1,5 cm dan lebar 0,1 mm serta kedalaman 0,2 mm. Variabel penelitian kecepatan penutupan luka yaitu kelompok kontrol positif yang tidak diberi apa-apa, kelompok pembanding yang diberi povidon iodine sebanyak satu tetes pada daerah sayatan per 24 jam dan kelompok uji diberi ekstrak protein fibroin sebanyak 51,2 mg pada daerah sayatan per 24 jam. Pengamatan kecepatan penutupan luka dilakukan setiap 24 jam.

2.5 Pengolahan Data

Data pengamatan dianalisis menggunakan uji *one-way* Anova kemudian dilanjutkan dengan uji Tukey-HSD. Derajat kepercayaan yang digunakan adalah 95% ($\alpha = 0,05$) dan data diolah menggunakan software *SPSS for Microsoft Windows release 15.0*.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Pengolahan Ekstrak Protein Fibroin

Degumming adalah proses penghilangan protein serisin karena serisin dilaporkan dapat memicu hipersensitivitas. Proses *degumming* dilakukan dengan cara dididihkan dalam air sabun basa karena serisin larut dalam air panas dan mudah rusak dalam larutan alkali (Srisakate, 2006) sedangkan fibroin merupakan protein yang tidak larut di dalam alkali lemah dan sabun (Vepari dan Kaplan, 2009). Campuran natrium karbonat dan natrium lauril sulfat menghasilkan sabun basa yang dapat melarutkan serisin.

Serisin merupakan protein yang terdiri dari asam amino hidrofilik lebih besar, sehingga sifatnya yang mudah larut dalam air (Soong, 1984; Srisakate, 2006). Fibroin terdiri dari asam amino hidrofob yang lebih banyak dan menyebabkan fibroin tidak larut baik dalam air (Vepari dan Kaplan, 2009). Sehingga pencucian dan pembilasan pada proses ekstraksi akan melarutkan serisin yang lebih larut dalam air dibanding fibroin.

Fibroin larut dalam garam logam alkali seperti LiCl, LiBr, NaI, larutan klorida, nitrat atau tiosianat Ca, Mg, dan Zn (Ohtomo dan Horikawa, 1980). Hasil dari *degumming* dilarutkan dalam pelarut tersier kalsium klorida, etanol dan air dengan perbandingan 1:2:8. Pelarut tersier kalsium klorida, etanol dan air dengan perbandingan 1:2:8 dipilih karena lebih mudah didapatkan dan telah banyak dilakukan penelitian.

Yuji Miyaguchi (2005) melaporkan bahwa adanya etanol dalam pelarut kalsium klorida lebih banyak melarutkan fibroin. Penelitian Ajisawa (1998) menunjukkan bahwa pelarut tersier kalsium klorida, etanol dan air dengan perbandingan 1:2:8 dapat melarutkan fibroin dengan variabel suhu. Sutera menunjukkan stabilitas terhadap panas pada peningkatan suhu sampai 200°C (Schoeser, 2007).

Pelarutan protein fibroin dalam sistem garam terjadi karena adanya interaksi ion pelarut dengan kelompok fungsional makromolekul dari protein fibroin. Ikatan hidrogen pecah dan menyebabkan terjadinya serangan nukleofilik oleh anion (Kumar, 2010) yang

menyebabkan ikatan fibroin membengkak dan kemudian larut (Zhang, 2001). Penggunaan pelarut kombinasi antara larutan garam dengan etanol dalam air diketahui dapat meningkatkan kelarutan dari fibroin (Ohtomo dan Horikawa, 1980).

Dialisis dilakukan untuk menghilangkan pelarut tersier. Dialisis adalah istilah yang digunakan untuk menggambarkan proses difusi melewati membran semipermeabel ketika membran membatasi larutan yang mempunyai konsentrasi yang berbeda (Dennison, 2002). Dialisis merupakan proses perpindahan pelarut dari dalam selofan menuju air (luar selofan) karena konsentrasi diluar selofan lebih kecil dibanding konsentrasi didalam selofan. Air diganti setiap 6 jam sekali selama 3 hari untuk mencegah terjadinya konsentrasi jenuh dalam air yang membentuk konsentrasi diluar selofan tetap lebih kecil dibanding larutan didalam selofan. Protein memiliki berat molekul yang besar sehingga tidak dapat menembus selofan.

Larutan fibroin diuji secara kualitatif menggunakan pereaksi buret. Protein akan mereduksi ion Cu^{2+} menjadi ion Cu^+ yang bereaksi dengan ikatan peptida untuk memberikan warna ungu (Dennison, 2002). Setelah itu, larutan diukur konsentrasinya secara kuantitatif menggunakan metode Kjeldhal dengan kadar sebesar 2,56%.

3.2 Uji Waktu Perdarahan

Heparin natrium digunakan sebagai induktor karena merupakan antikoagulan alami yang sangat efektif mempercepat aktivasi antitrombin (Davey, 2002), sehingga dapat menghambat protease faktor pembekuan (Katzung, 1997). Onset antikoagulan heparin secara langsung didapatkan setelah injeksi intravena (American society of Health Pharmacist, 2002). Ekstrak protein fibroin diberikan secara intravena karena protein fibroin tidak tahan oleh asam biologi. Hasil pengamatan waktu perdarahan ekstrak fibroin kepompong ulat sutera (*Bombyx mori*) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengamatan waktu perdarahan berbagai kelompok perlakuan

No.	Kelompok Mencit (menit)				
	Kontrol Positif	Kontrol Negatif	Uji 1 (ekstrak 2 mg/kg)	Uji 2 (ekstrak 4 mg/kg)	Uji 3 (ekstrak 6 mg/kg)
Rata-rata	38.94	9.45	22.14	12.38	6.33
SD	7.28	2.46	7.70	3.09	0.42

Keterangan : Kontrol positif adalah kelompok yang hanya diberi induksi heparin natrium saja
Kontrol negatif adalah kelompok yang tidak diberi apa-apa

Tabel 1 menunjukkan bahwa perbandingan waktu perdarahan pada kelompok kontrol positif dengan kelompok kontrol negatif menunjukkan keberhasilan induksi heparin natrium yang memberikan efek perdarahan yang sangat besar. Semakin tinggi waktu perdarahan, maka semakin lama tubuh menghentikan perdarahan. Kelompok kontrol positif memberikan waktu perdarahan yang paling tinggi dengan rata-rata waktu sebesar 38,94 menit. Pada kelompok uji 1 yaitu kelompok yang diberikan induksi heparin natrium dan ekstrak dengan dosis 2 mg/kg BB/i.v, memberikan penurunan waktu perdarahan menjadi 22,14 menit dibanding dengan kelompok kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak fibroin dengan dosis 2 mg/kg BB/i.v sudah memberikan efek hemostatik. Akan tetapi, jika dibandingkan terhadap kelompok kontrol negatif, ekstrak protein fibroin 2 mg/kg BB/i.v tidak menunjukkan waktu perdarahan yang lebih singkat dibanding kelompok normal.

Kelompok yang diberi induksi heparin natrium dan ekstrak dengan dosis 4 mg/kg BB/i.(kelompok uji 2) memberikan penurunan waktu perdarahan terhadap kelompok kontrol positif dan menunjukkan waktu perdarahan yang hampir setara dengan waktu perdarahan pada kelompok kontrol negatif yaitu sebesar 12,38 menit. Pada kelompok yang diberi induksi heparin natrium dan ekstrak dengan dosis 6 mg/kg BB/i.v (kelompok uji 3) menunjukkan waktu perdarahan yang sangat singkat yaitu sebesar 6,33 menit. Artinya pemberian ekstrak protein fibroin dengan dosis 6 mg/kg BB/i.v memberikan efek hemostatik paling cepat. Uji Tukey-HSD dilakukan untuk mengetahui letak perbedaan signifikan yang ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji statistika waktu perdarahan menggunakan Tukey HSD

(I) Faktor	(J) Faktor	$\bar{X} \pm S_E$	Sig (p)
kontrol positif (hanya diberi induksi heparin natrium)	kontrol negatif	29,492 ± 2,920	,000*
	uji 1 (ekstrak fibroin 2 mg/kg)	16,803 ± 2,920	,000*
	uji 2 (ekstrak fibroin 4 mg/kg)	26,568 ± 2,920	,000*
	uji 3 (ekstrak fibroin 6 mg/kg)	32,612 ± 2,920	,000*
kontrol negatif (tidak diberi apa-apa)	kontrol positif	-29,492 ± 2,920	,000*
	uji1 (ekstrak fibroin 2 mg/kg)	-12,688 ± 2,920	,002*
	uji 2 (ekstrak fibroin 4 mg/kg)	-2,923 ± 2,920	,853
	uji 3 (ekstrak fibroin 6 mg/kg)	3,120 ± 2,920	,821
Uji 1 (ekstrak fibroin 2 mg/kg)	kontrol positif	-16,803 ± 2,920	,000*
	kontrol negatif	12,688 ± 2,920	,002*
	uji 2 (ekstrak fibroin 4 mg/kg)	9,765 ± 2,920	,020*
	uji 3 (ekstrak fibroin 6 mg/kg)	15,808 ± 2,920	,000*
Uji 2 (ekstrak fibroin 4 mg/kg)	kontrol positif	-26,568 ± 2,920	,000*
	kontrol negatif	2,923 ± 2,920	,853
	uji1 (ekstrak fibroin 2 mg/kg)	-9,765 ± 2,920	,020*
	uji 3 (ekstrak fibroin 6 mg/kg)	6,043 ± 2,920	,265
Uji 3 (ekstrak fibroin 6 mg/kg)	kontrol positif	-32,612 ± 2,920	,000*
	kontrol negatif	-3,120 ± 2,920	,821
	uji1 (ekstrak fibroin 2 mg/kg)	-15,808 ± 2,920	,000*
	uji 2 (ekstrak fibroin 4 mg/kg)	-6,043 ± 2,920	,265

*menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada tingkat signifikansi 0,05

Kelompok uji dengan dosis ekstrak 4 mg/kg BB/i.v tidak memberikan perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol negatif ($p = 0,853$, $\alpha = 0,05$). Sehingga dosis 4 mg/kg BB/i.v merupakan dosis efektif karena cenderung lebih mendekati waktu perdarahan mencit normal. Tubuh memiliki nilai rentang waktu perdarahan normal. Waktu perdarahan yang terlalu lambat mengindikasikan masih terjadinya pendarahan, sedangkan waktu perdarahan yang terlalu cepat mengindikasikan adanya trombosis. Semakin besar dosis yang diberikan, maka semakin besar pula penurunan waktu perdarahan yang diperlukan.

Waktu perdarahan merupakan suatu parameter yang dapat memonitor status fungsi trombosit, kemampuan adhesi pada jaringan subendotel dan secara lebih spesifik menunjukkan keefektifan membentuk agregasi (Williams, 2000). Dari hasil pengukuran waktu perdarahan diduga bahwa fibroin bekerja pada fase hemostatik primer. Fase hemostatik primer terdiri dari tahapan vasokonstriksi, adhesi trombosit dan agregasi trombosit. Ditunjang dari penelitian Prasetyo dkk (2010) menunjukkan bahwa protein fibroin memberikan pengaruh yang signifikan terhadap *Bleeding Time* namun tidak mempengaruhi nilai APTT (*Activated Parsial Tromboplastin Time*). *Bleeding Time* berperan dalam fase hemostatik primer sedangkan APTT hanya berperan dalam fase hemostatik sekunder (Prasetyo, F dkk, 2010; Robbins, 2002).

3.3 Uji Kecepatan Penutupan Luka

Kajian mengenai mekanisme fibroin dilaporkan oleh Minoura *et al.*, (1995) yang menyebutkan bahwa fibroin mendukung perlekatan fibroblas. Fibroblas merupakan suatu komponen seluler yang berperan dalam proses penyembuhan luka (Cotran, 1999).

Tabel 3. Data pengamatan rata-rata panjang luka pada pengujian kecepatan penutupan luka

Hari ke-	Kelompok (rata-rata panjang luka)		
	Kontrol negatif (cm)	Pembanding (cm)	Uji (cm)
1	1,20	1,07	0,90
2	1,10	0,90	0,80
3	1,01	0,87	0,73
4	1,03	0,85	0,63
5	0,97	0,83	0,57
6	0,93	0,83	0,51
7	0,93	0,83	0,50
8	0,93	0,77	0,40
9	0,90	0,67	0,40
10	0,90	0,63	0,30
11	0,83	0,63	0,30
12	0,77	0,60	0,30
13	0,67	0,60	0,30
14	0,67	0,50	0,00
15	0,67	0,40	0,00

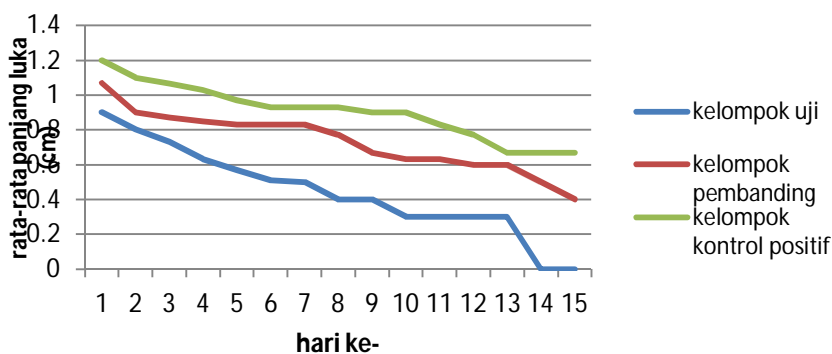
Dari hasil pengamatan pada tabel 3 diperoleh data yang menunjukkan bahwa kelompok uji memberikan waktu penutupan luka yang lebih cepat dibanding kelompok pembanding yaitu pada hari ke-14 dan ke-15. Parameter penutupan luka ditandai dengan adanya penurunan panjang luka dan tertutupnya luka sehingga panjang luka menunjukkan angka nol (0,00).

Adanya mikroba dalam luka akan menghambat proses penyembuhan luka (Robbins, 1992), sehingga kelompok pembanding yang diberi povidon iodine akan lebih cepat sembuh dibanding kelompok kontrol positif karena povidon iodine bersifat antiseptik. Hal ini terjadi karena makrofag selain berfungsi fagositosis bakteri juga berfungsi sebagai sintesa kolagen, pembentukan jaringan granulasi, produksi faktor pertumbuhan yang berperan pada pembentukan sel-sel epitel yang baru (reepitelisasi) dan pembentukan pembuluh kapiler baru (angiogenesis) (Robbins, 1992). Sehingga pada kelompok pembanding yang bakterinya dihambat karena adanya antiseptik, peran makrofag dalam sintesa kolagen, pembentukan jaringan granulasi, produksi faktor pertumbuhan dan pembentukan pembuluh kapiler baru akan lebih besar sehingga mempercepat tahap penyembuhan luka. Hasil pengolahan statistika menggunakan Tukey-HSD menyebutkan bahwa kelompok uji memberikan kecepatan penutupan luka yang berbeda signifikan terhadap kelompok pembanding ($p = 0,02$, $\alpha = 0,05$) dan kelompok kontrol positif ($p = 0,00$, $\alpha = 0,05$).

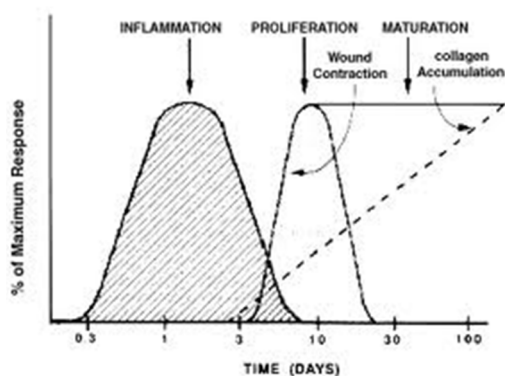
Tabel 4. Hasil uji statistika rata-rata panjang luka dengan Tukey HSD

(I) Faktor	(J) Faktor	$\bar{X} \pm S_E$	Sig (p)
1 (kontrol positif)	2 (pembanding)	0,172 \pm 0,076	,072
	3 (ekstrak)	0,455 \pm 0,076	,000
2 (pembanding)	1(kontrol positif)	-0,172 \pm 0,076	,072
	3(ekstrak)	0,283 \pm 0,076	,002
3 (ekstrak)	1(kontrol positif)	-0,455 \pm 0,076	,000
	2(pembanding)	-0,283 \pm 0,076	,002

*menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan



Gambar 1. Grafik rata-rata panjang luka terhadap waktu



Gambar 2. Kurva waktu penyembuhan luka secara normal (Sumber: <http://www.orthoteers.com>)

Dari gambar 1, kelompok pembanding menunjukkan penurunan kurva yang paling signifikan pada hari ke-1 sampai hari ke-3 yang merupakan fase inflamasi dimana makrofag berperan lebih besar. Pada kelompok uji, penurunan panjang luka yang signifikan terjadi pada hari ke-1 sampai hari ke-8 yang merupakan fasa inflamasi dan proliferasi. Fase inflamasi terdiri dari tahapan hemostasis dimana terjadinya proses adhesi trombosit pada kolagen dan agregasi trombosit dalam jaringan. Sedangkan pada fase proliferasi, fibroblas lebih berperan untuk sintesis kolagen. Adanya fibroblas dapat membentuk kontraksi luka sehingga luka akan secara cepat mengecil (Cotran, 1999). Semakin banyaknya fibroblast pada luka maka semakin besar daya kontraksi luka sehingga sisi luka akan tertarik dan luka menjadi mengecil (Prasetyo, B, 2010).

4. Penutup

4.1 Kesimpulan

Ekstrak fibroin kepompong ulat sutera (*Bombyx mori*) mempunyai aktivitas hemostatik yang ditunjukkan dengan adanya perbedaan yang signifikan ($p = 0,00$, $\alpha = 0,05$) terhadap pengamatan waktu perdarahan. Semakin besar dosis, efek penurunan waktu perdarahan semakin tinggi. Dosis efektif ekstrak protein fibroin untuk aktivitas hemostatik adalah 4 mg/kg karena memiliki nilai waktu perdarahan yang mendekati normal ($p = 0,853$, $\alpha = 0,05$). Pada uji penyembuhan luka, ekstrak protein fibroin menunjukkan adanya efek peningkatan penyembuhan luka pada hari ke 14, lebih baik dibanding dengan pemberian povidon iodine ($p = 0,00$, $\alpha = 0,05$).

4.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai metode lain yang relevan dengan aplikasi klinis dan perlu dilakukan pengamatan histopatologi pada pengujian kecepatan penutupan luka, agar dapat diketahui keadaan jaringan kulit setelah pemberian ekstrak fibroin. Perlu diperhatikan aspek sterilitas pada pembuatan ekstrak protein fibroin.

5. Daftar Pustaka

- Ajisawa A, 1998, Dissolution of Silk Fibroin with Calcium chloride/Ethanol aqueous solution. **J Seric Sci Jpn** 1998; 67: 91-94.
- American Society of Health Pharmacist, 2002, **American Hospital Formulary Services (AHFS)** 2, USA, 1444.
- Cotran RS, Kumar V, Collins T, 1999, Pathology basic of disease. **6th ed. Philadelphia: W B Saunders Co;1999** : 21-201.
- Davey, Patrick, 2002, **At a Galance Medicine**, Erlangga, Jakarta, 326-331.
- Dennison Clive, 2002, A Guide To Protein Isolation, Kluwer Academic Publisher [buku elektronik], **Newyork eBook ISBN: 0-306-46868-9**, hal 36, 61-63.
- Katzung, Bertram G, 1995, **Farmakologi Dasar dan Klinik**, Terjemahan Agoes Azwar, EGC, Jakarta, 528-532.
- Kim H. S., et. al. 2007, Preparation of a Porous Chitosan/Fibroin-Hydroxyapatite Composite Matrix for Tissue Engineering, **Macromolecular Research**, Vol. 15, No. 1, pp 65-73 (2007).
- Kumar, Mahesh. Arvind Kumar, dan Pramanik K, 2010, The extraction of fibroin protein from Bombyx mori silk cocoon; Optimization of process parameters: **International Journal of Research Bioinformatika**, ISSN: 0975-3087, Volume 2, Issue 2, 2010, pp-33-41, Departemen Teknik Bioteknologi dan Kedokteran, Institut Teknologi Nasional, India.
- Minoura N, Aiba S, Gotoh Y, Tsukada M, Imai Y. Attachment and growth of cultured fibroblast cells on silk protein matrices. **J Biomed Mater Res** 1995; 29: 1215–1221.
- Miyaguchi, Yuji dan Jianen Hu, 2005, Physicochemical Properties of Silk Fibroin after Solubilization Using Calcium Chloride with or without Ethanol, **Food Sci. Technol. Res.**, **11 (1)**, 37-42-2005.
- Mutschler Ernst, 1991, **Dinamika Obat**, Terjemahan Mathilda B. Widiyanto dan Anna Setiadi Ranti, ITB, Bandung, 420-429.
- Ohtomo, K. dan Y. Horikawa. 1980. Smooth powder fibrous and process to produced same patent. **AS** **4**, 233, 211.
- Prasetyo, Firman Adi, Lilavati Vijaganita, Luh Putu Swastiyani Purnami, dan Weda Kusuma., 2010, **Efek Spider Silk Protein (SSP) Tetragnatha Javana Terhadap CTBT Dan APTT Pada Tikus Yang Diinduksi Oleh Heparin Sulfat**. Penelitian PKM, Universitas Sebelas Maret: Solo.
- Prasetyo Bayu Febram, Ietje Wientarsih², Bambang Pontjo Priosoeryanto, 2010, Aktivitas Sediaan Gel Ekstrak Batang Pohon Pisang Ambon dalam Proses Penyembuhan Luka pada Mencit. **Jurnal Veteriner Juni 2010** Vol. 11 No. 2 : 70-73, ISSN : 1411 – 8327, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.
- Robbins et. al. 2002. **Buku Ajar Patologi**. EGC. Jakarta.
- Rui, H. G. 1997. **Silk reeling (Cocoon Silk Study)**, Science publisher Inc, USA,
- Schoeser, Mary, 2007. **Silk**. Yale Universitas Press: USA, 232.
- Soong HK, Kenyon KR, 1984, Adverse reactions to virgin silk sutures in cataract surgery. **Ophthalmology** **1984**; 91: 479–483.
- Srisakate Nang Noi, 2006, Production of Water-Soluble Silk Powder from *Bombyx mori* Linn. **Kasetsart J. (Nat. Sci.)** 40: 152 – 158.
- Vepari Charu dan David L Kaplan, 2009, Sutera as Biomaterial, **Prog Polym Sci.** **2007**; 32 (8-9) 991-1007.
- Williams Lippincott dan Wilkins, 2000, **Handbookk Of Pathophysiology**, terjemahan Corwin, Elizabeth J, USA Washington, 151.
- Zhang, Wang NL, Y. Wenhua dan X. Shiyang. 2001. Study structure fibrous silk: mekanisme dissolve fibrous silk with CaCl₂. **Jurnal Cina Institut Sains & Teknologi Makanan** 1 (1): 56.