

Aktivitas Gel Ekstrak Etanol Umbi Akar Tawas Ut (*Ampelocissus rubiginosa* L.) Terhadap Penyembuhan Luka Insisi Pada Tikus Wistar

Wound Healing Activity of Ethanolic Extract Gel of Tawas Ut Tuber (*Ampelocissus rubiginosa* L.) in Incisional Model Wistar Rats

Khoerul Anwar^{1*}, Dewita Fitri Widodo¹, Nurlely¹, Liling Triyasmono¹, Sudarsono², Agung Endro Nugroho³

¹Program Studi Farmasi, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru

²Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

³Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRAK

Umbi Tawas ut (*Ampelocissus rubiginosa* Lauterb.) secara empiris digunakan sebagai obat luka masyarakat Dayak. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas penyembuhan luka insisi pada tikus Wistar dengan pemberian gel ekstrak etanol umbi *A. rubiginosa* berdasarkan persentase penutupan panjang luka, tensile strength, dan pengamatan histopatologi jaringan. Penelitian ini menggunakan dua puluh lima ekor tikus putih jantan galur Wistar yang terbagi dalam lima kelompok yaitu kelompok kontrol positif (Bioplacenton®), kontrol negatif (gel tanpa ekstrak), dan tiga kelompok uji dengan gel ekstrak konsentrasi 1,5%, 2,0%, dan 2,5%. Penyembuhan luka diuji terhadap luka insisi sepanjang 4 cm dan kedalaman ± 2 mm pada kulit punggung hewan uji. Gel dioleskan dua kali sehari selama 20 hari pengamatan. Pengukuran panjang luka dilakukan pada hari ke-4, 8, 12, 16, dan 20, untuk kemudian dianalisis kuantitatif. Pada hari ke-20 hewan uji dimatikan, organ kulit diambil untuk pengujian tensile strength dan pembuatan preparat histopatologi untuk penilaian kualitatif. Hasil penelitian menunjukkan kelompok uji 2,5% memiliki aktivitas penyembuhan luka dengan rerata persentase penutupan panjang luka 99,00% ± 0,16, rerata tensile strength 3,8541 gram/mm², disertai terjadinya re-epitelisasi, neokapilerisasi, dan peningkatan kepadatan kolagen pada pengamatan histopatologi. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan gel ekstrak etanol umbi *A. rubiginosa* memiliki aktivitas penyembuhan luka.

Kata kunci: *Ampelocissus rubiginosa* Lauterb, gel, penyembuhan luka, tensile strength, histopatologi

ABSTRACT

Tawas ut tuber (*Ampelocissus rubiginosa* Lauterb.) is empirically used in wound healing by Dayak community. The present study was undertaken to assess wound healing activity of gel from ethanol extract of *A. rubiginosa* tuber using parameters of the closure of wound length, tensile strength, and histopathological observations. This study used twenty-five male Wistar rats divided into five groups: positive control (Bioplacenton®), negative control (placebo gel), and three of testing groups with gel extract (concentrations of 1.5%, 2.0%, and 2.5%). Wound healing activity was evaluated to 4 cm length and ± 2 mm depth incision wound model on the back skin of rats. The measurement of wound length was observed on the day of 4th, 8th, 12th, 16th, and 20th used quantitative analyze. On the day of 20th, animal was anaesthetized and the skin has been taken for tensile strength evaluation and histopathological observations. This study showed that group treated with gel extract at the concentration of 2.5% experienced higher wound healing activity with average percentage of wound closure of 99.00% ± 0.16, tensile strength 3.8541 gram/mm², and proved with the re-epithelization, neocapillarization, and increase collagen density appeared in histopathological observations. Based on this study, gel from ethanol extract of *A. rubiginosa* tuber possesses wound healing activity.

Key words: *Ampelocissus rubiginosa* Lauterb, gel, wound healing, tensile strength, histopathology

PENDAHULUAN

Luka adalah terputusnya jaringan kulit yang menyebabkan gangguan pada struktur normal sel maupun molekuler, anatomi dan

fungsional tubuh (Nasrabadi *et al.*, 2011). Saat jaringan kulit terluka, terjadi proses penyembuhan sebagai respon imun bawaan untuk mengembalikan integritas jaringan dan fungsi kulit sebagai *barrier*. Respon hemostasis berlangsung setelah terjadi luka yang diikuti oleh tiga tahap selanjutnya yaitu inflamasi, proliferasi

*Corresponding author : Khoerul Anwar
Email : khoerul.anwar@unlam.ac.id

dan *remodelling* jaringan yang berlangsung secara *overlapping* (Sgonc & Gruber, 2013). Kolagen memegang peranan penting dalam penyembuhan luka sebagai pembentuk matriks seluler yang baru. Sintesis kolagen berlangsung pada tahap proliferasi, beserta regenerasi sel epitel dan jaringan pembuluh kapiler (Morison, 2004). Ekspresi kolagen akan menentukan kekuatan regangan dari luka dan mematurasi sel pada penyembuhan luka (Zahra *et al.*, 2011).

Proses penyembuhan luka dapat ditingkatkan dengan penggunaan obat luka. Obat luka juga diperlukan untuk mengurangi risiko infeksi bakteri pada luka terbuka. Beberapa hasil penelitian sebelumnya menunjukkan tumbuhan yang telah diekstraksi diketahui berpotensi sebagai penyembuh luka antara lain ekstrak etanol daun mengkudu, ekstrak etanol daun binahong, dan ekstrak etanol batang pohon pisang. Ekstrak-ekstrak tersebut diketahui mengandung senyawa kimia seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpen, kuinon, antrakuinon atau glikosida iridoid (Miladiyah & Prabowo, 2012; Sabirin *et al.*, 2013; Prasetyo *et al.*, 2010). Senyawa kimia tersebut memiliki kemampuan dalam mempercepat proses penyembuhan luka. Efek dari senyawa kimia yang berhubungan dalam proses penyembuhan luka antara lain alkaloid sebagai analgetik (Farouk *et al.*, 2008), flavonoid sebagai antioksidan, antibakteri, antiinflamasi (Arum *et al.*, 2012), tanin sebagai adstringen, saponin sebagai antimikroba (Robinson, 1995), triterpen sebagai adstringen dan antimikroba (Nayak *et al.*, 2009), dan glikosida iridoid sebagai antiinflamasi (Meskin *et al.*, 2004).

Salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai obat luka yakni tawas ut (*Ampelocissus rubiginosa* Lauterb.), yang merupakan tumbuhan perdu dari famili Vitaceae dan berasal dari Kalimantan Tengah. Secara empiris umbi *A. rubiginosa* dipercaya memiliki banyak khasiat, diantaranya sebagai obat luka luar maupun luka dalam setelah melahirkan dan operasi. Pada penelitian sebelumnya telah terbukti bahwa infusa umbi *A. rubiginosa* berefek sebagai hepatoprotektor (Astuti *et al.*, 2016), antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Khaharap, 2012), serta sebagai antiplasmodium (Arnida *et al.*, 2015). Hasil skrining fitokimia menunjukkan pada umbi *A. rubiginosa* terdapat alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin (Nisbullah, 2013), sehingga diduga kandungan tersebut mempunyai aktivitas sebagai obat luka.

Sejauh ini belum ada bukti ilmiah terkait aktivitas penyembuhan luka oleh umbi *A. rubiginosa*, hal tersebut menjadi alasan untuk membuktikan kebenaran penggunaan empirisnya. Ekstrak akan dibuat dalam bentuk sediaan gel karena pada umumnya gel memberikan pelepasan zat aktif yang lebih cepat jika dibandingkan dengan salep, krim, dan pasta (Mehta *et al.*, 2015). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan aktivitas penyembuhan luka insisi pada tikus putih dengan pemberian gel ekstrak etanol umbi *A. rubiginosa* berdasarkan persentase penutupan panjang luka, *tensile strength*, dan pengamatan histopatologi jaringan.

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah umbi *A. rubiginosa* yang diperoleh dari Pasar Kahayan Palangkaraya Kalimantan Tengah, akuades, Bioplacenton (Kalbe Farma), alkohol 95%, alkohol absolut (Merck), carbopol 934 (Shree Chemicals), etanol 70%, eter (Merck), FeCl₃ 3%, FeCl₃ 10%, HCl (Merck), larutan formalin 10%, metil paraben (Brataco), natrium klorida 0,9% fisiologis (Otsuka), blok parafin, pewarna Hematoksin & Eosin, Pb asetat 10%, propilenglikol, propil paraben (Brataco), reagen Dragendorff, reagen Mayer, trietanolamin, dan xylol (p.a).

Alat-alat yang digunakan antara lain alat-alat gelas (Iwaki, Pyrex), tensiometer, bejana maserator, *flotation bath* (Civilab), *hot plate* (Stuart CB 302), mikroskop cahaya binokuler (Olympus CX21), mikrotom (Microtec), oven (Memmert), pH meter (Lutron), *surgical blade* no. 11 (Onemed), *surgical suture* 3/0 dan *needle* (Onemed), *vacuum rotary evaporator* (Heidolph), *waterbath* (SMIC), dan *wax dispensing* (Electrothermal).

Hewan uji

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih galur Wistar berumur 2-3 bulan dengan berat badan 200-260 gram. Tikus dipelihara di laboratorium pada kondisi temperatur konstan 25±2° C, kelembaban relatif 70 ± 10%, dan siklus gelap-terang 12:12 jam. Makanan yang digunakan adalah standar laboratorium (Comfeed, Indonesia) dan air minum *ad libitum*. Penelitian ini telah mendapat *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan FK ULM Banjarmasin No. 335/KEP-FK UNLAM/EC/V/2017.

Pembuatan ekstrak etanol umbi *A. rubiginosa*

Umbi *A. rubiginosa* terlebih dahulu dideterminasi di Laboratorium Biologi FMIPA ULM. Ekstraksi dilakukan secara maserasi dengan pelarut etanol 70%. Serbuk direndam pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:2,25. Proses perendaman dilakukan selama 1x24 jam dengan disertai pengadukan. Maserat kemudian disaring dengan kain flanel dan ditampung dalam labu Erlenmeyer. Ampas yang tertinggal dimaserasi kembali sebanyak 2 kali. Semua maserat yang diuapkan dengan *rotary evaporator* suhu 65-75°C dan dipekatkan menggunakan *waterbath*.

Skrining fitokimia ekstrak etanol umbi *A. rubiginosa*

Uji alkaloid

Ekstrak diambil sebanyak 1 mL dan diaduk dengan 5 mL HCl 1% di atas penangas air dengan suhu 60° selama 15 menit dan disaring. Filtrat yang didapat ditambah 1 mL reagen Dragendorff, dan terjadi endapan jingga jika positif terdapat alkaloid (Solihah *et al.*, 2012).

Uji flavonoid

Larutan FeCl₃ 10% sebanyak 1 mL ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 1 mL ekstrak, lalu digojog. Flavonoid ditandai dengan terbentuknya endapan warna coklat (Solihah *et al.*, 2012).

Uji tanin

Sebanyak 1 mL FeCl₃ 3% ditambahkan pada 1 mL ekstrak di dalam tabung reaksi. Keberadaan tanin dalam sampel ditandai dengan timbulnya warna hijau kehitaman (Wijaya *et al.*, 2014).

Uji saponin

Saponin diidentifikasi dengan metode Forth. Sebanyak 2 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL akuades dan dikocok selama 30 detik. Jika terbentuk busa yang konsisten (tidak hilang selama 30 detik) maka identifikasi menunjukkan adanya saponin (Marliana *et al.*, 2005).

Pembuatan sediaan gel ekstrak etanol umbi *A. rubiginosa*

Sediaan gel ekstrak etanol umbi *A. rubiginosa* dibuat dengan formula seperti pada Tabel I. Carbopol 934 didispersikan dengan setengah bagian akuades. Trietanolamin (TEA) ditambahkan tetes demi tetes hingga carbopol mengembang (Campuran I) dan tercapai pH kulit 4,5-6,5 (Tranggono & Latifah, 2007). Metil paraben dan propil paraben dilarutkan dengan propilen glikol di atas penangas air (Campuran II). Ekstrak etanol umbi *A. rubiginosa* dicampurkan ke dalam Campuran I dengan penggerusan hingga

homogen. Campuran II ditambahkan ke dalam Campuran I sambil dilakukan pengadukan terus-menerus, disertai penambahan akuades *ad* 100 g (Allen & Ansel, 2014).

Pembuatan luka insisi

Rambut di sekitar punggung tikus yang akan dibuat luka dicukur dan permukaan kulitnya dibersihkan dengan alkohol 70%, kemudian diadaptasikan selama 2 hari (Kokane *et al.*, 2009; Prasetyo *et al.*, 2010). Tikus dianestesi terlebih dahulu menggunakan eter sebelum dilakukan perlukaan. Luka insisi dibuat dengan melukai kulit tikus dengan panjang 4 cm dan kedalaman ± 2 mm menggunakan *surgical blade* no. 11 (Kokane *et al.*, 2009). Darah yang keluar dibersihkan dengan NaCl 0,9% fisiologis sampai pendarahan berhenti. Luka yang telah bersih kemudian dilakukan dijahit dengan jarak ± 1 cm dan dibiarkan tanpa penutup.

Pengelompokan hewan uji

Sebanyak dua puluh lima ekor tikus dibagi dalam lima kelompok, yakni kelompok I kontrol positif dengan pemberian gel luka Bioplacenton®, kelompok II kontrol negatif dengan pemberian gel tanpa ekstrak, kelompok III, IV dan V merupakan kelompok uji yang diberikan gel ekstrak etanol umbi *A. rubiginosa* dengan kadar berturut-turut 1,5%, 2,0%, dan 2,5%. Gel ekstrak diberikan menggunakan spatula steril secara topikal 2 kali sehari selama 20 hari (Mehta *et al.*, 2014).

Pengamatan panjang luka

Panjang luka diukur menggunakan jangka sorong pada hari ke-0, 4, 8, 12, 16, dan 20 setelah pemberian perlakuan. Menurut Kumar *et al.* (2008), persentase penyembuhan luka dihitung dengan rumus:

Persentase =

$$\left(\frac{\text{panjang luka hari ke 0} - \text{panjang luka pada hari ke } n}{\text{panjang luka hari ke 0}} \right) \times 100\%$$

n = hari pengukuran (hari ke-4, 8, 12, 16, dan 20)

Pengujian *tensile strength*

Jahitan pada luka di kulit punggung tikus dilepaskan pada hari ke-11 setelah pembuatan luka. Tikus dimatikan pada hari ke-20. Kulit punggung tikus dipotong dengan ukuran 2 x 3 cm untuk uji *tensile strength*. Pengujian dilakukan dengan alat tensiometer yang modifikasi. Kulit dijepit pada sisi kanan dan kiri dengan bidang luka tepat berada di tengah. Penjepit dihubungkan dengan tali yang berfungsi sebagai penahan, sedangkan pada sisi lain dihubungkan pada katrol berisi beban sebagai peregang (Kokane *et al.*, 2009).

Tabel I. Formulasi sediaan gel dengan variasi konsentrasi ekstrak etanol umbi *A. rubiginosa*

Bahan	Konsentrasi			
	Kontrol Negatif	Kelompok Uji 1,5%	Kelompok Uji 2,0%	Kelompok Uji 2,5%
Ekstrak etanol umbi <i>A. rubiginosa</i>	-	1,5 g	2 g	2,5 g
Carbopol 934	1 g	1 g	1 g	1 g
Propilenglikol	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL
Metil paraben	0,18 g	0,18 g	0,18 g	0,18 gr
Propil paraben	0,02 g	0,02 g	0,02 g	0,02 g
TEA	6 tetes	8 tetes	10 tetes	12 tetes
Akuades ad	100 g	100 g	100 g	100 g

Tabel II. Penilaian histopatologi

Parameter dan Deskripsi	Skor
Derajat pembentukan kolagen	
a. Kolagen tampak sangat padat/lapang pandang kecil mikroskop	4
b. Kolagen tampak padat/lapang pandang kecil mikroskop	3
c. Kolagen tampak kurang padat/lapang pandang kecil mikroskop	2
d. Kolagen tampak sangat kurang padat/lapang pandang kecil mikroskop	1
Derajat terjadinya epitelisasi	
a. Epitelisasi tinggi/lapang pandang kecil mikroskop	4
b. Epitelisasi normal/lapang pandang kecil mikroskop	3
c. Epitelisasi rendah/lapang pandang kecil mikroskop	2
d. Tidak ada epitelisasi/lapang pandang kecil mikroskop	1
Jumlah pembentukan pembuluh darah baru	
a. Lebih dari 4 pembuluh darah baru/lapang pandang kecil mikroskop	4
b. 2-4 pembuluh darah baru/lapang pandang kecil mikroskop	3
c. 1-2 pembuluh darah baru/lapang pandang kecil mikroskop	2
d. Tidak ada pembuluh darah baru/lapang pandang kecil mikroskop	1

(Napanggala *et al.*, 2014; Hosseini *et al.*, 2011)

Penambahan beban dilakukan dengan selang waktu 20 detik, dan dihentikan ketika luka kembali terbuka (Arif *et al.*, 2010). Menurut Reddy *et al.* (2008), penentuan *tensile strength* ditentukan dengan rumus:

$$\text{Tensile strength} = \frac{\text{jumlah beban (gram)}}{\text{daerah regangan (mm}^2\text{)}}$$

Pengamatan histopatologi kulit

Sampel kulit yang terluka difiksasi dalam formalin 10% selama 18-24 jam. Sampel dimasukkan ke dalam akuades selama 15 menit setelah fiksasi selesai, kemudian dilakukan dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat dimulai dari alkohol 70%, 80%, 90%, alkohol *absolute* I, dan alkohol *absolute* II. Penjernihan sampel dilakukan menggunakan xylol, dan dilanjutkan dengan pencetakan pada blok parafin. Pembedahan slide setebal 5-6 μm dilakukan dengan mikrotom (Suhita *et al.*, 2013). Pewarnaan HE dilakukan pada preparat untuk

mengevaluasi penutupan jaringan dermis dan *remodelling* (Shukla *et al.*, 1999). Pengamatan kualitatif dilakukan menggunakan mikroskop perbesaran 10x10 kali terkait re-epitelisasi, neokapilerisasi, dan kepadatan kolagen sesuai Tabel II.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengukuran panjang penutupan luka dianalisis kuantitatif secara statistik, sedangkan untuk pengujian *tensile strength* dan pengamatan histopatologi dianalisis secara kualitatif. Normalitas data diuji dengan metode *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas sebaran data dengan metode *Levene's Test*. Analisis *One Way ANOVA* dilakukan jika data diketahui terdistribusi normal dan homogen untuk melihat adanya perbedaan bermakna antara hasil yang diperoleh terhadap variabel kontrol dengan tingkat kepercayaan 95% ($p < 0,05$), dan jika terdapat perbedaan bermakna maka dilanjutkan dengan *Post-Hoc Test*.

Tabel III. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol umbi *A. rubiginosa*

No.	Uji	Hasil	Keterangan
1.	Alkaloid	Terbentuk endapan jingga	(+)
2.	Flavonoid	Terbentuk endapan coklat	(+)
3.	Tanin	Terbentuk endapan hijau kehitaman	(+)
4.	Saponin	Terbentuk busa mantap	(+)

Tabel IV. Hasil organoleptis dan pH sediaan gel ekstrak etanol umbi *A. rubiginosa*

Formulasi	Bentuk	Warna	Bau	pH
Kontrol negatif	Gel, semisolid	Bening, transparan	Khas	5,15
Gel ekstrak 1,5%	Gel, semisolid	Oranye, tembus cahaya	Khas	5,29
Gel ekstrak 2,0%	Gel, semisolid	Oranye kemerahan, tembus cahaya	Khas	5,40
Gel ekstrak 2,5%	Gel, semisolid	Oranye kecoklatan, tembus cahaya	Khas	5,65

Tabel V. Rerata persentase penutupan panjang luka

Kelompok	Rerata persentase penutupan panjang luka (%) \pm SEM			
	Hari ke-4	Hari ke-8	Hari ke-12	Hari ke-16
Kontrol positif	1,00 \pm 0,61	87,00 \pm 0,93*	94,00 \pm 0,61*	99,00 \pm 0,61*
Kontrol negatif	0,50 \pm 0,50	24,00 \pm 1,27	72,50 \pm 1,11	93,50 \pm 1,27
Gel ekstrak 1,5%	1,00 \pm 0,61	27,50 \pm 1,11	80,00 \pm 1,11*	97,50 \pm 0,79*
Gel ekstrak 2,0%	1,00 \pm 0,61	36,00 \pm 1,87*	82,00 \pm 1,45*	98,50 \pm 1,00*
Gel ekstrak 2,5%	1,00 \pm 0,61	40,50 \pm 1,22*	87,00 \pm 1,45*	99,00 \pm 0,61*

Keterangan: *, perbedaan bermakna ($p < 0,05$) terhadap kontrol negatif

Pada data yang tidak terdistribusi normal dapat dilakukan analisis *Kruskal Wallis*, dan jika terdapat perbedaan bermakna maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan ekstrak etanol

Sebelum digunakan dalam penelitian, sampel umbi dideterminasi terlebih dahulu untuk memastikan bahwa bahan uji yang diambil sesuai dengan yang diinginkan. Hasil determinasi (No. 017f/LB.LABDASAR/I/2017) menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah *A. rubiginosa* dari famili Vitaceae. Rendemen ekstraksi umbi *A. rubiginosa* diperoleh sebesar 21,93% (b/b).

Skrining fitokimia ekstrak etanol umbi *A. rubiginosa*

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa aktif dari sampel tumbuhan dengan menambahkan pereaksi tertentu. Berdasarkan hasil pengujian skrining fitokimia yang telah dilakukan ekstrak etanol umbi *A. rubiginosa* diketahui positif mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin (Tabel III). Skrining fitokimia tersebut memperlihatkan kandungan senyawa aktif sesuai dengan

penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Nisbullah (2013).

Sediaan gel ekstrak etanol umbi *A. rubiginosa*

Berdasarkan pemeriksaan organoleptis diketahui bahwa warna dan ketajaman bau gel akan meningkat sebanding dengan konsentrasi ekstrak yang digunakan (Dewantari & Sugihartini, 2015). Pada sediaan yang telah dibuat diketahui terjadi peningkatan pH seiring dengan peningkatan penambahan TEA yang digunakan untuk menjaga kekentalan dari sediaan pada masing-masing konsentrasi ekstrak. Gel luka yang digunakan sebagai kontrol positif dalam penelitian ini (Bioplacenton®) diketahui memiliki pH 5,75. Hasil organoleptis dan pH sediaan gel ekstrak etanol *A. rubiginosa* (Tabel IV).

Panjang penutupan luka

Penentuan peningkatan proses penyembuhan luka salah satunya dilakukan dengan mengukur panjang luka pada hari ke-4, 8, 12, 16 dan 20. Nilai rerata persentase panjang penutupan luka dapat dilihat pada Tabel V.

Berdasarkan penutupan panjang luka terlihat peranan myofibroblas dalam menarik kedua tepi kulit yang terluka sehingga memperpendek panjang luka.

Tabel VI. Rerata *tensile strength*

Kelompok	Rerata <i>tensile strength</i> (gram/mm ²)
Kontrol positif	3,9791 ± 0,35
Kontrol negatif	3,4791 ± 0,00
Gel ekstrak 1,5%	3,1041 ± 0,12
Gel ekstrak 2,0%	3,6041 ± 0,37
Gel ekstrak 2,5%	3,8541 ± 0,12

Tabel VII. Rerata skor histopatologi

Kelompok	Rerata skor ± SEM
Kontrol Positif	15,50 ± 0,50*
Kontrol Negatif	7,50 ± 0,00
Gel ekstrak 1,5%	11,00 ± 1,00
Gel ekstrak 2,0%	14,00 ± 1,00
Gel ekstrak 2,5%	14,50 ± 0,50*

Keterangan: *, perbedaan bermakna ($p < 0,05$) terhadap kontrol negatif

Myofibroblas merupakan fibroblas yang telah terdiferensiasi, bertugas melakukan kontraksi jaringan dan membantu hingga terjadi *remodelling* (Sgonc & Gruber, 2013). Dari tabel dapat terlihat gel dengan kandungan ekstrak etanol umbi *A. rubiginosa* memiliki aktivitas penyembuhan luka dengan perbedaan signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif ($p < 0,05$). Rerata persentase penutupan panjang luka menunjukkan pada hewan uji dengan pemberian gel yang mengandung ekstrak telah mengalami penyembuhan di hari ke-16, sedangkan pada hewan uji kelompok kontrol negatif memerlukan waktu hingga 20 hari di mana luka sudah tertutup sempurna pada semua kelompok. Perbedaan secara fisik dapat terlihat antara kelompok kontrol negatif dan ketiga kelompok uji. Pada kelompok kontrol negatif bekas luka masih nampak jelas dan bulu punggung pada area luka yang baru mulai tumbuh kembali, sedangkan pada ketiga kelompok uji bekas luka tampak samar. Pemberian gel dengan kandungan ekstrak 2,5% menunjukkan kesembuhan luka yang paling tinggi dengan rerata persentase penyembuhan luka 99,00% pada hari ke-16.

Pengujian *tensile strength*

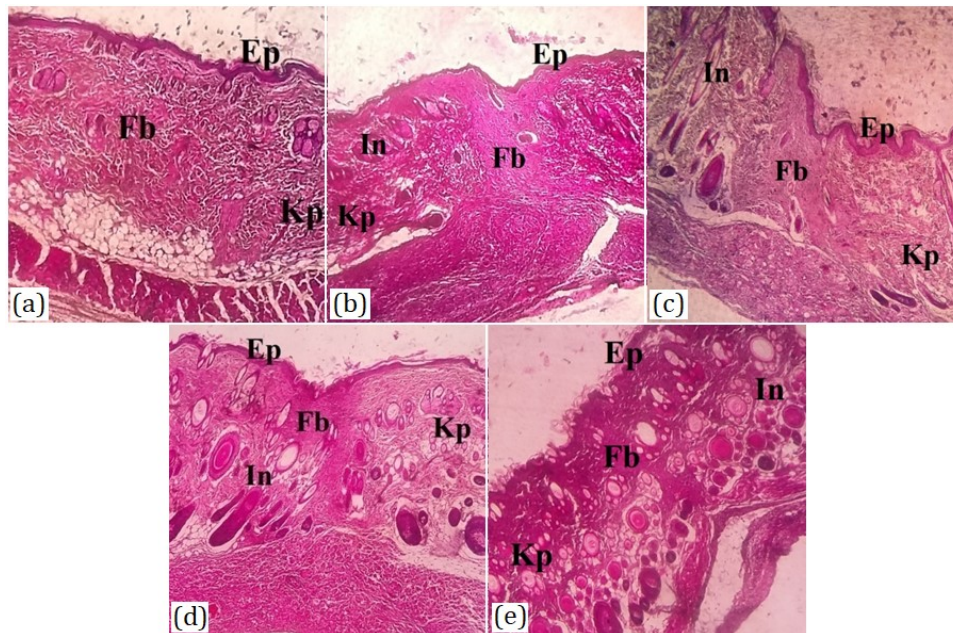
Penyembuhan luka merupakan proses pematangan suatu ikatan fibril disertai kolagen berupa ikatan silang dan intramolekul. Peningkatan *tensile strength* dapat disebabkan oleh peningkatan konsentrasi dan stabilisasi kolagen pada jaringan yang berperan dalam penyembuhan luka (Panda *et al.*, 2011).

Hasil pengujian *tensile strength* dalam Tabel VI memperlihatkan kekuatan tarik pada kelompok uji dengan gel ekstrak 2,0% dan 2,5% lebih baik dibandingkan dengan kontrol negatif. Kekuatan tarik yang baik menunjukkan bahwa kulit yang terluka telah terjalin erat oleh kolagen. Hal ini dapat terjadi karena adanya peningkatan dalam proses pematangan jaringan ikat (Kokane *et al.*, 2009). Hasil yang berbeda ditemukan pada kekuatan tarik kelompok uji dengan gel ekstrak 1,5% yang tidak lebih baik daripada kontrol negatif. Hal ini bisa terjadi karena dipengaruhi oleh faktor individu dari hewan uji yang mungkin cenderung memiliki elastisitas kulit yang berbeda.

Pengamatan histopatologi

Pengamatan mikroskopik ini (Gambar 1) dilakukan untuk melihat tingkat penyembuhan luka berdasarkan reepitelisasi, inflamasi, kepadatan kolagen, dan neokapilerisasi dengan penilaian skor yang selanjutnya digunakan untuk analisis kuantitatif.

Pengamatan secara mikroskopis menunjukkan telah terjadi kerusakan jaringan dermis oleh pembuatan luka insisi pada setiap kelompok perlakuan. Sel inflamasi dan makrofag menunjukkan bahwa proses penyembuhan luka telah melalui fase inflamasi dan terdapatnya aliran suplai darah ke daerah luka berupa neokapilerisasi. Pembentukan pembuluh darah baru akan membantu mempercepat proses regenerasi sel dan normalisasi jaringan. Epitelesasi mulai berlangsung pada fase proliferasi.



Gambar 1. Gambaran mikroskopik tiap kelompok, (a) kontrol positif, (b) kontrol negatif, (c) gel ekstrak 1,5%, (d) gel ekstrak 2,0%, dan (e) gel ekstrak 2,5%. Pewarnaan HE. Perbesaran 10x10 kali. Keterangan: (Ep) = Epitelisasi, (Fb) = Fibrokolagen, (Kp) = Kapilerisasi, (In) = Inflamasi.

Sel-sel epitel mulai berproliferasi pada tepian luka menyusun lapisan baru hingga sel epitel kembali ke fenotip normal dan membran basal (Kartikaningtyas *et al.*, 2015). Pada awal masa penyembuhan, kemampuan fibroblas untuk berkontraksi atau yang disebut myofibroblas akan menarik tepi luka sehingga kedua tepi melekat. Fibroblas diketahui berkemampuan dalam menghasilkan kolagen, sehingga jaringan granulasi yang terbentuk akan mengumpulkan matriks jaringan ikat secara progresif dan akhirnya menghasilkan fibroblas padat berupa jaringan baru (Napanggala *et al.*, 2014).

Pada kelompok dengan pemberian gel *placebo* dan gel ekstrak 1,5% terlihat jaringan ikat yang terbentuk masih kurang padat, sedangkan pada kelompok uji 2,0%, dan 2,5% fibrokolagen yang terbentuk sudah tampak padat. Pembentukan lapisan epitel baru pada kelompok dengan pemberian gel *placebo* dalam jumlah yang sedikit dengan jumlah sel radang yang lebih banyak jika dibandingkan dengan ketiga kelompok uji. Sel inflamasi pada kelompok uji terlihat lebih sedikit jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Proses penyembuhan gel ekstrak etanol umbi *A. rubiginosa* pada kelompok uji memicu peningkatan makrofag sehingga fase inflamasi dapat berlangsung lebih singkat jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

Penilaian skoring dari hasil histopatologi (Tabel VII) dilakukan untuk mempermudah dalam

menentukan aktivitas penyembuhan luka. Semakin tinggi skor yang diperoleh maka aktivitas penyembuhan luka yang terjadi akan semakin optimal.

Pemberian gel ekstrak etanol umbi *A. rubiginosa* dengan konsentrasi gel 2,5% memiliki aktivitas penyembuhan luka tertinggi diantara tiga konsentrasi uji gel ekstrak dengan rerata skor $14,50 \pm 0,50$. Hasil analisis statistik menunjukkan perbedaan bermakna dengan kontrol negatif ($p < 0,05$), sedangkan apabila dibandingkan terhadap kontrol positif tidak memberikan perbedaan bermakna ($p > 0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa secara histopatologi pemberian gel ekstrak etanol umbi *A. rubiginosa* dengan konsentrasi 2,5% dapat memperbaiki jaringan luka tidak ada perbedaan dengan kontrol positif.

Kandungan senyawa aktif dalam gel kelompok uji diduga berperan dalam meningkatkan kesembuhan luka. Hasil skrining fitokimia (Tabel III) menunjukkan ekstrak etanol umbi *A. rubiginosa* mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Menurut hasil penelitian Shang *et al.* (2010) alkaloid diketahui mampu bekerja sebagai analgesik perifer dengan menurunkan produksi PGE₂, serotonin, dan histamin pada lambung yang induksi asam asetat. Hal tersebut berkaitan dengan aktivitasnya sebagai antiinflamasi. Alkaloid diketahui menghambat kerja siklooksigenase dan lipooksigenase (COX-1, COX-2, 5-LOX) sehingga

produksi prostaglandin dan leukotrien juga terhambat. Flavonoid bekerja dengan menghambat produksi asam arakhidonat, prostaglandin, leukotrien, dan sintesis oksidant nitrat, yang merupakan mediator inflamasi (Kim *et al.*, 2004). Mekanisme flavonoid dimulai dengan menghambat kerja asam arakhidonat melalui jalur lipooksigenase dan siklooksigenase yang diikuti dengan terhambatnya produksi prostaglandin, tromboksan, dan leukotrien sehingga terjadi penurunan emigrasi leukosit ke area inflamasi (Ardiana *et al.*, 2015).

Tanin berfungsi sebagai adstringen, yaitu zat yang berikatan pada jaringan yang berfungsi membekukan protein, sehingga membran mukosa kulit menjadi kering dan terbentuk pembatas (*thick junction*) yang bersifat resisten terhadap faktor inflamasi eksternal (Nurhalimah *et al.*, 2015). Tanin juga meningkatkan regenerasi sel dermis maupun epidermis, proliferasi sel, pembentukan jaringan granular, dan epitelisasi (Karodi *et al.*, 2009). Saponin dapat meningkatkan proses penyembuhan luka dengan meningkatkan produksi kolagen serta mempercepat proses epitelisasi (Khan *et al.*, 2012). Pemberian gel luka mampu mendorong pertumbuhan sel epitel yang bertugas untuk melindungi luka dari bakteri dan kehilangan cairan (Mehta *et al.*, 2014).

KESIMPULAN

Ekstrak etanol umbi *A. rubiginosa* memiliki aktivitas penyembuhan luka insisi. Kelompok uji dengan pemberian gel konsentrasi ekstrak 2,5% memiliki aktivitas penyembuhan luka tertinggi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dirjen DIKTI atas pembiayaan penelitian ini melalui skim PEKERTI dengan kontrak penelitian No. 119/UN8.2/PL/2017.

DAFTAR PUSTAKA

Allen, L.V., Jr & Ansel, H.C., 2014, *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Tenth Edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.

Ardiana, T., Kusuma, A.R.P. & Firdaus M.D., 2015, 'Efektivitas Pemberian Gel Binahong (*Anredera cordifolia*) 5% terhadap Jumlah Sel Fibroblast pada Soket Pasca Pencabutan Gigi Marmut (*Cavia cobaya*)', *Odonto Dental Journal*, 2, 64-70.

Arif, A., Chaidir, R., Ismono, D. & Hidajat, N.N., 2010, 'Perbandingan *Tensile Strength* Pasca *Repair* menggunakan Teknik Modifikasi Kessler 2, 4 dan 6 Strand yang dinilai pada Minggu Ketiga Penyembuhan Ruptur

Tendon Achilles Kelinci', *Majalah Orthopaedi Indonesia*, 38, 8-16.

- Arnida, Wahyono, Mustofa, & Asmahsusidarti, R., 2015, 'In Vitro Antiplasmodial Activity of Ethanol Extracts of Borneo Medicinal Plants (*Hydrolea spinosa*, *Ampelocissus rubiginosa*, *Uraria crinite*, *Angiopteri sevecta*)', *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7, 72-75.
- Arum, Y.P., Supartono, & Sudarmin, 2012, 'Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*)', *Jurnal MIPA UNNES*, 35, 165-174.
- Astuti, K.I., Anwar, K. & Biworo, A., 2016, 'Uji Aktivitas Infusa Akar Tawas ut (*Ampelocissus rubiginosa* L.) sebagai Hepatoprotektor terhadap Mencit Putih Jantan Balb/C yang diinduksi Karbon Tetraklorida (CCl₄)', *Jurnal Pharmascience*, 3, 57 - 63.
- Dewantari, D.R. & Sugihartini, N., 2015, 'Formulasi dan Uji Aktivitas Gel Ekstrak Daun Petai Cina (*Leucaena glauca*, Benth) sebagai Sediaan Obat Luka Bakar', *Farmasains*, 2, 217-222.
- Farouk, L., A. Laroubi, R. Aboufatima, A. Benharref, & A. Chatt, 2008, 'Evaluation of The Analgesic Effect of Alkaloid Extract of *Peganum harmala* L.: Possible Mechanisms Involved', *Journal of Ethnopharmacology*, 115, 449-454.
- Karodi, R., Jadhav, M., Rub, R. & Bafna, A., 2009, 'Evaluation of The Wound Healing Activity of a Crude Extract of *Rubia cordifolia* L. (Indian madder) in Mice', *International Journal of Applied Research in Natural Products*, 2, 12-18.
- Kartikaningtyas, A.T., Prayitno, & Lastiannya, S.P., 2015, 'Pengaruh Aplikasi Gel Ekstrak Kulit *Citrus sinensis* terhadap Epitelisasi pada Penyembuhan Luka Gingiva Tikus *Sprague Dawley*', *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 1, 86-93.
- Khaharap, E., 2012, 'Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Akar Tawas ut (*Ampelocissus rubiginosa* Lauterb.) pada *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro', *Skripsi*, Program Studi Farmasi, Universitas Lambung Mangkurat.
- Khan, M.M.A.A., Naqvi, T.S. & Naqvi, M.S., 2012, 'Identification of Phytosaponins as Novel Biodynamic Agents: An Updated Overview', *Asian Journal Experimental Biological Sciences*, 3, 459-467.
- Kim, H.P., Son, K.H., Chang, H.W. & Kang, S.S., 2004, 'Anti-inflammatory Plant Flavonoids and

- Cellular Action Mechanisms', *Journal of Pharmacological Sciences*, 96, 229-245.
- Kokane, D.D., More, R.Y., Kale, M.B., Nehete, M.N., Mehendale, P.C. & Gadgoli, C.H., 2009, 'Evaluation of Wound Healing Activity of Root of *Mimosa pudica*', *Journal Ethnopharmacology*, 124, 311-315.
- Kumar, M.S., Kirubanandan, S., Sripriya, R. & Sehgal, P.K., 2008, 'Triphala Promotes Healing of Infected Full-Thickness Dermal Wound', *Journal of Surgical Research*, 144, 94-101.
- Marliana, S.D., V. Suryanti, & Suyono, 2005, 'Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol', *Biofarmasi*, 3, 26-31.
- Mehta, B.K., Pattnaik, A. & Kumar, A., 2014, 'Enhancement and Validation of Wound Healing Activity with Herbal Gel Formulated from Sub-Fraction of *Buchnanian lanzan* Spreng. Bark Extract', *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6, 281-286.
- Mehta, D.P., Rathod, H.J., Shah, D.P. & Shah, C.N., 2015, 'Review on Microemulsion Based Gel: A Recent Approach for Topical Drug Delivery System', *Research J. Pharm. And Tech.* 8, 118-126.
- Meskin, M.S., W.R. Bidlack, A.J. Davies, D.S. Lewis, & R.K. Randolph, 2004, *Phytochemicals Mechanisms of Action*, CRC Press, Boca Raton.
- Miladiyah, I. & Prabowo, B.R., 2012, 'Ethanol Extract of *Anredera cardifolia* (Ten.) Steens Leaves Improved Wound Healing in Guinea Pigs', *Universa Medicina*, 31, 4-11.
- Morison, M.J., 2004, *Manajemen Luka*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Napanggala, A., Susanti, & Apriliana, E., 2014, 'Effect of *Jatropha*'s (*Jatropha carcas L.*) Seed Topically to The Level of Cuts Recovery on White Rats Sprague dawley Strain', *J. Majority*, 3, 26-35.
- Nasrabadi, M.H., Ebrahimi, M.T., Banadaki, S.D., Kajousangi, M.T. & Zahedi, F., 2011, 'Study of Cutaneous Wound Healing in Rats Treated with *Lactobacillus plantarum* on Days 1, 3, 7, 14, and 21', *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5, 2395-2401.
- Nayak, B.S., S. Sandiford, & A. Maxwell, 2009, 'Evaluation of The Wound-healing Activity of Ethanol Extract of *Morinda citrifolia* L. Leaf', *Evidence-based Complement Alternative Medicine*, 6, 351-356.
- Nisbullah, R.V., 2013, 'Formulasi dan Evaluasi Sediaan Salep Ekstrak Etanol Akar Tawas ut (*Ampelocissus rubiginosa* Lauterb.) dengan Variasi Konsentrasi Vaseline Album dan Cera Alba', *Skripsi*, Program Studi Farmasi, Universitas Lambung Mangkurat.
- Nurhalimah, H., Wijayanti, N. & Widyaningsih, T.D., 2015, 'Efek Antidiare Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap Mencit Jantan yang diinduksi Bakteri *Salmonella thypimurium*', *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3, 1083-1094.
- Panda, V., Sonkamble, M. & Patil, S., 2011, 'Wound Healing Activity of *Ipomea batatas* Tubers (Sweet Potato)', *Functional Foods in Health and Disease*, 10, 403-415.
- Prasetyo, B.P., Wientarsih, I. & Prioeryanto, B.P., 2010, 'Aktivitas Sediaan Gel Ekstrak Batang Pohon Pisang Ambon dalam Proses Penyembuhan Luka pada Mencit', *Jurnal Veteriner*, 11, 70-73.
- Reddy, B.S., Reddy, R.K.K., Naidu, V.G.M., Madhusudhana, K., Agwane, S.B., Ramakrishna, S. & Diwan, P.V., 2008, 'Evaluation of Antimicrobial, Antioxidant and Wound-Healing Potentials of *Holoptelea integrifolia*', *Journal of Ethnopharmacology*, 115, 249-256.
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, diterjemahkan Padnawinata K, Edisi ke-6, Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Sabirin, I.P.R., Maskoen, A.M. & Hernowo, B.S., 2013, 'Peran Ekstrak Etanol Topikal Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) pada Penyembuhan Luka ditinjau dari Imunoekspresi CD34 dan Kolagen pada Tikus Galur Wistar', *Majalah Kedokteran Bandung*, 45, 226-233.
- Sgonc, R. & Gruber, J., 2013, 'Age-Related Aspects of Cutaneous Wound Healing: A Mini-Review', *Gerontology*, 59, 159-164.
- Shang, J.H., Cai, X.H., Feng, T., Zhao, Y.L., Wang, J.K., Zhang, L.Y., Yan, M. & Luo, X.D., 2010, 'Pharmacological Evaluation of *Alstonia scholaris*: Anti-inflammatory and Analgesic Effects', *Journal Ethnopharmacology*, 129, 174-181.
- Shukla, A., Rasik, A.M., Jain, G.K., Shankar, R., Kulshrestha, D.K. & Dhawan, B.N., 1999, 'In Vitro and In Vivo Wound Healing Activity of Asiaticoside Isolated from *Centella asiatica*', *Journal of Ethnopharmacology*, 65, 1-11.
- Solihah, M.A., W.I.W. Rosli, & A.R. Nurhanan, 2012, 'Phytochemicals Screening and Total Phenolic Content of Malaysian *Zea mays*

- Hair Extracts', *International Food Research Journal*, 19, 1533-1538.
- Tranggono, R.I. & Latifah, F., 2007, *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*, Penerbit Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Wijaya, J.I., 2013, 'Formulasi Sediaan Gel *Hand Sanitizer* dengan Bahan Aktif Triklosan 1,5% dan 2%', *Calyptra*, 2, 1-14.
- Zahra, A.A., Kadir, F.A., Mahmood, A.A., Al Hadi, A.A., Suzy, S.M., Sabri, S.Z., Latif, I.I. & Ketuly, K.A., 2011, 'Acute Toxicity Study and Wound Healing Potential of *Gynura procumbens* Leaf Extract in Rats', *Journal of Medicinal Plants Research*, 5, 2551-2558.