

ARTIKEL PENELITIAN

Pengaruh Pemberian Salep Ekstrak Etanol Daun Sirih terhadap Jumlah Fibroblas Penyembuhan Luka *Rattus novergicus*

Dwi Ayu Wulandari¹, Muhammad In'am Ilmiawan², Mardhia³

1. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat

Korespondensi: Dwi Ayu Wulandari, email: dwiayuw@gmail.com HP: 082214708484

Abstrak

Tujuan: Mengetahui efek salep ekstrak etanol 70% daun sirih terhadap jumlah fibroblas pada penyembuhan luka tikus putih jantan galur Wistar. **Metode:** Penelitian menggunakan 30 tikus yang dibagi menjadi 2 kelompok yang terdiri pengamatan hari ke-7 dan hari ke-14. Setiap kelompok pengamatan terdiri 5 kelompok, kelompok kontrol Negatif (KN), kelompok kontrol Positif (KP), kelompok Sirih 7,5% (SI), kelompok Sirih 15% (SII), kelompok Sirih 30% (SIII). Analisis data rerata jumlah fibroblas pada tiap kelompok perlakuan pada hari ke-7 menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan dilanjutkan uji *Kruskal-Wallis*. Uji *one way ANOVA* dan dilanjutkan uji *Pos Hoc LSD* untuk melihat hasil perbandingan rerata jumlah fibroblas pada hari ke 14 untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan. **Hasil:** Rerata jumlah fibroblas antar kelompok perlakuan ekstrak daun sirih lebih kecil dibandingkan dengan kedua kelompok kontrol pada hari ke-7 dan hari ke-14. **Kesimpulan:** Salep ekstrak etanol 70% daun sirih dosis 7,5%, 15% dan 30% tidak efektif meningkatkan jumlah fibroblas pada hari ke-7 dan hari ke-14.

Kata kunci: Penyembuhan luka; fibroblas; daun sirih (*Piper betle Linn*).

Abstract

Objective: To determine the effect of 70% ethanol extract of betel leaf ointment on the number of fibroblasts in wound healing of male white Wistar rats. **Methods:** The study used 30 rats which were divided into 2 groups consisting of the 7th and 14th day of observation. Each observation group consisted of 5 groups, Negative control group (NC), Positive control group (PC), Sirih group 7.5% (SI), Sirih group 15% (SII), Sirih group 30% (SIII). Data analysis mean number of fibroblasts in each treatment group on day 7 used the *Shapiro-Wilk* test then continued with the *Kruskal-Wallis* test. The *one way ANOVA* test was followed by the *LSD Post Hoc* test to see the results of the comparison the mean number of fibroblasts on day 14 to determine differences between treatment groups. **Results:** The mean number of fibroblasts between the betel leaf extract treatment groups was smaller than the two control groups on 7th and 14th day. **Conclusion:** Betel leaf 70% ethanol extract ointment with doses of 7.5%, 15% and 30% was not effective in increasing the number of fibroblasts on 7th and 14th day.

Keywords: Wound healing; fibroblast; betel leaves (*Piper betle Linn*.)

PENDAHULUAN

Luka merupakan suatu keadaan hilang atau rusaknya sebagian dari jaringan tubuh.¹ Ketika terjadi perlukaan pada jaringan kulit, proses kesembuhan dan regenerasi sel terjadi secara otomatis sebagai respon fisiologis tubuh melalui tiga fase proses penyembuhan, yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase remodelling. Pada fase proliferasi akan terlihat peningkatan jumlah sel dan faktor-faktor penyembuhan luka, salah satunya yaitu terjadi proliferasi fibroblas.² Sel fibroblas merupakan sel yang paling umum ditemui pada jaringan ikat dan mensintesis beberapa komponen matriks ekstraseluler (kolagen, elastin, retikuler), beberapa makromolekul anionik (glikosaminoglikans, proteoglikans serta glikoprotein multi adhesiv, laminin, dan fibronektin) yang dapat mendorong perlekatan sel pada substrat. Di samping itu, sel fibroblas mensekresikan sitokin dan beberapa faktor pertumbuhan (*growth factors*) diantaranya dapat menstimulasi proliferasi sel dan menghambat proses diferensiasi. Fibroblas menjadi agen utama dalam proses penyembuhan luka.³

Proses penyembuhan luka dapat menggunakan cara-cara tradisional seperti tanaman sebelum obat-obatan penyembuh luka yang beredar di pasaran ditemukan.⁴ Mahalnya obat sintesis membuat masyarakat beralih ke tanaman obat.⁵ Daun sirih hijau memiliki kandungan tanin, saponin, dan flavonoid yang berfungsi sebagai antimikrob serta mempunyai daya antiseptik seperti halnya dengan antibiotika.⁶ Salep ekstrak etanol daun sirih mampu mempercepat proses penyembuhan luka serta salep daun sirih dapat dimanfaatkan dan menjadi alternatif terapi baru untuk penyembuhan luka.⁷ Berdasarkan penjelasan diatas, peneliti

tertarik untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian salep ekstrak etanol 70% daun sirih (*Piper betle Linn.*) terhadap jumlah fibroblas pada penyembuhan luka tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*), yang dikembangkan dalam penelitian ini sebagai bahan topikal atau herbal yang dapat menyembuhkan luka.

METODE

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan desain *post test only controlled*. Penelitian menggunakan 30 tikus yang dibagi menjadi 2 kelompok yang terdiri pengamatan hari ke-7 dan hari ke-14. Setiap kelompok pengamatan terdiri 5 kelompok, kelompok kontrol Negatif (KN), kelompok kontrol Positif (KP), kelompok Sirih 7,5% (SI), kelompok Sirih 15% (SII), kelompok Sirih 30% (SIII).

Pengamatan jumlah fibroblas dilakukan pada sampel kulit yang telah diambil pada hari ke-7 dan 14. Pemotretan dilakukan dengan foto digital, kemudian sel fibroblas dihitung menggunakan aplikasi ImageJ dan diamati dalam 10 lapang pandang secara acak. Pengamatan dilakukan oleh dua pengamat.⁸ Analisis menggunakan Uji *Shapiro-Wilk* dan dilanjutkan Uji *Kruskal-Wallis*. Uji *one way ANOVA* dan dilanjutkan Uji *Pos Hoc LSD* untuk melihat hasil perbandingan rerata jumlah fibroblas pada hari yang berbeda dengan kelompok yang sama.

Hewan coba sebelumnya di anestesi terlebih dahulu menggunakan inhalasi klorofom. Setelah itu, rambut dicukur di beri cetakan luka yang berukuran diameter 2 cm dan kedalaman 0,25 cm dengan cara kulit diregangkan dengan jari telunjuk dan ibu jari tangan kiri bertindak sebagai peregang dan penekan. Ukuran luka menggunakan

cetakan namun tidak menutup kemungkinan ukuran luka menjadi sama.⁹ Pembuatan ekstrak etanol daun sirih dilakukan dengan metode maserasi. Setelah mendapatkan ekstrak kentalnya kemudian dicampurkan dengan salep dasar (vaselin album dan cera alba). Salep daun sirih diaplikasikan 2 kali sehari pada hewan coba. Pengambilan sampel kulit menggunakan teknik biopsi eksisional.¹⁰ Preparat histopatologi dibuat dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dirancang untuk mengetahui pengaruh salep ekstrak etanol 70% daun sirih dengan berbagai dosis yang diberikan secara topikal terhadap jumlah fibroblas pada proses penyembuhan luka fase proliferasi. Hasil menunjukkan bahwa rerata jumlah fibroblas pada hari ke-14 lebih besar dibandingkan dengan rerata jumlah fibroblas pada hari ke-7.

Tabel 1. Uji *Independent Sample T-Test* dan *Mann-Whitney* Rata-rata Jumlah Fibroblas Hari Ke-7 dan Hari Ke-14 Antar Semua Kelompok Perlakuan

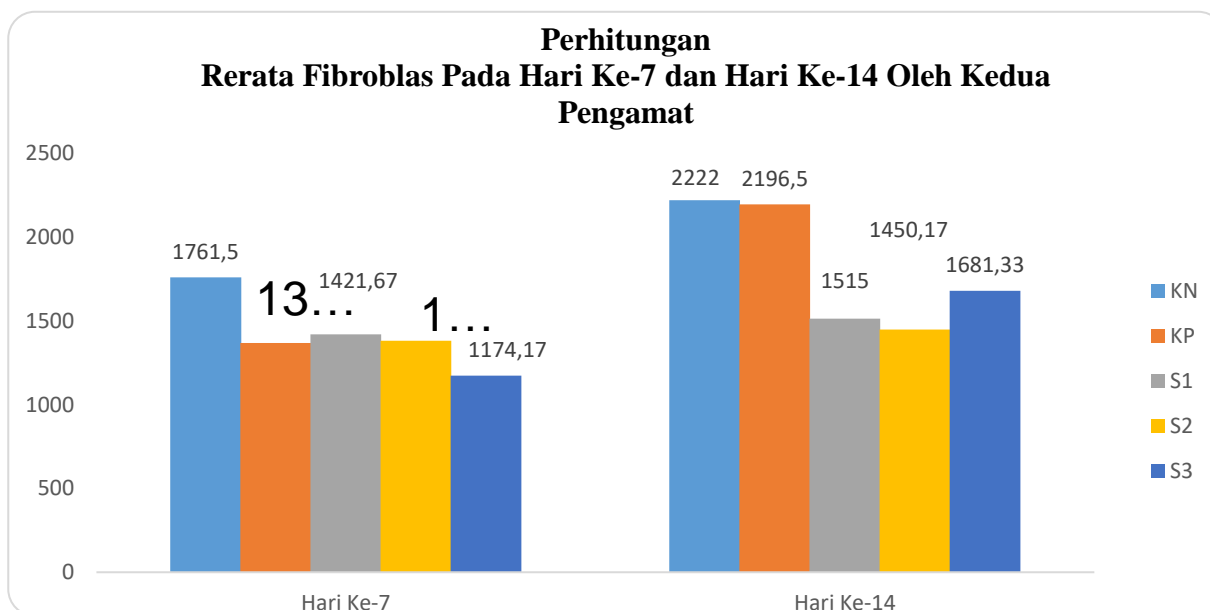
	KNH1 4	KPH14	S1H14	S2H14	S3H14
KN H7 (T- Test)	0.285				
KP H7		0.013* (T-Test)			
S1 H7			0.533 (T-Test)		
S2 H7				0.859 (T-Test)	
S3 H7					0.050* (Mann- Whitney)

Keterangan: (*): Perbedaan signifikan

Uji statistik pada tabel 1 menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p < 0,05$) pada kelompok kontrol positif hari ke-7 terhadap kelompok kontrol positif hari ke-7 ($p = 0,013$), dan kelompok daun sirih dosis 30% hari ke-7 terhadap kelompok daun sirih dosis 30% hari ke-14 ($p = 0,050$). Namun tidak terdapat perbedaan bermakna ($p > 0,05$) pada kelompok kontrol negatif hari-7 terhadap kelompok kontrol negatif hari ke-14, kelompok daun sirih dosis 7,5% hari ke-7 terhadap kelompok daun sirih dosis 7,5% hari ke-14, kelompok daun sirih dosis 15% hari ke-7 terhadap kelompok daun sirih dosis 15% hari ke-14.

Hasil ini sesuai dengan laporan Fannani yang menyimpulkan bahwa lama penyembuhan luka iris kulit terjadi setelah 7 hari dengan salep ekstrak etanol daun sirih, dengan povidon iodine atau vaselin album.⁷

Migrasi fibroblas pada area perlukaan distimulasi oleh *transforming growth factor* (TGF), yaitu faktor pertumbuhan yang dihasilkan oleh jaringan granulasi yang terbentuk selama proses inflamasi. Proses penyembuhan luka sangat dipengaruhi oleh peranan migrasi dan proliferasi fibroblas pada area perlukaan. Proliferasi fibroblas pada tahap penyembuhan luka mengindikasikan adanya proses penyembuhan yang berlangsung cepat. Proses utama pertumbuhan fibroblas akan terjadi di hari ke-7 sampai ke-14 pasca perlukaan dan setelah itu akan terus terjadi penyempurnaan sampai struktur kulit akan kembali normal.¹¹



Gambar 1 Grafik rerata jumlah Fibroblas pada hari ke 7 dan ke-14 Pada Semua Kelompok Perlakuan. (a) Uji statistik menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara kelompok KPH7 dengan KPH14 ($p < 0,05$), (b) Kelompok S3H7 dengan S3H14 ($p < 0,05$).

Pada gambar 1, kelompok kontrol negatif pada penelitian ini diharapkan memiliki jumlah fibroblas lebih rendah dibandingkan kelompok perlakuan lainnya, namun kelompok kontrol negatif memiliki jumlah fibroblas yang paling tinggi pada hari ke-7 dan hari ke-14. Hal ini berarti bahwa kelompok kontrol negatif menunjukkan penyembuhan luka yang lebih baik dibandingkan dengan kelompok lainnya.

Tabel 2 Uji *Post Hoc* LSD Rata-rata Jumlah Fibroblas Hari Ke-14 Antar Semua Kelompok Perlakuan

	KP	KN	S1	S2	S3
KP		0.854	0.000*	0.000*	0.003*
KN			0.000*	0.000*	0.002*
S1				0.641	0.245
S2					0.117

Keterangan: (*): Perbedaan signifikan

Pada hari ke-7 Kelompok S1 dengan dosis 7,5% menunjukkan jumlah fibroblas yang lebih besar dibandingkan kelompok sampel lainnya berdasarkan angka namun secara uji statistik kruskal wallis tidak menunjukkan adanya perbedaan bermakna karena p yang didapat adalah 0,509 ($p > 0,05$). Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa salep ekstrak etanol daun sirih tidak dapat meningkatkan jumlah fibroblas pada hari ke-7. Hasil ini sesuai dengan laporan Fannani yang menyimpulkan bahwa lama penyembuhan luka iris kulit terjadi setelah 7 hari dengan salep ekstrak etanol daun sirih, dengan povidon iodine atau vaselin album.⁷

Pada hari ke-14 Kelompok S3 dengan dosis 30% menunjukkan dosis yang paling optimal dibandingkan dengan kelompok sampel lainnya.

Pada hasil uji *Post Hoc* LSD, antara kelompok kontrol negatif dengan semua kelompok sampel didapatkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$), demikian juga

kelompok kontrol positif dengan semua kelompok sampel ($p < 0,05$).

Daun sirih mengandung saponin, flavonoid, dan tanin. Kandungan saponin mempunyai kemampuan sebagai antiseptik. Saponin dapat memicu *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan meningkatkan jumlah makrofag bermigrasi ke area luka sehingga meningkatkan produksi sitokin yang akan mengaktifkan fibroblas di jaringan luka.¹² Flavonoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan suatu tanaman dan bisa dijumpai pada bagian daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga dan biji.¹³ Flavonoid dapat membantu penyembuhan luka dengan meningkatkan pembentukan kolagen, makrofag dan mengurangi edema jaringan serta meningkatkan jumlah fibroblas.¹⁴ Tanin mempunyai kemampuan sebagai astringen, antioksidan dan antibakteri.^{15,16} Tanin mempercepat penyembuhan luka dengan beberapa mekanisme seluler yaitu membersihkan radikal bebas dan oksigen reaktif, meningkatkan penyembuhan luka serta meningkatkan pembentukan pembuluh darah kapiler dan juga meningkatkan jumlah fibroblas.¹⁷ Hasil dari penelitian yang telah dilakukan tidak sesuai dengan pernyataan di atas diduga karena daun sirih mengandung flavonoid yang memiliki efek antiinflamasi.

Respon inflamasi, yang ditandai dengan gerakan cairan dan leukosit dari darah ke dalam jaringan ekstrasvaskular, diatur oleh beberapa mediator termasuk sitokin, eikosanoid, nitrat oksida (NO) dan oksigen reaktif, yang diproduksi sebagai bagian dari kekebalan yang diatur responnya oleh limfosit dan makrofag. Ekstrak etanol daun sirih dapat mengurangi produksi intraseluler nitrit oksida (NO) hal ini karena adanya senyawa fenolik, chevetol dan allylpyrocatechol, dan glikosida masing-masing di dalam daun sirih

yang menunjukkan adanya aktivitas anti-inflamasi yang dapat mempengaruhi penurunan edema. Daun sirih akan menghambat pelepasan inhibitor inflamasi seperti prostaglandin, yang berpuncak pada penekanan peradangan. Ganguly, menyimpulkan bahwa aktivitas antiinflamasi dari ekstrak etanol daun sirih yang dimediasi oleh penekanan produksi NO akan mengakibatkan penghambatan pelepasan mediator inflamasi.¹⁸

Pada proses penyembuhan luka pada fase inflamasi sel radang akan teraktivasi, hal ini bertujuan untuk mencegah terjadinya infeksi pada luka. Setelah melaksanakan fungsi fagositosis, neutrofil akan difagositosis oleh makrofag atau mati.¹⁹ Neutrofil memproduksi faktor – faktor pertumbuhan yang akan berikatan dengan reseptor yang berada di dinding fibroblas dan akan merangsang fibroblas untuk berproliferasi. Neutrofil memproduksi faktor – faktor pertumbuhan seperti *Platelet Derivate Growth Factor* (PDGF), *Basic Fibroblast Growth Factor* (bFGF), dan *Transforming Growth Factor-β* (TGF-β).²⁰ Neutrofil yang telah mati akan mengakibatkan penurunan jumlah neutrofil. Penurunan jumlah neutrofil menyebabkan penurunan jumlah fibroblas. Jumlah fibroblast yang berkurang dapat mengakibatkan proliferasi fibroblas dan migrasi fibroblas terhambat. Hal tersebut mengakibatkan terhambatnya proses penyembuhan luka. Zuhro 2018 menyatakan, ekstrak etanol daun sirih dapat menurunkan jumlah total leukosit, dan menurunkan jumlah jenis leukosit khususnya neutrofil dan limfosit.²¹

Kandungan daun sirih juga dapat menurunkan jumlah neutrofil yaitu flavonoid yang dapat menghambat degranulasi netrofil, sehingga secara langsung mengurangi pelepasan asam arakhidonat oleh netrofil. Mekanisme

flavonoid sebagai antiinflamasi terjadi melalui efek penghambatan jalur metabolisme asam arakidonat, jalur siklooksigenase, jalur lipooksigenase, pembentukan prostaglandin, pelepasan histamin, dan aktivitas antioksidannya. Selama inflamasi, berbagai mediator turunan endotel dan faktor komplemen menyebabkan adhesi leukosit ke dinding endotel sehingga menyebabkan leukosit menjadi immobil dan menstimulasi degranulasi netrofil.²¹

Kelompok kontrol negatif dengan pemberian basis salep pada hari ke-7 dan hari ke-14 memiliki hasil lebih baik dibandingkan kontrol positif dan kelompok daun sirih. Secara umum penyembuhan luka merupakan proses alami tubuh dalam regenerasi kerusakan jaringan kulit dan epidermal namun tingkat penyembuhannya sangat lambat.²² Kusumawardhani menyatakan bahwa kelompok kontrol normal saline 0,9 % adalah kelompok optimal terhadap peningkatan jumlah fibroblas.²³

DAFTAR PUSTAKA

1. Sjamsuhidajat R, Wim de Jong. Buku ajar ilmu bedah Ed 4. Jakarta: EGC. 2017.
2. Sumbayak EM . Fibroblas : struktur dan perannya dalam penyembuhan luka. Jakarta : Universitas Kristen Krida Wacana. 2015
3. Mescher, A.L. Histologi dasar junqueira, teks dan atlas Edisi 12. Jakarta: EGC. 2011
4. Dimalouw, AD. Efek ekstrak etanol batang bratawali (*Tinospora crispa (L) Miers*) dalam mempercepat lama penyembuhan luka pada mencit galur

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa salep ekstrak etanol 70% daun sirih dosis 7,5%, 15% dan 30% tidak berpengaruh terhadap peningkatan jumlah fibroblas pada hari ke-7 dan hari ke-14. Hal ini diduga karena daun sirih mengandung flavonoid yang memiliki efek antiinflamasi. Secara umum penyembuhan luka merupakan proses alami tubuh dalam regenerasi kerusakan jaringan kulit dan epidermal namun tingkat penyembuhannya sangat lambat. Tidak ditemukan dosis salep ekstrak etanol 70% daun sirih yang paling efektif diantara dosis 7,5%, 15% dan 30% untuk mendukung peningkatan jumlah fibroblas penyembuhan luka.

DUKUNGAN FINANSIAL

Tidak ada.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tidak ada.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada.

Swiss Webster betina. Bandung: Universitas Kristen Maranatha. 2009.

5. Mursito. Ramuan tradisional untuk kesehatan anak. Jakarta: Penebar Swadaya. 2001.
6. Shetty S dan Vijayalaxmi KK. Phytochemical investigation of extract/solvent fractions of *Piper nigrum linn.* seeds and *Piper betle linn.* leaves. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2012. 3(2): 344-349
7. Fannani MZ, Nugroho T. Pengaruh salep ekstrak etanol daun sirih (*Piper Betle*) terhadap penyembuhan luka

- iris pada tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*). Yogyakarta: FKUII. 2014.
8. Dahlan MS. Statistik kedokteran dan kesehatan edisi 5. Jakarta:Salemba Medika;2011.
 9. Rairisti ASA. Uji aktivitas ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu L.*) terhadap penyembuhan luka sayat pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar. Skripsi Fak Kedokt Univ Tanjungpura. 2014.
 10. Suyatno, EP. Diagnostik dan terapi bedah onkologi. Sagung Seto; 2014.
 11. Kanzaki T, Moraski N, Shiina R, Saito Y. Role of transforming growth factor- β pathway in the mekanisme of wound healing by saponin from ginseng radix rubra. *British Journal Pharmacology*. 1998. 125: 255-62
 12. Reddy BK, Gowda S, Arora AK. Study of wound healing activity of aqueous and alcoholic bark extracts of acacia catechu on rats. RGUHS
 13. Sriningsih, Adji HW, Sumaryono W, Wibowo AE, Caidir, Firdayani, et al. Analisa senyawa golongan flavonoid herba tempuyung (*Sonchus arvensis L.*). Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila.; 2002.
 14. Ambiga, Narayanan, Gowri D, Sukumar, Madhavan. Evaluation of wound healing activity of flavonoids from *Ipomoea carnea Jacq.* *Anc Sci Life*.2007;XXVI:45–51.
 15. Nafiu, Olugbemi, Mikhail A, Adewumi M, Yakubu, Toyin M. Phytochemical and mineral constituents of *cochlospermum planchonii* (Hook. Ef. X Planch) Root. *Bioresearch Bull*. 2011;5:51–6.
 16. Lai HY, Lim YY, Kim KH. Potential dermal wound healing agent in *Blechnum orientale Linn.* *BioMed Cent Complementary Altern Med*.2011;11:62.
 17. Sheikh AA, Sayyed Z, Siddiqui AR, Pratapwar AS, Sheakh SS. Wound healing activity of *Sesbania grandiflora Linn* flower ethanolic extract using excision and incision wound Model in Wistar Rats. *Int J PharmTech Res*. 2011;3(2):895–8.
 18. Ganguly, S., Mula, S., Chattopadhyay, S., and Chatterjee, M. An ethanol extract of *Piper betle Linn.* mediates its anti-inflammatory activity via down-regulation of Nitric Oxide. *JPP*. 2007;59: 1-8.
 19. Freedberg IM, Eiser AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI. *Fitzpatrick's dermatology in general medicine*, 6th ed, New York: McGraw-Hill; 2003. p. 2013.
 20. Diegelmann R, Evans MC. Wound Healing: An overview of acute, fibrotic and delayed healing, *Frontiers in Bioscenci*.2004.
 21. Zuhroh, F. Uji efek antiinflamasi ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle L.*) dan pengaruhnya terhadap jumlah leukosit pada tikus jantan yang diinduksi Karagenan. Fakultas Farmasi . Medan : Universitas Sumatera Utara. 2018.
 22. Sabale P, Bhimani, Prajapati, V S. An Overview of Medicinal Plants as Wound Healers. *J Appl Pharm Sci*. 2012;2(11):143–50.
 23. Kusumawardhani AD, Kalsum U. Rini IS. Effect of betel leaves extract ointment (*Piper betle Linn.*) on the number of fibroblast in IIA degree burn wound on Rat (*Rattus norvegicus*) Wistar Strain. *Maj Kesehat FKUB*. 2015;2(1):16–28.