



WOUND HEALING ACTIVITY OF UNGUENTUM DOSAGE FORM OF ETHANOLIC EXTRACTS OF *Areca catechu* L. NUT IN *Mus musculus albinus*

Azizah Vonna, Rizky Nurismi dan Misrahanum*

Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh
E-mail: misra.hanum@yahoo.co.id

Abstract. The activity test of ethanol extract of betel nut ointment (*Areca catechu* L.) in wound healing on mice (*Mus musculus albinus*) has been carried out to determine the ability of the ethanol extract of betel nut ointment in wound healing and determine the concentration which was accelerate the wound healing on mice between 2 concentrations. This experimental research method used completely randomized design (CRD) using 20 mices divided into 4 treatment groups ; ointment base, povidone iodine ointment, ethanol extract of betel nut ointment (SEEBP) 2% and SEEBP 4%. Each treatment groups was tested in the incision which was made along the 15 mm parallel to the spine (Os. Vetebre) with the depth until subcutaneous skin layers. The ointment was applied twice a day for about 21 days and observed changes every day for during the period of observation. The results showed that the average length of time of the scab formation, the scab exfoliation, and the wound healing successively are for the ointment base was 6.6; 10.2 and 18.2 days, povidone iodine ointment was 7; 11.2 and 14.8 days, SEEBP 2% was 5.75; 7.75 and 13.25 days, SEEBP 4% was 4.2; 8.8 and 12.8 days. ANOVA and LSD results of scab formation time showed a significant difference between SEEBP 4% with base ointment and povidone iodine ointment ($p < 0.05$). Results of the exfoliation scab showed a significance difference between SEEBP 2% with base ointment and povidone iodine ointment ($p < 0.05$). The duration of wound healing showed that there was significance difference between SEEBP 2%, SEBP 4% and povidone iodine ointment with ointment base ($p < 0.05$). Thus, betel nut ointment as an effect on healing process. The concentration which can accelerate wound healing in mice is SEEBP 4%.

Keywords: Wounds incision, ethanol extract of betel nut ointment, wound healing, mice

IPENDAHULUAN

Keanekaragaman tumbuhan yang ada di Indonesia telah digunakan sebagai sumber obat tradisional. Salah satunya tumbuhan suku palem yaitu pinang (*Areca catechu* L.). Air rebusan buah, daun, serabut biji dan biji pinang memiliki manfaat yang berbeda-beda. Air rebusan buah dimanfaatkan sebagai obat mimisan, daun untuk meningkatkan nafsu makan dan sakit pinggang (lumbago), serabut biji digunakan untuk mengobati gangguan pencernaan (dyspepsia), sembelit, edema dan beri-beri sedangkan biji digunakan untuk obat cacangan, taeniasis, fasciolopsiasis, perut kembung, edema, luka, batuk berdahak, diare, terlambat haid, keputihan, beri-beri, malaria, memperkecil pupil mata (miosis) pada

penderita glaukoma [1]. Menurut Sulastri, dkk biji pinang dapat digunakan sebagai obat penyembuh luka [2]. Data studi ilmiah tentang manfaat biji pinang sebagai obat masih sedikit. Diantara sekian banyak efek yang diduga dapat dihasilkan oleh biji pinang, penulis mencoba menguji salah satu aktivitasnya yaitu sebagai obat penyembuhan luka. Pemilihan biji pinang sebagai obat penyembuhan luka didasari oleh kandungan senyawa kimia dari biji pinang. BPOM menyebutkan bahwa kandungan biji pinang tersusun atas alkaloid arekolin, arekaidin, arekolidine, arekain, guvakolin, guvasine dan isoguvasin, tanin, nikotin, glusida [3]. Senyawa alkaloid arekolin dan arekaidin diduga berkhasiat sebagai agen hemostatik [4]. Biji pinang mengandung senyawa flavonoid dan saponin yang berguna sebagai antimikroba, selain sebagai antimikroba flavonoid berupa

katekin berfungsi sebagai antiinflamasi [5]. Biji pinang mengandung senyawa proantosianidin [6]. Proantosianidin berupa tanin terkondensasi yang tergolong flavonoid yang berkhasiat sebagai antibakteri, antivirus, anti karsinogenik, antiinflamasi, antialergi, dan agen vasodilator [7]. Senyawa tanin dari biji pinang diduga memiliki efek sebagai astringen. Astringen berfungsi menciutkan jaringan kulit yang terbuka sehingga perdarahan dapat terhenti dan penyembuhan luka dapat terjadi [8]. Salah satu penelitian pengujian ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) terhadap penyembuhan luka telah dilakukan oleh Rairisti, et., al., yang diujikan pada luka sayat tikus putih jantan galur wistar [9]. Hasil dari pengujian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji pinang dengan konsentrasi 1%, 2% dan 4% memiliki perbedaan yang signifikan dengan kontrol negatif sementara ekstrak 2% dan 4% tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan kontrol positif ($p < 0,05$). Urutan penutupan luka paling cepat dari ekstrak etanol biji pinang ialah konsentrasi 2%, 4% dan 1%. Penggunaan ekstrak secara langsung untuk pengobatan masih sulit diaplikasikan, hal ini dikarenakan ekstrak cenderung sulit diperoleh serta sifat ekstrak yang kurang stabil menjadi kendala dalam penggunaannya di kalangan masyarakat. Berdasarkan hal tersebut maka penulis tertarik untuk memformulasikan ekstrak etanol biji pinang dengan dua konsentrasi yang paling cepat menyembuhkan luka, berdasarkan hasil penelitian sebelumnya menjadi sediaan salep sebagai langkah optimalisasi penggunaan biji pinang. Sediaan salep dipilih karena memiliki kandungan air yang rendah sehingga diperlukan waktu untuk sediaan berpenetrasi ke dalam lapisan kulit. Hal ini dapat memperlama kontak senyawa yang terkandung dalam salep dengan luka maka diharapkan proses penyembuhan akan semakin cepat. Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan pengkajian terhadap aktivitas sediaan salep ekstrak etanol biji pinang terhadap penyembuhan luka.

II METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan secara eksperimental dan dilakukan di Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Farmasetika Jurusan Farmasi dan Laboratorium Hayati Jurusan Kimia, FMIPA Unsyiah pada bulan Januari 2015 sampai Juni 2015. Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya alat-alat gelas (Pyrex[®]), timbangan analitik (Precisa[®]), labu ukur (Pyrex[®]), corong pisah (Pyrex[®]), jangka sorong (Mitutoyo[®]), autoclave (Hirayama HL-42A-

DY[®]), krus silikat, penangas air, alat cukur (Gillette[®]), scalpel (Aesculap[®]), oven (Mommert[®]), pot plastik, tube, cawan porselin, mortir dan stemfer, bejana maserasi, batang pengaduk, kertas saring, LAF (Laminar air flow) (Telstar[®] AV 100), refluks, cotton bud (Sello[®]), pHmeter (Phywe[®]), sudip, kaca objek, blender (Philips[®]), kandang mencit dan rotary evaporator (Heidolph[®]). Bahan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya biji pinang, adeps lanae, salep lidokain, salep povidone iodine, etanol, etanol 95 %, vaselin album, aquades, kloroform, asam klorida, eter, natrium sulfat anhidrat, asam sulfat, timbal (II) asetat, isopropanol, metanol, n-heksan, asam asetat glasial, besi (III) klorida 10%, etil asetat, serbuk magnesium, kertas lakmus, serbuk asam borat, pereaksi Meyer, pereaksi Bouchardat, pereaksi Dragendorf, pereaksi Molish, pellet dan kertas saring. Sampel biji pinang yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari buah pinang yang berwarna orange. Sampel yang digunakan berasal dari daerah Idi Rayek, Aceh Timur.

Tabel 1 Formulasi Sediaan Salep

Komposisi	Formula Basis salep (g)	Formula SEEBP 2% (g)	Formula SEEBP 4% (g)
Adeps lanae	3	2,94	2,88
Vaselin Album	17	16,6	16,3
Etanol	-	5	5
Ekstrak Biji Pinang	-	0,4	0,8
Total massa salep	20	20	20

Keterangan: SEEBP (salep ekstrak etanol biji pinang)

Pembuatan simplisia dan ekstraksi dilakukan dengan prosedur sebagai berikut: buah pinang sebanyak 3 kg dikupas kulitnya, dipisahkan serabut dengan bijinya. Biji pinang kemudian ditimbang, lalu dilakukan sortasi basah. Tahap selanjutnya dilakukan pencucian dengan air mengalir. Selanjutnya biji pinang dipotong menjadi kecil-kecil. Kemudian biji pinang dikering-anginkan selama 1,5 bulan, selanjutnya dilakukan sortasi kering dengan cara ditampi. Tahap selanjutnya ditimbang ulang biji pinang, kemudian biji pinang dihaluskan hingga menjadi serbuk dengan blender (Philips[®]), selanjutnya serbuk simplisia biji pinang diayak dengan ayakan mesh No.

40(10). Serbuk simplisia biji pinang sebanyak 300 g direndam dengan 2,1 L etanol selama 5 hari dengan sesekali diaduk, selanjutnya disaring sehingga dihasilkan ampas dan ekstrak. Ampas yang dihasilkan kembali direndam dengan 900 mL pelarut yang sama selama dua hari dengan sesekali diaduk, kemudian disaring. Hasil maserat digabungkan kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* (*Heidolph*[®]) sehingga dihasilkan ekstrak kental [11]. Skrining fitokimia ekstrak etanol biji pinang dilakukan sesuai dengan prosedur yang tercantum dalam *Materia Medika Indonesia dan Metode Fitokimia* [12, 13]. Sediaan salep dibuat menggunakan basis salep yang terdiri dari jenis *Adeps lanae* dan *Vaselin Album* [14]. Formulasi sediaan salep dapat dilihat pada Tabel 1.

Langkah pembuatan salep diawali dengan dileburkan basis salep *adeps lanae* dan *vaselin album* diatas penangas air, selanjutnya *adeps lanae* dan *vaselin* dimasukkan dalam mortar dan digerus hingga terbentuk basis salep yang dilakukan di bawah *Laminar air flow* (LAF), selanjutnya setengah masa basis disisihkan. Sejumlah ekstrak dilarutkan dengan beberapa tetes etanol kemudian dimasukkan dalam mortar sedikit demi sedikit bersamaan dengan sisa basis yang disisihkan digerus hingga homogen. Uji organoleptik dilakukan dengan cara pengamatan sediaan salep secara fisik yang meliputi warna, bau dan bentuk [15]. Uji pH dilakukan dengan cara mengukur pH sediaan menggunakan pHmeter. Sebelumnya pHmeter dikalibrasi dengan larutan dapar netral (pH 7,01) dan pHasam (pH 4,01). Selanjutnya dicuci elektroda dengan aquades dan dikeringkan. Kemudian 1 g sediaan salep dilarutkan dalam 100 mL aquades. Selanjutnya dicelupkan elektroda dan dicatat angka yang tertera pada monitor pHmeter [16]. Uji homogenitas dilakukan dengan cara sediaan salep dioleskan pada kaca preparat, kemudian diamati ada tidaknya butiran kasar [17]. Pada penelitian ini digunakan mencit (*Mus musculus*) galur ddy jantan umur 2-3 bulan dan berat sekitar 20-30 g. Mencit yang digunakan sebanyak 20 ekor untuk 4 perlakuan dengan pengelompokan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Masing-masing perlakuan dilakukan lima kali pengulangan.

Untuk uji efek penyembuhan luka dilakukan prosedur sebagai berikut: mencit diaklimatisasi selama tujuh hari, selanjutnya rambut dicukur pada bagian punggung yang akan dibuat sayatan sampai licin kemudian dibersihkan dengan kapas yang diberi alkohol 70% selanjutnya dilakukan anestesi pada mencit dengan salep lidokain. Bagian punggung

mencit dibuat sayatan sejajar dengan *Os. vetebre* sepanjang 15 mm dengan kedalaman hingga subkutan menggunakan *scalpel* (*Aesculap*[®]). Hal ini dilakukan dengan cara menggunakan ibu jari dan jari telunjuk sebagai alat peregangan dan penekan kulit mencit. Perawatan luka dilakukan dengan cara pengolesan sediaan dua kali sehari, pada pagi dan sore hari. Pengamatan luka dimulai sejak dibuat luka yang dihitung sebagai hari ke-1. Perawatan luka dilakukan hingga luka menunjukkan kesembuhan. Pengamatan penyembuhan luka terhadap mencit dilakukan selama 21 hari. Pengamatan makroskopik yang diamati meliputi pembentukan keropeng, pengelupasan keropeng dan luka sembuh. Indikasi luka sembuh ialah luka sudah tertutup sempurna. Data dianalisis dengan *one way ANOVA* (*Analysis Of Variant*) kemudian dilanjutkan dengan Uji *Post Hoc* LSD (*Least Significant Different*) Data dianalisis dengan program *software* SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versi 20.

III HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan simplisia dan skrining fitokimia dilakukan dengan cara: biji pinang diambil dari daerah Idi Rayek, Aceh Timur. Daerah tersebut merupakan salah satu daerah produksi pinang dengan kualitas terbaik dan daerah produsen ketiga terbesar setelah Bireun dan Aceh Utara [18]. Biji pinang yang digunakan sebanyak 3 kg, setelah dikupas kulitnya dan disortasi basah beratnya menjadi 2,7 kg. Biji pinang kemudian dicuci dengan air mengalir selanjutnya biji pinang dipotong menjadi lebih kecil agar memudahkan proses pengeringan. Berat biji pinang setelah dikeringanginkan selama 1,5 bulan dan disortasi kering dengan cara ditampi menjadi 2 kg. Pengolahan simplisia biji pinang menghasilkan karakteristik makroskopik simplisia berwarna coklat, bau khas lemah dan memiliki rasa yang pahit. Hasil karakterisasi makroskopik simplisia yang diperoleh sesuai dengan karakteristik yang tercantum dalam *Materia Medika Indonesia* dan spesifikasi simplisia biji pinang hasil penelitian yang dilakukan oleh Sa'roni dan Adjirni, dkk [4, 19]. Simplisia biji pinang selanjutnya dihaluskan dengan menggunakan *blender* (*Philips*[®]), sehingga diperoleh 1,97 kg serbuk simplisia. Kemudian serbuk simplisia biji pinang diayak dengan ayakan mesh No. 40 sehingga diperoleh ukuran serbuk yang seragam. Sebanyak 300 g serbuk simplisia diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol. Hasil ekstrak etanol kental biji pinang yang diperoleh sebanyak 102 g dengan persentase rendemen ekstrak yang didapat sebesar 34,3%. Hasil

persentase kadar air dengan metode gravimetri sebesar 25,48%.

Pemilihan etanol sebagai pelarut dikarenakan beberapa sifat dari etanol seperti absorpsinya baik, bersifat netral, tidak beracun, kapang sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, proses evaporasi memerlukan panas yang rendah dan zat kontaminan dapat larut dalam etanol jumlah terbatas [20]. Kadar air yang diperoleh sesuai dengan rentang kadar air ekstrak kental yaitu tidak lebih dari 30% [21]. Hasil uji skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol biji pinang menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji pinang mengandung senyawa alkaloid, tanin, flavonoid, saponin dan glikosida. Penggunaan pelarut etanol sebagai larutan penyari diharapkan dapat menarik metabolit sekunder yang bersifat polar hingga semi polar [21]. Steroid/Triterpen bernilai negatif karena steroid merupakan senyawa glikosida dimana terdiri dari senyawa glikon dan aglikon. Senyawa aglikon dari steroid dapat berupa senyawa yang bersifat nonpolar. Kemungkinan senyawa aglikon yang terkandung dalam biji pinang merupakan senyawa aglikon yang bersifat nonpolar sehingga tidak terdeteksi dengan pelarut etanol [22]. Sementara triterpen memiliki struktur rantai panjang hidrokarbon C30 sehingga bersifat non-polar [13]. Hasil skrining fitokimia yang diperoleh sejalan dengan hasil skrining ekstrak etanol biji pinang pada penelitian yang dilakukan oleh Sutrisno, et.al., dimana steroid bernilai negatif dan triterpen bernilai positif [23]. Uji skrining fitokimia berfungsi untuk mengetahui jenis senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol biji pinang yang berpotensi dalam proses penyembuhan luka.

Tabel 2 Hasil uji organoleptik salep

Sediaan	Bentuk	Warna	Bau
Basis Salep	Setengah padat	Putih kekuningan	Khas salep
SEEBP 2%	Setengah padat	Merah kecoklatan	Khas lemah biji pinang
SEEBP 4%	Setengah padat	Coklat tua	Khas lemah biji pinang
Salep povidone iodine	Setengah padat	Merah kehitaman	Khas povidone iodine

Ekstrak etanol biji pinang yang diperoleh selanjutnya diformulasi menjadi sediaan salep dengan variasi konsentrasi 2% dan 4%. Basis

salep yang digunakan terdiri atas campuran vaselin album dan adeps lanæ [14]. Ekstrak kental yang ditambahkan dalam basis salep sebelumnya dilarutkan dengan beberapa tetes alkohol agar ekstrak dapat merata dalam basis salep. Penambahan ekstrak ke dalam basis salep dilakukan sedikit demi sedikit bersamaan dengan setengah basis salep yang telah disisihkan sebelumnya. Hal ini bertujuan agar ekstrak merata dalam sediaan salep. Pemilihan basis salep diharapkan tidak mengganggu efek terapi dari zat aktif yang terkandung dari ekstrak [15]. Pengamatan uji organoleptik salep ekstrak etanol biji pinang terdiri dari warna, bau dan bentuk. Hasil pengamatan uji organoleptik tertera pada Tabel 2. Bentuk SEEBP yang dihasilkan sesuai dengan kriteria bentuk salep yaitu setengah padat [11]. Bentuk dan konsistensi yang dihasilkan tidak mengalami perubahan setiap minggu selama waktu pengamatan. Berdasarkan warna salep yang dihasilkan SEEBP 4% terlihat berwarna coklat tua, sementara SEEBP 2% berwarna merah kecoklatan. Warna SEEBP yang dihasilkan tidak mengalami perubahan selama tiga minggu. Perbedaan warna yang dihasilkan dipengaruhi oleh perbedaan konsentrasi ekstrak yang digunakan.

Tabel 3 Hasil rata-rata uji pH

Sediaan	Pengamatan (Hari)			
	1	7	14	21
Basis Salep	6,92	7,23	7,88	7,93
SEEBP 2%	6,63	6,84	7,75	7,77
SEEBP 4%	6,72	6,85	6,97	6,97
Salep povidone iodine	5,62	5,89	5,97	5,98

Semakin besar konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam komposisi salep maka warnanya akan semakin pekat mendekati warna ekstrak yang dihasilkan. Asumsi ini sejalan dengan pengamatan warna salep pada penelitian yang dilakukan oleh Papatung dkk [17]. Bau yang dihasilkan berupa bau khas lemah biji pinang, dimana bau yang dihasilkan dari SEEBP 4% lebih kuat dibandingkan SEEBP 2%. Kekuatan bau pada salep mengalami penurunan selama waktu pengamatan. Hal ini dipengaruhi oleh udara sehingga terjadi reaksi oksidasi dari ekstrak [24]. Uji pH dengan pHmeter dilakukan setiap minggu selama waktu pengamatan. Hasil rata-rata uji pH sediaan salep dapat dilihat pada Tabel 3.

Salep ekstrak etanol biji pinang rata-rata belum memenuhi persyaratan sediaan salep yang baik dimana nilai pH sediaan berada diatas nilai pH kulit yaitu 4,5-6,5 [15, 16]. Berdasarkan hasil yang diperoleh diasumsikan nilai pH sediaan salep ekstrak etanol biji pinang dipengaruhi oleh nilai pH basis salep yang berada di atas 6,5. Nilai pH salep yang terlalu basa mengakibatkan kulit menjadi bersisik [25]. Nilai pH salep ekstrak etanol biji pinang kurang stabil karena mengalami sedikit peningkatan setiap minggunya selama waktu pengamatan. Hal ini kemungkinan dipengaruhi oleh kondisi penyimpanan yang kurang baik [24]. Uji pH bertujuan untuk menentukan kestabilan salep yang dihasilkan. Oleh sebab itu perlu dilakukan pengkajian lebih lanjut mengenai formulasi yang lebih baik dengan penambahan eksipien lain agar dihasilkan sediaan salep yang stabil dan memenuhi nilai pH kulit. Selain itu perlu dilakukan pengkajian mengenai suhu penyimpanan yang baik terhadap sediaan SEEBP. Homogenitas salep ekstrak etanol biji pinang menunjukkan sediaan yang homogen. Kestabilan homogenitas salep selama 3 minggu dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4 Hasil uji homogenitas

Sediaan	Pengamatan (Hari)			
	1	7	14	21
Basis Salep	H	H	H	H
SEEBP 2%	H	H	H	H
SEEBP 4%	H	H	H	H
Salep povidone iodine	H	H	H	H

Keterangan: H adalah Homogen

Homogenitas salep ditandai dengan tidak ada butiran kasar dan tidak menggumpal. Berdasarkan hal tersebut menunjukkan bahwa ketercampuran bahan dasar salep dan ekstrak biji pinang tergolong baik sehingga pada penggunaannya dapat merata [15, 26]. Untuk keperluan uji efek penyembuhan luka maka mencit dibuat luka pada bagian punggung sejajar dengan tulang belakang (*Os. vetebre*). Luka dibuat sepanjang 15 mm menggunakan *scalpel* (*Aesculap*[®]) dengan kedalaman hingga lapisan subkutan pada kulit mencit (Gambar 1). Punggung mencit yang telah dibuat luka dirawat dengan pengolesan salep sebanyak 2 kali sehari pagi dan sore hari. Penelitian ini menggunakan 4 perlakuan yaitu perlakuan 1 dioleskan basis salep, perlakuan 2 dioleskan SEEBP 2%, perlakuan 3 dioleskan SEEBP 4% dan perlakuan 4 dioleskan salep povidone

iodine. Salep dioleskan sepanjang luka yang terbuka menggunakan *cotton bud*.



Gambar 1 Punggung mencit setelah perlukaan

Kondisi luka setelah perlukaan terlihat basah. Hal ini kemungkinan terjadi karena peningkatan permeabilitas pembuluh darah sehingga terjadi kebocoran protein dan terjadi perubahan osmolaritas. Oleh sebab itu cairan keluar bersama protein sehingga terlihat basah [27]. Hasil perawatan luka terlihat bahwa luka lebih lembab. Hal ini karena dipengaruhi oleh komposisi basis salep yang terdiri dari lemak. Oleh karena itu pengeluaran cairan dapat dihambat serta gangguan sirkulasi darah yang rusak karena luka dapat diperbaiki [28]. Kondisi jaringan yang terbuka setelah luka dibuat dapat memicu terjadi infeksi. Namun, hal ini dapat dicegah karena berdasarkan penelitian sebelumnya biji pinang diketahui memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme seperti *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus mutans*, *streptococcus salivarius*, *Fusobacterium nucleatum* [29, 30].

Tabel 5 Hasil rata-rata pengamatan waktu pembentukan keropeng

Perlakuan	Rata-rata ± SD (Hari)
P1	6,6 ± 1.342
P2	5,75 ± 0,957
P3	4,2 ± 0,837
P4	7 ± 1.225

Pengamatan penggunaan basis salep, SEEBP 2%, SEEBP 4%, dan salep povidone iodine terhadap penyembuhan luka pada mencit dilakukan setiap harinya. Pengamatan penyembuhan luka meliputi pembentukan keropeng, pengelupasan keropeng dan luka sembuh. Pengamatan pembentukan keropeng dilakukan secara visual selama 21 hari. Hasil rata-rata pengamatan waktu terbentuknya keropeng dapat dilihat pada Tabel 5 dimana P1 adalah kelompok basis salep, P2 adalah kelompok SEEBP 2%, P3 adalah kelompok

SEEBP 4% dan P4 adalah kelompok salep povidone iodine.

Berdasarkan Tabel 5 terlihat perbedaan waktu mulai terbentuknya keropeng pada setiap kelompok perlakuan. Rata-rata waktu terbentuknya keropeng paling cepat terjadi pada P3 diikuti oleh P2, P1 dan P4. Hasil uji normalitas dengan uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan data terbentuk keropeng terdistribusi normal ($p>0,05$). Hasil uji homogenitas dengan *Levene Test* menunjukkan data termasuk homogen ($p>0,05$). Berdasarkan perbandingan nilai *F*hitung dan *F*tabel menunjukkan nilai bahwa SEEBP memiliki aktivitas penyembuhan luka dimana $F_{hitung} < F_{tabel}$ ($3,29 < 6,144$). Hasil analisis data dengan *one way ANOVA* bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara keempat kelompok dengan nilai *p* adalah 0,006 ($p < 0,05$). Hasil uji lanjutan *Least Significant Differences (LSD)* menunjukkan perbedaan yang bermakna antara P3 dengan P1 dan P4 ($p < 0,05$).

Hasil penelitian Rairisti, dkk, dengan penggunaan ekstrak etanol biji pinang keropeng mulai terbentuk pada hari kedua [9]. Sementara menurut penelitian Velnar *et al.*, keropeng mulai terbentuk pada hari ketiga setelah terjadi luka [31]. Perbedaan waktu pembentukan keropeng kemungkinan dipengaruhi oleh penggunaan ekstrak. Pada penelitian Rairisti, ekstrak etanol biji pinang yang digunakan berwarna gelap dapat mengganggu pengamatan pembentukan keropeng sehingga sulit dibedakan antara sisa ekstrak pada luka dengan keropeng yang mulai terbentuk karena pengamatan pembentukan keropeng dilakukan secara visual sehingga hasil yang diperoleh bersifat subjektif [9]. Oleh sebab itu perlu dilakukan pengamatan secara mikroskopik berupa uji histopatologi agar hasil yang diperoleh lebih akurat. Hasil penelitian yang diperoleh berbeda dengan hasil penelitian Rairisti, dkk, hal ini diduga karena penggunaan jumlah ekstrak yang terkonsentrasi pada luka lebih besar dibandingkan dengan penggunaan salep [9]. Penggunaan ekstrak langsung pada luka diyakini bahwa paparan kandungan zat aktif dalam biji pinang terhadap luka lebih besar dibandingkan dengan sejumlah ekstrak yang terdispersi dalam basis salep. Pembentukan keropeng menunjukkan bahwa proses penyembuhan luka memasuki tahap proliferasi. Tahap proliferasi mulai terjadi pada hari ketiga hingga minggu kedua setelah terjadi luka [31]. Hal ini terlihat pada setiap kelompok perlakuan dimana keropeng telah terbentuk pada minggu pertama setelah luka dibuat.

Tahap proliferasi menunjukkan mulai terjadi migrasi fibroblast dan terjadi deposit matriks ekstraseluler [31]. Menurut Amudhan *et al.*, ekstrak biji pinang dapat meningkatkan pembentukan kolagen [30]. Kandungan polifenol juga berfungsi dalam meningkatkan rangsangan untuk pembentukan kolagen [32]. Senyawa alkaloid arekolin dan polifenol dapat mempercepat tahapan epitelisasi sehingga dapat memperkuat jaringan granulasi [30]. Pengamatan pengelupasan keropeng dilakukan secara visual selama waktu pengamatan. Hasil rata-rata pengamatan waktu terkelupasnya keropeng dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6 Hasil rata-rata pengamatan waktu pengelupasan keropeng

Perlakuan	Rata-rata \pm SD (Hari)
P1	10,2 \pm 1.304
P2	7,75 \pm 1.258
P3	8,8 \pm 1.095
P4	11,2 \pm 2.588

Berdasarkan Tabel 6. terlihat bahwa urutan waktu terkelupasnya keropeng paling cepat dihasilkan dari kelompok P2 diikuti P3, P1 dan P4. Hasil uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* dihasilkan data terkelupasnya keropeng terdistribusi normal ($p>0,05$). Hasil uji homogenitas data dengan uji *Levene Test* menunjukkan data termasuk homogen ($p>0,05$). Berdasarkan perbandingan nilai *F*hitung dan *F*tabel menunjukkan bahwa SEEBP memiliki aktivitas penyembuhan terhadap luka insisi dimana nilai $F_{hitung} < F_{tabel}$ ($3,29 < 3,648$). Hasil analisis data dengan *one way ANOVA* bahwa data terkelupasnya keropeng menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara keempat kelompok dengan nilai *p* adalah 0,037 ($p < 0,05$). Hasil uji lanjutan *Least Significant Differences (LSD)* menunjukkan perbedaan yang bermakna antara P2 dengan P1 dan P4. Selain itu perbedaan bermakna terlihat antara P4 dengan P3 ($p < 0,05$). Pengamatan pengelupasan keropeng terkendala dengan gerakan mencit. Kemungkinan terkelupasnya keropeng akibat pergerakan mencit yang berlebihan sulit dikendalikan. Oleh sebab itu sulit dibedakan antara waktu terkelupasnya keropeng secara alami dengan waktu terkelupasnya keropeng akibat gerakan mencit yang berlebihan. Pengelupasan keropeng menandakan proses penyembuhan luka memasuki tahapan granulasi [33]. Tahap granulasi mulai dibentuk beberapa enzim untuk melepaskan keropeng secara alami. Hal ini

mengakibatkan aktivitas metabolisme sel pada luka menjadi meningkat. Oleh sebab itu nutrisi dan ketersediaan oksigen yang cukup dapat mempengaruhi proses tersebut [34].

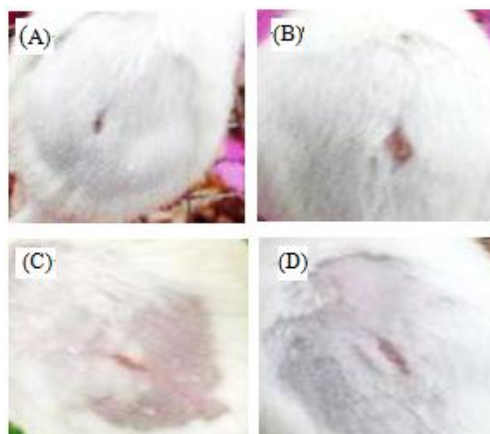
Menurut Aponno, dkk, terkelupasnya keropeng terjadi karena jaringan dibawahnya sudah mengering dan tepi-tepi luka mulai tertarik ke tengah [35]. Hal tersebut baru dapat terjadi setelah sel-sel baru pada jaringan luka sudah terbentuk sempurna (epitelisasi). Tahapan epitelisasi terjadi pelepasan beberapa senyawa seperti *vascular endothelial cell growth factor* (VEGF), *basic fibroblast growth factor* (bFGF) dan TGF β yang dapat membawa pasokan darah yang baru. Proses ini disebut proses angiogenesis atau neovaskularisasi [34]. Penggunaan salep yang tersusun atas vaselin album dan adeps lanae yang bersifat lemak pada luka dapat meningkatkan hidrasi kulit [36]. Oleh sebab itu basis salep ikut berperan dalam pengelupasan keropeng. Parameter luka sembuh diamati dengan sudah menutupnya jaringan luka yang terbuka. Hasil pengamatan durasi penutupan luka sembuh dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7 Hasil rata-rata pengamatan durasi luka sembuh

Perlakuan	Rata-rata \pm SD (Hari)
P1	18,2 \pm 1.643
P2	13,25 \pm 0,957
P3	12,8 \pm 1.304
P4	14,8 \pm 1.924

Berdasarkan Tabel 7. terlihat bahwa durasi luka sembuh paling cepat terjadi pada P3 diikuti P2, P4 dan P1. Hasil uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* dihasilkan data luka sembuh terdistribusi normal ($p > 0,05$). Hasil uji homogenitas data dengan uji *Levene Test* menunjukkan data termasuk homogen ($p > 0,05$). Berdasarkan perbandingan nilai *F*hitung dan *F*tabel menunjukkan bahwa SEE β P memiliki aktivitas penyembuhan terhadap luka insisi dimana dihasilkan nilai *F*hitung 12,429 sehingga *F*tabel < *F*hitung (3,29 < 12,429). Hasil analisis data dengan *one way ANOVA* bahwa data durasi penutupan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara keempat kelompok dimana dihasilkan nilai *p* adalah 0,000 ($p < 0,05$). Hasil Analisis LSD (*Least Significant Different*) terhadap data luka sembuh luka menunjukkan bahwa perbandingan antara P1 dengan P2, P3 dan P4 terdapat perbedaan yang bermakna

($p < 0,05$). Gambar luka sembuh pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Luka sembuh dimana, (A) adalah P1 hari ke 18, (B) adalah P2 hari ke 13, (C) adalah P3 hari ke 13 dan (D) adalah P4 hari ke 15.

Penyembuhan luka cepat terjadi pada kelompok P3 dan P2. Hal ini kemungkinan karena dibantu oleh senyawa tanin yang berfungsi sebagai agen astringen [8]. Astringen merupakan bahan yang berperan dalam menciutkan jaringan luka yang terbuka. Salep povidone iodine pada penelitian ini bertindak sebagai kontrol positif. Aktivitasnya dalam penyembuhan lukanya terlihat kurang efektif. Hal ini disebabkan karena penggunaannya dalam manajemen penyembuhan luka masih menjadi perdebatan di kalangan klinisi. Namun mayoritas penelitian menyatakan penggunaan povidone iodine tidak berdampak pada penyembuhan luka. Penggunaan povidone iodine dapat menurunkan kekuatan tensil pada jaringan kulit dan memperlama tahap re-epitelisasi sehingga dapat menghambat proses penyembuhan luka. Penelitian terkait penyembuhan luka terhadap manusia masih belum dilakukan maka penggunaannya harus diperhatikan, mengingat dugaan efek sitotoksik yang dihasilkan oleh povidone iodine [37]. Selain itu povidone iodine 10% dapat mengakibatkan reaksi iritasi dan alergi [38].

Proses penyembuhan luka dipengaruhi oleh beberapa faktor yang sulit untuk dikendalikan karena hal ini berasal dari hewan coba. Beberapa faktor tersebut seperti gerakan mencit dan asupan nutrisi. Gerakan mencit yang berlebihan dapat memperlama durasi penyembuhan luka. Hal ini dikarenakan gerakan mencit dapat membuka kembali jaringan yang telah menutup. Selain itu faktor nutrisi juga dapat mempengaruhi kecepatan penyembuhan luka. mencit diberi makanan *ad libitum*, namun nutrisi yang diasup oleh setiap mencit berbeda-beda. Hasil yang diperoleh

pada penelitian Rairisti, dkk sebelumnya membuktikan bahwa konsentrasi ekstrak etanol biji pinang 2% lebih baik dibandingkan dengan ekstrak etanol biji pinang 4% [9]. Namun, setelah ekstrak etanol biji pinang diformulasikan menjadi sediaan salep terjadi perubahan dimana SEE BP 4% lebih baik dibandingkan dengan SEE BP 2%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak semakin cepat proses penyembuhan luka dikarenakan jumlah zat aktif yang terkandung pada ekstrak dalam jumlah yang besar. Hal ini sesuai dengan hasil yang diperoleh pada penelitian yang dilakukan oleh Papatungan, dkk, dimana penyembuhan luka paling cepat terjadi pada salep dengan konsentrasi yang paling tinggi [17]. Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa SEE BP konsentrasi 2% dan 4% berpotensi dalam proses penyembuhan luka. SEE BP 4% mengalami pembentukan keropeng lebih cepat yaitu 4,2 hari dibandingkan dengan SEE BP 2% yang terjadi pada 5,75 hari. Sementara SEE BP 2% mengalami pengelupasan keropeng lebih cepat yaitu 7,75 hari dibandingkan dengan SEE BP 4% yang terjadi pada 8,8 hari. Selain itu SEE BP 4% lebih cepat dalam proses penyembuhan luka dibandingkan dengan SEE BP 2%. Hal ini terlihat pada rata-rata durasi luka sembuh dimana SEE BP 4% selama 12,8 hari sementara SEE BP 2% selama 13,25 hari.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa SEE BP dapat menyembuhkan luka insisi pada mencit ($p < 0,05$). Hal ini dapat dilihat pada lama waktu pembentukan keropeng, pengelupasan keropeng, luka sembuh terjadi pada masing-masing kelompok secara berurutan durasi luka sembuh dimana SEE BP 2% yaitu 5,75; 7,75 dan 13,25 hari. SEE BP 4% yaitu 4,2; 8,8 dan 12,8 hari. Penyembuhan luka insisi pada mencit paling cepat terjadi pada konsentrasi SEE BP 4%.

REFERENSI

1. Setyowati, F.M. 2010. Etnofarmakologi dan Pemakaian Tumbuhan Obat Suku Dayak Tanjung di Kalimantan Timur. *Media Litbang Kesehatan*. 10 (3) :104-112.
2. Sulastri, T. 2009. Analisis Kadar Tanin Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Pada Biji pinang Sirih (*Areca catechu* L.). *Jur Cem*. 10 (1) : 59-63.

3. Badan POM RI. 2010. *Acuan Sediaan Herbal*. Penerbit Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, Jakarta.
4. Sa'roni dan Adjirni, 2005. Spesifikasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca Catechu* L) Asal Tawangmangu serta Toksisitas Akut dan Khasiat hemostatiknya pada Hewan Coba. *Media Litbang Kesehatan*. 15 (1) : 1-5.
5. Khan, S., Mehmood, M., Ali, A., Ahmed, F., Dar, A., Gilani, A. 2011. Studies on Anti-Inflammatory and Analgesic Activities of Betel Nut in Rodents. *Journal of Ethnopharmacology*. 135 (2011) : 654-661.
6. Nonaka, G., 1989. Isolation and Structure Elucidation of Tannins. *Pure & Appl. Chem*, 61 (3): 357-360.
7. Fine, A.M. 2000. Oligomeric Proanthocyanidine Complex, History, Structure and Phytopharmaceutical Application. *Altern Med Rev*. 5 (2) : 144-151.
8. Ashok, P. K dan Upadhyaya, K. 2012. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 1(3) : 45-50.
9. Rairisti, A. 2014. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca Catechu* L.) Terhadap Penyembuhan Luka Sayat pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Jantan Galur Wistar. *Skripsi*. Universitas Tanjungpura.
10. Badan POM RI. 2013, *Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan Berbasis Ekstrak*. Penerbit Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, Jakarta.
11. Anonim, 1979. *Farmakope Edisi 3*. Penerbit Depkes RI, Jakarta.
12. Anonim. 1977. *Materia Medika Indonesia Jilid I*. Penerbit Direktorat Jenderal Pengawas Obat Dan Makanan, Jakarta.
13. Harbone, J. B, 1987. *Metode Fitokimia*. Terjemahan dari Phytochemical Method, oleh Kosasih Padmawainata dan Iwang sudiro. Penerbit ITB Bandung, Bandung.
14. Agoes, G. 2006. *Pengembangan Sediaan Farmasi*. Penerbit ITB Bandung, Bandung.
15. Anief. 1997. *Ilmu Meracik Obat : Teori dan Praktek*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
16. Rowlins, E. A. 2003. *Bentley's Textbook of Pharmaceutic*. Bailierre Tindall, London.
17. Papatungan, F., Yamelan, P.V.Y., dan Citraningtyas, G. 2014. Uji Efektifitas Salep Ekstrak Etanol Daun Bakau Hitam (*Rhizophora mucronata* Lamk.) dan Pengujian Terhadap Proses penyembuhan Luka Punggung Kelinci yang diinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus*. *J Ilm Far-UNSRAT*. 3 (1) : 15-26.

18. Anonim, 2013. *Aceh dalam Angka*, BPS Provinsi Aceh dan BAPPEDA Aceh. Aceh.
19. Anonim, 1989. *Materia Medika Indonesia Jilid IV*. Penerbit Direktoral Jenderal Pengawas Obat Dan Makanan, Jakarta.
20. Pine, A.T.D., Alam, G. & Attamin., F., 2011, Standardisasi Mutu Ekstrak Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) dan Uji Efek Antioksidan dengan Metode DPPH, *Tesis*, Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin, Makassar.
21. Voigt, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. 5 th ed. Penerbit Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
22. Purwatresna, E. 2012. Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Air dan Etanol Daun Sirsak Secara In Vitro Melalui Inhibisi Enzim A-Glukosidase. *Skripsi*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
23. Sutrisno, J. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca catechu* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Skripsi*. Universitas Tanjungpura.
24. Young, A. 2002. *Practical Cosmetic Science*. Penerbit Mills and Boon Limited, London.
25. Tranggono, R.I., Latifah,. 2007. *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Penerbit Gramedia, Jakarta.
26. Muthalib, E. M., Fatimawali., Edy, H. J. 2013. Formulasi Salep Ekstrak Etanol Daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*) dan Uji Efektivitasnya terhadap Luka Terbuka pada Punggung Kelinci. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT*. 2 (3) : 79-82.
27. Price, S.A dan Wilson, L.M. 1995. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Terjemahan dari Pathophysiology Clinical Concept of Disease Processes, oleh Peter Anugerah, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
28. Ansel, H. C. 2005. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
29. Suwondo, S. 2007. Skrining Tumbuhan Obat Yang Mempunyai Aktivitas Antibakteri Penyebab Karies Gigi Dan Pembentuk Plak. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. 6 (2) : 65-72.
30. Amudhan, M.S., Begum, V.H., and Hebbar, K.B. 2012. A Review on Phytochemical and Pharmacological Potensial of *Areca catechu* L. Seed. *Int J Pharm. Sci and Res*. 3 (11): 4151- 4157.
31. Velnar, T., Bailey, T., Smrkoj. 2009. The Wound Healing Process: an Overview of the Cellular and Molecular Mechanism. *The J Int Med Res*. 37 (5) : 1528-1542.
32. Abo, A., Olugbuyiro, J. A. O., dan Famakind, S. A. 2003. Anti-Infective and Wound Healing Properties of *Flabellaria paniculata*. *African J of Biomed Res*. 7 (2004): 85 – 87.
33. Syarfati K. Eriani dan A. Damhoeri, 2011. The Potential of Jarak Cina (*Jatropha multifida* L.) Secretion in Healing New-Wounded Mice. *Jurnal Natural*. 11 (1) : 16-19.
34. Diegelman, R.F dan Evan, M.C. 2004. Wound Healing: An Overview of Acute, Fibrotic and Delayed Healing. *Frontier in Biosci*. 9: 283-289.
35. Aponno, J. V., Yamlean, P. V. Y., Supriati, H. S. 2014. Uji Efektivitas Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* Linn) terhadap Penyembuhan Luka yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Kelinci (*Orytolagus cuniculus*). *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT*. 3 (3) : 279-286.
36. Lachman, L., H. A. Lieberman dan J.L Kanig, 1994. *Teori dan Praktek Farmasi Industri*, jilid I, Edisi II, diterjemahkan oleh Siti Suyatmi, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
37. Angel DE, Morey P, Storer JG and Mwipatayi BP, 2008. The Great Debate Over Iodine in Wound Care Continues: A Review of The Literature. *Wound Practice and Res*. 16 (1): 6-21.
38. Boyce, J. M. and Pittet, D. 2002. Guideline for hand hygiene in health-care settings: Recommendations of the healthcare infection control practices advisory committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA. Hand hygiene task force. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. 51 (RR-16) : 1-45.