



EFEKTIVITAS SALEP FRAKSI N-BUTANOL DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA BAKAR MENCIT

EFFECTIVENESS OF N-BUTANOL FRACTION OINTMENT FROM GREEN BETEL LEAVES ON THE HEALING OF MICE BURN WOUNDS

Diza Sartika*¹, Nessa¹, Sa,arah¹, Miftahur Rahmi², Ringga Novelni³

¹Universitas Perintis Indonesia

²UIN Sulthan Thaha Saifuddin Jambi

³Universitas Negeri Padang

(dizasartika@gmail.com)

ABSTRAK

Luka bakar merupakan keadaan kerusakan jaringan yang disebabkan kontak dengan sumber panas. Daun sirih mengandung beberapa kandungan senyawa aktif seperti, tanin, flavonoid dan fenolik. Kandungan tersebut dapat membantu proses penyembuhan luka sebagai antiinflamasi, antimikroba dan antioksidan. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui efektivitas fraksi n-butanol daun sirih hijau konsentrasi 15% terhadap penyembuhan luka bakar. Terdapat 3 kelompok hewan uji, yaitu kelompok 1 basis salep, kelompok 2 pembanding Tekasol® dan kelompok 3 fraksi n-butanol daun sirih hijau konsentrasi 15%. Parameter pengamatan yaitu persentase penyembuhan luka bakar, waktu epitelisasi dan histopatologi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok 3 memiliki hasil paling baik pada persentase penyembuhan luka bakar dengan persentase 98,38%. Rata-rata waktu epitelisasi basis salep hari ke-15, pembanding hari ke-14 dan fraksi hari ke-13. Hasil uji histopatologi kelompok fraksi hari ke-21 mendapatkan hasil skor yaitu 3 dengan sel fibroblast >50 sel, serabut kolagen saling terikat sempurna, epitelisasi sedang dan inflamasi incomplete. Kesimpulan dari penelitian ini adalah salep fraksi n-butanol daun sirih hijau efektif terhadap penyembuhan luka bakar konsentrasi 15%.

Kata kunci : Fraksi n-butanol; Sirih hijau; Luka bakar.

ABSTRACT

Burns are a condition of tissue damage caused by contact with a heat source. Betel leaves contain several active compounds such as tannins, flavonoids and phenolics. These contents can help the wound healing process as anti-inflammatory, antimicrobial and antioxidant. The purpose of this study was to determine the effectiveness of the n-butanol fraction of green betel leaves with a concentration of 15% on healing burns. There were 3 groups of test animals, namely group 1 ointment base, group 2 Tekasol® comparison and group 3 n-butanol fraction of green betel leaves with a concentration of 15%. Observation parameters were the percentage of burn healing, epithelialization time and histopathology. The results showed that group 3 had the best results in the percentage of burn healing with a percentage of 98.38%. The average epithelialization time of the ointment base was day 15, the comparison was day 14 and the fraction was day 13. The results of the histopathology test of the fraction group on day 21 obtained a score of 3 with fibroblast cells > 50 cells, collagen fibers were perfectly bound together, moderate epithelialization and incomplete inflammation. The conclusion of this study is that the n-butanol fraction ointment from green betel leaves is effective in healing burns at a concentration of 15%.

Keywords: N-Butanol fraction; Green betel; Burns

PENDAHULUAN

Luka bakar merupakan keadaan kerusakan jaringan yang di sebabkan kontak dengan sumber panas seperti api, air panas, bahan kimia, listrik dan radiasi. Luka bakar kerap terjadi pada kulit. Hal ini dikarenakan kulit merupakan bagian tubuh paling luar, sehingga rentan terkena paparan dari luar. Gejala luka bakar dapat berupa sakit, bengkak, merah dan melepuh. Tindakan yang dapat dilakukan pada luka bakar adalah dengan memberikan terapi lokal dengan tujuan untuk mendapatkan kesembuhan secepat mungkin (Izzati, 2015)

Luka bakar merupakan salah satu cedera yang dapat mengenai siapa saja. Berdasarkan data Riskesdas tahun 2018 prevalensi luka bakar di Sumatra barat angka cedera luka bakar mencapai 1,8 %. Di Indonesia angka kejadian luka bakar cukup tinggi, Menurut (Sari, 2018) terdapat sekitar 3,518 kasus luka bakar di Indonesia. Angka ini terus mengalami peningkatan setiap tahunnya. Data yang diperoleh dari WHO, sekitar 90% luka bakar terjadi di negara berpenghasilan menengah kebawah. Selain itu, wanita di wilayah Asia Tenggara memiliki angka kejadian luka bakar tertinggi, 27% dari angka keseluruhan secara global meninggal dunia dan hampir 70% diantaranya adalah Wanita (Kemenkes, 2019)

Penanganan luka bakar dapat menggunakan antiseptik. Tetapi penggunaan antiseptik secara terus menerus dapat menyebabkan kerusakan sel-sel kulit baru dan sel-sel fagosit yang bermigrasi ke area luka, sehingga resiko infeksi lebih besar dan penyembuhan luka lebih lama (Ariningrum, 2018). Meningkatnya kesadaran masyarakat terhadap kesehatan, berpengaruh pula pada penggunaan obat herbal yang berasal dari tumbuhan dengan cara tradisional dan alami yang sudah dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia dari sejak nenek moyang kita. Hal ini banyak dilakukan masyarakat karena khasiatnya sudah terbukti dapat menyembuhkan penyakit, lebih murah dan efek sampingnya lebih kecil dibandingkan dengan obat-obat konvensional (Yulianto,

2017). Berdasarkan hal tersebut salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah daun sirih hijau (*Piper betle* L.). Tanaman sirih diketahui bisa mengatasi batuk, menghilangkan bau badan, mengobati luka bakar, menurunkan kolesterol, keputihan dan gatal-gatal (Latuheru, 2013)

Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol 70% daun sirih konsentrasi 15% mempunyai daya penyembuhan luka yang baik pada fase epitelisasi (Musfiroh, 2020) konsentrasi 15% ekstrak daun sirih dapat menyembuhkan luka bakar pada kulit punggung kelinci (Asri, 2017), Uji efektivitas salep ekstrak etanol daun sirih konsentrasi 15% dapat memperkecil diameter luka (Anjani, 2023) dan pada penelitian sebelumnya menunjukan pemberian ekstrak daun sirih berpengaruh terhadap peningkatan fibroblast dengan konsentrasi 15% yang optimal dalam mempercepat proses penyembuhan luka bakar. Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) adalah bahan alam yang dapat membantu mempercepat proses penyembuhan luka dan mempunyai pengaruh terhadap peningkatan jumlah fibroblast karena memiliki kandungan aktif seperti saponin, flavonoid dan tanin (Kusumawardhani, 2015).

Flavonoid dapat digunakan sebagai antioksidan dan antiinflamasi yang dapat mempercepat penyembuhan luka (Purnama, 2017). Tanin berfungsi sebagai agen astrigen yang menyebabkan mengecilnya pori-pori kulit, menghentikan pendarahan ringan dan memiliki aktivitas sebagai antibakteri dengan cara menghancurkan dinding sel bakteri (Giri, 2021). Saponin dapat bekerja sebagai antimikroba dengan merusak membrane sitoplasma dan membunuh sel bakteri (Noventi, 2016)

Berdasarkan uraian di atas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai efektivitas fraksi n-butanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan konsentrasi 15% terhadap penyembuhan luka bakar pada mencit putih jantan. Parameter pengujian pada penelitian ini yaitu persentase penyembuhan luka bakar, waktu epitelisasi dan histopatologi.

BAHAN DAN METODE

A. Alat

Kaca arloji, cawan penguap, botol semprot, corong, timbangan digital, lemari pendingin, botol maserasi, rotary evaporator, pipet tetes, batang pengaduk, pinset, spatel, gunting bedah, hot plate, logam, mortar dan stamper, sudip, jangka sorong, krus porselin, pipet mikro, furnace, incubator, microtome, teaching mikroskop, kertas saring, object glass, oven slide, blok paraffin, dek glass.

B. Bahan

Daun sirih hijau, etanol 70%, kloroform, eter, FeCl₃, serbuk Mg, norit, asam asetat anhidrat, H₂SO₄ 2N, H₂SO₄ pekat, HCl pekat, Kloroform amoniak 0,05 N, aquadest, krim perontok bulu, formalin buffer fosfat 10%, alkohol 30, 50, 70, 80, 90, 96%, pewarna HE, xylol, reagen mayer, vaselin flavum, n-heksan, n-butanol, etil asetat dan salep pembanding Tekasol®

1. Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan daun sirih hijau (*Piper betle L.*) diambil di daerah Lubuk Minturun, Kecamatan Koto Tangah, Padang.

2. Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Hijau

Daun sirih hijau sebanyak 3,5 kg dicuci bersih dengan air mengalir lalu ditiriskan. Kemudian daun dirajang sampai berukuran kecil. Simplisia daun sirih hijau dimasukan kedalam botol meserasi dan ditambahkan etanol 70%. Direndam selama 6 jam pertama sambil diaduk dan 18 jam berikutnya dibiarkan saja. Pisahkan meserat dengan cara difiltrasi dengan kertas saring, diulangi proses penyaringan sebanyak 2 kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Dikumpulkan semua meserat, kemudian diuapkan dengan penguap vakum atau penguap tekanan rendah hingga diperoleh ekstrak kental (Sartika, 2021).

3. Fraksinasi Daun Sirih Hijau

Fraksinasi dilakukan dengan menambahkan 20-gram ekstrak daun sirih hijau dengan pelarut n-heksan

dan aquadest dengan perbandingan (1:1) sebanyak 100 ml kedalam corong pisah 250 ml, kemudian dikocok selama 30 menit, setelah dikocok didiamkan dan tunggu sampe terbentuk dua lapisan yaitu lapisan n-heksan dan air. Ambil lapisan n-heksan (atas), lalu ulangi 2-3 kali sampai lapisan n-heksan terlihat jernih. Selanjutnya ambil lapisan air pada n-heksan dan difraksinasi dengan etil asetat 100 ml dalam corong pisah 250 ml, kemudian dikocok dan didiamkan 30 menit. Lakukan 2-3 kali pengulangan sampai terlihat lapisan etil asetat yang bening (Aria, 2015). Kemudian ambil lapisan air pada etil asetat, ditambahkan larutan n-butanol 100 ml difraksinasi dalam corong pisah 250 ml, kemudian dikocok dan didiamkan 30 menit, hingga terlihat 2 lapisan yaitu lapisan air dan lapisan n-butanol. Lakukan 2-3 kali pengulangan sampai lapisan n-butanol terlihat bening. Fraksi yang digunakan adalah fraksi polar yaitu fraksi n-butanol yang akan diujikan pada hewan coba.

4. Evaluasi Fraksi Daun Sirih Hijau

a. Pemeriksaan organoleptis

Pengamatan dilakukan secara visual dengan mengamati bentuk, bau dan warna Penentuan rendemen

Rendemen adalah perbandingan antara fraksi yang diperoleh dengan simplisia awal. Timbang fraksi daun sirih hijau kemudian hasil fraksinasi yang diperoleh ditimbang kembali. Hitung dengan rumus:

$$\% = \frac{\text{berat fraksi yang diperoleh}}{\text{berat ekstrak yang digunakan}} \times 100$$

b. Pemeriksaan susut pengeringan

Keringkan krus porselen dan tutupnya didalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit dan dibiarkan dingin, kemudian ditimbang beratnya. Masukkan fraksi ke dalam krus tersebut hingga beratnya 1-2-gram diluar

berat krus dengan penutup yang telah diketahui sebelumnya. Dengan perlahan goyang krus agar fraksi merata dan masukkan kembali ke dalam oven, buka tutupnya dan biarkan tutup tetap berada didalam oven. Krus yang telah berisi fraksi dipanaskan dalam oven dengan suhu 105⁰C selama 1 jam. Setelah itu krus dikeluarkan dan didinginkan dalam desikator, lalu timbang. Lakukan pengulangan seperti cara di atas hingga diperoleh berat yang konstan.

$$\% \text{ kadar abu} = \frac{(C-A)}{(B-A)} \times 100\%$$

Keterangan:

A: Berat krus kosong

B: Berat krus+sebelum sampel dipanaskan

C: Berat krus+setelah sampel dipanaskan

c. Pemeriksaan Kadar Abu

Fraksi daun sirih hijau ditimbang sebanyak 2-3 gram, dimasukkan ke dalam krus yang telah dipijarkan dan ditara. Dipijar perlahan-lahan hingga arang habis, lalu didinginkan dalam desikator kemudian timbang. Setelah itu arang dimasukkan dalam furnes selama 5 jam pada suhu 600⁰C, hingga terbentuk abu, dinginkan dalam desikator timbang berat abu yang diperoleh. Kadar abu dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{(C-A)}{(B-A)} \times 100\%$$

Keterangan:

A: Berat krus porselin kosong

B: Berat krus+sampel sebelum dipijarkan

C: Berat krus+sampel setelah dipijarkan

5. Uji metabolit sekunder fraksi daun sirih hijau

Fraksi kental daun sirih hijau ditimbang 0,5 gr. Lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan kloroform dan air masing-masing 5 ml

(1:1) kemudian kocok dan diamkan hingga terbentuk 2 lapisan yaitu air dan kloroform.

a. Lapisan air

1) Uji flavonoid (metode sianidin test)

Letakkan 1-2 tetes lapisan air pada plat tetes, tambahkan sedikit serbuk logam Mg dan beberapa tetes HCl(p), timbulnya warna kuning-oranye sampai merah menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

2) Uji fenolik

Letakkan 1-2 tetes lapisan air pada plat tetes, kemudian tambahkan 1-2 tetes pereaksi FeCl₃, terbentuknya warna biru menandakan adanya kandungan fenolik.

3) Uji saponin (metode forth)

Lapisan air dimasukkan dalam tabung reaksi lalu kocok, apabila terbentuk busa permanen (± 15 menit) menunjukkan adanya saponin.

b. Lapisan kloroform

1) Uji terpenoid dan steroid (metode simes)

Lapisan kloroform disaring dengan norit, hasil saringan dipipet 2-3 tetes dan dibiarkan mengering pada plat tetes, setelah kering ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat jika terbentuk merah berarti positif terpenoid dan jika terbentuk warna biru atau hijau berarti positif steroid.

2) Uji alkaloid (metode culvenore-firstgerald)

2-3 tetes lapisan kloroform ditambahkan dengan 10 ml kloroform amoniak dan 1 tetes asam sulfat 2 N, kemudian kocok kuat dan diamkan sampai

terbentuk dua lapisan ambil lapisan asam lalu tambahkan 1-2 tetes pereaksi mayer, reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih.

6. Pembuatan salep fraksi daun sirih hijau

Sediaan salep yang akan dibuat yaitu fraksi n-butanol daun sirih hijau dengan konsentrasi 15% yang akan dibuat sebanyak 10 g.

Fraksi daun sirih hijau = $15/100 \times 10g = 1,5g$

Vaselin flavum = $10g - 1,5g = 8,5g$

Masukkan fraksi n-butanol daun sirih hijau yang telah ditimbang kedalam lumpang lalu timbang dasar salep masukkan kedalam lumpang kemudian digerus hingga homogen. Keluarkan dari lumpang, masukkan kedalam wadah yang disediakan (Sartika et al., 2021).

7. Pengelompokan hewan

Hewan percobaan dibagi menjadi 3 kelompok, masing-masing kelompok terdiri atas 12 ekor mencit dan total seluruh hewan uji 36 ekor mencit yaitu:

a. Kelompok 1 (Basis salep) merupakan kelompok mencit yang diberi luka tanpa diberikan pengobatan dan hanya dioleskan basis salep yaitu vaselin flavum.

b. Kelompok 2 (Pembanding) merupakan kelompok mencit yang dioleskan sediaan yang beredar yaitu Tekasol®.

c. Kelompok 3 (Fraksi n-butanol 15%) Kelompok mencit yang dioleskan sediaan salep fraksi n-butanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan konsentrasi 15%.

8. Model luka bakar

Bulu pada bagian punggung hewan dirontokkan menggunakan krim perontok bulu. Selanjutnya hewan dianastesi menggunakan eter. Bagian punggung yang telah dirontokkan bulunya dibersihkan dengan alkohol 70%, lalu luka bakar dibuat

menggunakan lingkaran logam berdiameter 1 cm yang dipanaskan dalam air panas hingga suhu 100°C. Lalu ditempelkan pada bagian punggung selama 20 detik hingga timbul luka bakar berbentuk lingkaran dipunggung mencit. Vaselin, fraksi dan salep Tekasol® dioleskan 2 x sehari pada luka bakar yang telah dibuat (Sartika, 2021).

a. Persentase penyembuhan luka
Hitung persentase penyembuhan luka bakar pada hari ke-7, 14 dan 21 dengan rumus:

$$\% = \frac{\text{luas luka awal} - \text{luas luka akhir}}{\text{luas daerah luka bakar awal}} \times 100\%$$

b. Waktu epitelisasi

Waktu yang diperlukan untuk terbentuknya epitel baru yang sempurna menutupi luka bakar. Dalam hal ini dicatat hari ke berapa terjadi pengelupasan jaringan keropeng dari luka tanpa meninggalkan sisa luka.

c. Histopatologi

Dilakukan pengamatan terhadap serabut kolagen, sel fibroblast, inflamasi dan epitelisasi pada jaringan luka. Dari tiap kelompok diambil 3 mencit, yaitu mencit yang penyembuhannya paling bagus yang akan dilakukan pada hari ke-7, 14 dan 21.

1) Kolagen

0 : Tidak ada kolagen

1 : Menyebar tipis/sedikit

2 : Menyebar sedang tampak penyatuan

3 : Memadat dan saling terikat sempurna

2) Fibroblast

0 : 0 sel

1 : 5-10 sel

2 : 10-50 sel

3 : > 50 sel

3) Epitelisasi

0 : Absen

1 : Starting

2 : Incomplete

- 3 : Complete
- 4) Inflamasi
 - 0 : Berat
 - 1 : Sedang
 - 2 : Ringan
 - 3 : Absen
- 9. Analisis Data

Analisis data yang digunakan pada penelitian yaitu analisis varian (ANOVA) satu arah dan dua arah. ANOVA satu arah digunakan untuk penentuan waktu epitelisasi. ANOVA dua arah digunakan untuk persentase penyembuhan luka bakar. Analisa data dilanjutkan dengan uji lanjut berjarak Duncan (Duncan New Multiple Range Test) menggunakan SPSS.26.

HASIL

Setelah dilaksanakan penelitian terhadap uji efektivitas fraksi n-butanol daun sirih hijau (*Piper betle L.*) konsentrasi 15% terhadap penyembuhan luka bakar pada mencit putih jantan, didapatkan hasil sebagai berikut:

1. Berdasarkan hasil identifikasi sampel menunjukkan sampel yang digunakan merupakan tanaman daun sirih hijau (*Piper betle L.*) dengan family piperaceae.
2. Berdasarkan keterangan lolos kaji etik.
3. Dari 80 gram ekstrak kental daun sirih hijau diperoleh fraksi n-butanol 9,36 gram dengan persentase rendemen yaitu 11,70%.
4. Hasil uji susut pengeringan fraksi n-butanol daun sirih hijau konsentrasi 15% yaitu 4,240%.
5. Hasil uji kadar abu fraksi n-butanol daun sirih hijau konsentrasi 15% yaitu 3,203%.
6. Hasil pemeriksaan pemeriksaan metabolit sekunder fraksi n-butanol daun sirih hijau konsentrasi 15% dengan uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa fraksi n-butanol daun sirih hijau positif mengandung flavonoid, fenolik dan tanin.
7. Hasil pengamatan organoleptis salep fraksi n-butanol daun sirih hijau konsentrasi 15% menunjukkan berupa sediaan setengah padat, berwarna hijau kehitaman dan berbau khas.
8. Hasil pemeriksaan persentase penyembuhan luka hari ke-7:
 - a. Kelompok 1 (basis salep) = 23,88%

- b. Kelompok (pembanding) = 24,16%
 - c. Kelompok 3 (fraksi 15%) = 27,23%
- Hasil pemeriksaan persentase penyembuhan luka pada hari ke-14:
- a. Kelompok 1 (basis salep) = 47,41%
 - b. Kelompok 2 (pembanding) = 63,11%
 - c. Kelompok 3 (fraksi 15%) = 65,59%
- Hasil pemeriksaan persentase penyembuhan luka pada hari ke-21:
- a. Kelompok 1 (basis salep) = 88,28%
 - b. Kelompok 2 (pembanding) = 95,70%
 - c. Kelompok 3 (fraksi 15%) = 98,38%
9. Waktu epitelisasi rata-rata:
 - a. Kelompok 1 (basis salep) = 15
 - b. Kelompok 2 (pembanding) = 14
 - c. Kelompok 3 (fraksi 15%) = 13

PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini digunakan sampel daun sirih hijau (*Piper betle L.*) sebagai bahan uji. Tanaman daun sirih hijau diambil di daerah Lubuk Minturun, Kota Padang, Sumatra barat. Sebelum melakukan penelitian, sampel yang akan digunakan diuji identifikasi di Herbarium ANDA, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Andalas. Hal tersebut dilakukan sebagai langkah awal untuk menentukan benar atau tidaknya identitas sampel yang akan digunakan. Hasil identifikasi tersebut menyatakan bahwa sampel yang digunakan adalah daun sirih hijau (*Piper betle L.*) family Piperaceae. Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui efektivitas fraksi n-butanol daun sirih hijau (*Piper betle L.*) konsentrasi 15% terhadap penyembuhan luka bakar pada mencit putih jantan didasarkan pada persentase penyembuhan luka bakar, waktu epitelisasi dan histopatologi. Dilakukan konsentrasi 15%, dikarenakan berdasarkan penelitian sebelumnya menunjukkan ekstrak daun sirih konsentrasi 15% dapat menyembuhkan luka bakar.

Dalam penelitian ini digunakan fraksi n-butanol daun sirih hijau (*Piper betle L.*) yang di dapat dari ekstrak kental yang dilakukan proses fraksinasi yang bertujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan organoleptis fraksi n-butanol daun sirih hijau. Yang merupakan cara



pengujian dengan menggunakan panca indra manusia yang memiliki peranan penting dalam penerapan mutu dalam mendeskripsikan bentuk, warna dan bau. Tujuannya yaitu pengenalan awal yang sederhana dan seobjektif mungkin (Depkes, 2008). Hasil pemeriksaan organoleptis Fraksi n-butanol daun sirih hijau diperoleh berbentuk cairan kental, berwarna hijau kehitaman dan memiliki bau yang khas.

Pada penentuan rendemen fraksi n-butanol daun sirih hijau yang dihitung berdasarkan perbandingan antara berat produk akhir yaitu berat fraksi sebagai bahan dasar pembuatan sediaan dengan berat ekstrak daun sirih hijau, lalu dihitung dan dinyatakan dalam persen (%). Nilai rendemen yang didapatkan sebesar 11,70%, hal ini memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia, yaitu rendemen tidak kurang dari 7,2%. Selanjutnya pemeriksaan susut pengeringan fraksi n-butanol daun sirih hijau yang bertujuan untuk mengetahui persentase senyawa yang hilang selama proses pemanasan. Hasil uji susut pengeringan didapatkan hasil 4,240% Standar besarnya nilai susut pengeringan suatu fraksi adalah <11,00% (Depkes, 2008). Uji kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya fraksi. Didapatkan hasil uji kadar abu 3,203% hasil ini sesuai dengan ketentuan pada Material Medika Indonesia jilid IV yang menetapkan kadar abu total tidak lebih dari 14 %.

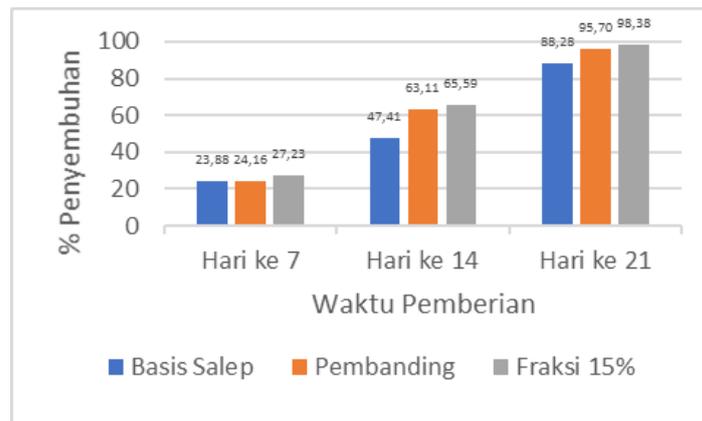
Uji skrining fitokimia merupakan salah satu cara untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada suatu tanaman. Uji skrining berguna untuk menentukan golongan utama dari senyawa aktif fraksi daun sirih hijau yang mendukung dalam proses penyembuhan luka bakar. Didapatkan hasil bahwa fraksi n-butanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) positif mengandung flavonoid, fenolik dan tanin.

Setelah dilakukan semua evaluasi fraksi, selanjutnya fraksi daun sirih hijau diformulasikan menjadi sediaan salep dengan basis salep vaselin flavum. Pemilihan vaselin

flavum sebagai basis salep dikarenakan daya penetrasi cukup bagus, sedikit mengandung air sehingga sulit ditumbuhi bakteri, lebih mudah digunakan dan kontak sediaan dengan kulit lebih lama (Syamsuni, 2006). Fraksi daun sirih hijau dibuat dalam konsentrasi 15% bertujuan untuk melihat kemampuan fraksi daun sirih hijau sebagai obat luka bakar terhadap mencit.

Hewan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit putih jantan yang sebelumnya sudah diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari dengan tujuan agar hewan mampu menyesuaikan diri dalam kondisi lingkungan yang baru sebelum pengujian dimulai. Hewan percobaan dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok 1 diberikan basis salep (vaselin flavum), kelompok 2 pembeding diberikan salep Tekasol® dan kelompok 3 diberikan fraksi n-butanol daun sirih hijau konsentrasi 15%. Pemberian sediaan pada masing-masing kelompok secara topikal 2 kali sehari pada pagi hari dan sore hari diberikan selama 21 hari dengan tujuan untuk melihat penyembuhan luka pada fase inflamasi dan fase proliferasi. Fase inflamasi berperan melawan infeksi pada awal terjadinya luka serta memulai fase proliferasi. Tujuan fase proliferasi ini adalah untuk membentuk keseimbangan antara pembentukan jaringan parut dan regenerasi jaringan (Primadina, 2019).

Proses penyembuhan luka yang diamati yaitu pengukuran luas luka awal dengan pengukuran luas luka pada hari ke-7, 14 dan 21. Pada proses pembuatan luka bakar digunakan logam berukuran 1 cm yang telah dipanaskan didalam air menggunakan hot platt, perbedaan diameter luka awal pada mencit dikarenakan teknis pengerjaan yang kurang baik saat menempelkan logam pada punggung mencit. Persentase penyembuhan luka yang diamati adalah pengukuran luas luka awal dengan pengukuran luas luka akhir, dimana persentase yang tinggi menandakan penyembuhan luka efektif dengan semakin mengecilnya ukuran luka dari hari ke hari.



Grafik 1. Rata-rata Persentase Luas Penyembuhan Luka Hari ke-7, 14 dan 21

Tujuan dilakukan pengamatan persentase luas penyembuhan luka bakar pada hari ke-7 untuk melihat penyembuhan luka pada fase inflamasi yang ditandai setelah terjadinya trauma dan bertujuan untuk melihat hemostatis, membuang jaringan mati dan mencegah infeksi invasif oleh mikroba patogen (Primadina et al., 2019). Didapatkan hasil rata-rata persentase luas penyembuhan luka bakar kelompok basis salep: 23,88%, kelompok pembanding 24,16% dan kelompok fraksi n-butanol 15%: 27,23%. Dapat dilihat kelompok fraksi n-butanol 15% memberikan hasil rata-rata persentase penyembuhan luka paling besar dibandingkan kelompok basis salep dan pembanding. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan salep fraksi n-butanol konsentrasi 15% memiliki efek lebih baik pada fase inflamasi karena memiliki kandungan kimia bermanfaat sebagai antiinflamasi yang mampu mempercepat peralihan dari respon inflamasi ke antiinflamasi yang mendorong penyembuhan luka (Giri, 2021).

Pada pengamatan persentase luas penyembuhan luka hari ke-14, dilakukan untuk melihat perkembangan penyembuhan luka bakar pada fase proliferasi yang bertujuan untuk membentuk keseimbangan antara pembentukan jaringan parut dan regenerasi jaringan (Primadina, 2019). Pada fase proliferasi terlihat inflamasi luka mulai berkembang dan adanya pembentukan jaringan granulasi pada luka. Di dapatkan hasil rata-rata persentase luas penyembuhan luka bakar pada kelompok hewan basis salep menunjukkan hasil 47,41%, kelompok pembanding 63,11% dan kelompok fraksi n-butanol konsentrasi 15%:

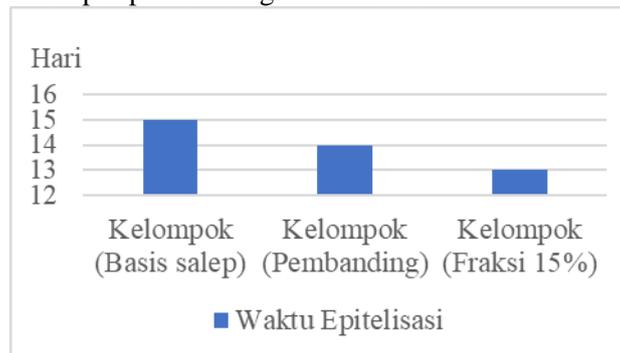
65,59%. Penelitian sebelumnya menunjukkan salep ekstrak etanol 70% daun sirih hijau dengan konsentrasi 15% mengalami pengecilan diameter pada hari ke-3, 7 dan 14 (Anjani, 2023). Pada hari ke-14 kelompok fraksi n-butanol memberikan hasil rata-rata persentase penyembuhan luka paling besar diantara kelompok lain. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok fraksi n-butanol 15% memiliki efek lebih baik pada fase awal proliferasi dikarenakan adanya kandungan kimia yang berfungsi sebagai astringen yang dapat menyebabkan penciutan pori-pori kulit, memperkeras kulit, menghentikan eskudat dan pendarahan ringan sehingga mampu menutupi luka (Giri, 2021).

Kemudian pada hari ke-21 dilakukan pengamatan untuk melihat bagaimana perkembangan penyembuhan luka bakar pada fase proliferasi menuju maturasi. Didapatkan hasil rata-rata penyembuhan luka pada kelompok hewan basis salep 88,28%, kelompok pembanding 95,70% dan kelompok fraksi n-butanol konsentrasi 15% dengan nilai rata-rata 98,38%. Pada persentase penyembuhan luka hari ke-21 menunjukkan bahwa kelompok fraksi daun sirih hijau konsentrasi 15% memiliki efek lebih baik pada fase proliferasi menuju remodelling dengan nilai rata-rata persen penyembuhan luka paling besar dibanding kelompok basis salep dan pembanding.

Berdasarkan persentase penyembuhan luka bakar pada hari ke-7, 14 dan 21 bahwa luka yang diberikan salep fraksi daun sirih hijau konsentrasi 15% menunjukkan nilai rata-rata persentase penyembuhan luka paling baik

di antara kelompok basis salep dan pembanding. Terdapat perbedaan kecepatan penyembuhan luka dikarenakan, pada kelompok basis salep persentase penyembuhan luka lebih rendah di bandingkan dengan kelompok perlakuan dan pembanding. Selanjutnya dilakukan uji statistik ANOVA 2 arah pada persentase penyembuhan luka, didapatkan hasil statistic lama pemberian $<0,05$ dan kelompok hewan $<0,05$ dengan Duncan basis berbeda nyata dengan pembanding dan fraksi tetapi pembanding

tidak berbeda nyata dengan fraksi, karena nilai pembanding dan fraksi tidak jauh berbeda. Hal ini disebabkan karena vaselin tidak memberikan efek penyembuhan luka, karena tidak mengandung bahan/zat aktif yang mampu memberikan reaksi perlawanan untuk menutupi luka. Adanya perbedaan kecepatan penyembuhan luka pada kelompok fraksi daun sirih hijau dikarenakan adanya kandungan metabolit sekunder pada fraksi daun sirih hijau yang mampu membantu proses penyembuhan luka.



Grafik 2. Waktu Epitelisasi

Pengamatan pada waktu epitelisasi adalah waktu yang diperlukan untuk terbentuknya epitel baru sempurna menutupi luka bakar yang di tandai dengan pengelupasan keropeng dari luka tanpa meninggalkan sisa luka di area luka. Waktu pelepasan keropeng menandakan bahwa sudah terjadi pertumbuhan sel-sel baru pada kulit sehingga membantu mempercepat lepasnya keropeng dan merapatnya tepi luka. Keropeng terlepas karena jaringan dibawahnya sudah kering dan tepi-tepi luka mulai tertarik ketengah (Aponno et al., 2014). Dari pengamatan yang dilakukan selama 21 hari pada hewan percobaan kelompok basis salep rata-rata pengelupasan keropeng terjadi pada hari ke-15, pada kelompok pembanding rata-rata pengelupasan keropeng terjadi pada hari ke-14 dan pada

kelompok fraksi daun sirih hijau konsentrasi 15% rata-rata pengelupasan keropeng terjadi pada hari ke-13. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi daun sirih hijau konsentrasi 15% memiliki waktu epitelisasi lebih baik dibanding kelompok lain. Perbedaan hari pada waktu epitelisasi dapat terjadi karena perbedaan pemberian sediaan.

Berdasarkan hasil analisis statistik dengan uji ANOVA 1 arah pada waktu epitelisasi didapatkan nilai signifikan sebesar 0,029 ($p < 0,05$), artinya terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dan kelompok basis salep. Dari hasil uji Duncan terlihat bahwa kelompok basis salep memiliki waktu epitelisasi yang lama dikarenakan kelompok fraksi berbeda nyata dengan kelompok basis salep.

Tabel 1. Hasil Skor Histopatologi Hewan Hari ke-7, 14 dan 21

Kelompok hewan	Hari ke	Epitelisasi	Fibroblast	Kolagen	Inflamasi
Basis salep	7	2,00	1,00	1,00	0,00
	14	2,00	1,33	1,00	0,00
	21	2,00	1,33	1,33	0,33
Pembanding	7	2,00	2,00	2,00	1,67
	14	2,67	2,67	2,33	2,00
	21	3,00	2,33	2,67	2,00
Fraksi 15%	7	2,00	2,33	2,00	0,33
	14	2,00	2,67	2,67	1,00
	21	2,67	3,00	3,00	1,00

Hasil pengamatan histopatologi dan penilaian menggunakan mikroskop pada jaringan kulit hari ke-7 terlihat bahwa epitelisasi memiliki skor sama yang menandakan pembentukan sel epitel belum sempurna. Fibroblast dan kolagen pada kelompok fraksi 15% memiliki rerata lebih tinggi dibanding kelompok basis salep dimana kolagen dan fibroblast sudah menyebar serta tampak penyatuan serabut. Pada kelompok fraksi 15% terjadi inflamasi cukup berat menandakan terjadinya fase inflamasi, yang nantinya akan memperbaiki jaringan yang rusak serta mempertahankan diri terhadap infeksi. Tanda-tanda inflamasi adalah berupa kemerahan (rubor), panas (kalor), nyeri (dolor), dan pembengkakan (tumor) (Primadina, 2019).

Pengamatan jaringan histopatologi hari ke-14 diperoleh skor hewan uji kelompok basis salep dan fraksi yaitu 2 sedangkan pada kelompok pembanding memiliki nilai lebih tinggi yaitu 2,67 pada skor epitelisasi. Skor fibroblast dan kolagen pada kelompok fraksi memiliki skor lebih tinggi dari pada kelompok basis salep dan pembanding. Skor kolagen dan fibroblast kelompok fraksi yaitu 2,67 artinya serabut kolagen saling terikat dan sel fibroblast lebih dari 50 sel yang menyebabkan penyembuhan luka lebih cepat dengan telah terbentuknya jaringan granulasi. Pada skor inflamasi kelompok pembanding di tahap inflamasi atau peradangan ringan sedangkan kelompok fraksi masih mengalami inflamasi sedang dan kelompok basis salep di tahap peradangan berat yang dapat menyebabkan kerusakan pembuluh darah karena inflamasi tidak kunjung reda.

Didapatkan skor kelompok hewan basis salep pada hari ke-21 dengan epitelisasi, fibroblast, kolagen dan inflamasi yang masih rendah dengan kolagen menyebar tipis/sedikit, sel fibroblast 5-10 sel, sel epitelisasi baru terbentuk dan masih mengalami inflamasi berat yang dapat menyebabkan luka lebih lama sembuh karna pembentukan jaringan yang belum stabil. Dapat dilihat bahwa kelompok fraksi 15% dengan skor 3 yang artinya luka sudah tertutup dengan sel fibroblast lebih dari 50 sel, serabut kolagen memadat dan saling terikat sempurna, inflamasi sedang dan epitelisasi incomplete dengan skor 2,67 mendekati skor 3 yaitu epitelisasi complete. Pada penelitian sebelumnya (Kusumawardhani, 2015) pengaruh sediaan salep ekstrak daun sirih konsentrasi 15% terhadap jumlah fibroblast didapatkan hasil jumlah fibroblast dengan skor 2 dengan jumlah sel fibroblast 10-50 sel. Dari hasil skor dapat dilihat bahwa kelompok fraksi n-butanol konsentrasi 15% memiliki efek lebih baik dibandingkan kelompok basis salep, pembanding dan ekstrak daun sirih. Dapat dinyatakan bahwa jenis sediaan dapat mempengaruhi proses penyembuhan luka. Hal ini dikarenakan adanya kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada daun sirih hijau yang berfungsi meningkatkan jumlah fibroblast dan kolagen karna kandungan tanin dan flavonoid. Tanin mempunyai aktivitas mekanisme seluler yaitu membesihkan radikal bebas dan oksigen reaktif, meningkatkan penyembuhan luka, serta meningkatkan pembentukan pembuluh darah kapiler dan aktivasi fibroblast. Flavonoid bekerja dengan cara menurunkan lipid peroksidasi sehingga

terjadi peningkatan viabilitas serat kolagen (Eva, 2017)

Kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yaitu flavonoid, fenolik dan tanin. Kandungan flavonoid dan tanin dapat membantu proses penyembuhan luka karena berfungsi sebagai antioksidan dan antimikroba yang dapat mempengaruhi penyembuhan luka dan dapat mempercepat epitelisasi (Eva, 2017). Senyawa fenol bersifat bakterisid maupun bakteriostatik dengan cara merusak dinding dan membrane sitoplasma sel bakteri serta denaturasi protein sel bakteri. Sifat antiseptik senyawa fenol tersebut berperan dalam fase inflamasi pada proses penyembuhan luka (Anjani, 2023). Tanin berfungsi sebagai agen astringen yang menyebabkan mengecilnya pori-pori kulit, menghentikan pendarahan ringan dan eksudat sehingga mampu mencegah pendarahan pada luka. Selain itu, senyawa tannin juga memiliki aktivitas sebagai antibakteri dengan cara menghancurkan dinding sel bakteri (Giri, 2021). Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan, antimikroba dan antiinflamasi. Cara kerja antioksidan adalah dengan memutus reaksi berantai dari radikal bebas sehingga dapat mencegah kerusakan jaringan (Reza Fitra Kusuma Negara, 2014). Senyawa flavonoid diketahui memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi dengan menurunkan peningkatan kadar IL-1 (Interleukin-1) dan TNF-alfa (Tumor Necrosis Faktor-alfa) serta mempercepat peralihan dari respon inflamasi ke antiinflamasi yang mendorong penyembuhan luka (Giri, 2021). Flavonoid dapat bekerja sebagai antimikroba dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membrane sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Noventi, 2016). Flavonoid dapat membantu penyembuhan luka dengan meningkatkan pembentukan kolagen dan meningkatkan jumlah fibroblast (Ambiga, 2007). Luka yang diberi fraksi daun sirih dengan kandungan zat aktif tersebut akan merangsang proliferasi fibroblast dan fibroblast yang teraktivasi akan menyekresi kolagen dan membentuk jaringan granulasi. Terbentuknya jaringan granulasi yang sempurna akan menutup permukaan luka. Pembentukan jaringan granulasi mengakhiri

fase proliferasi proses penyembuhan luka dan mulai pematangan dalam fase remodeling. Dengan banyaknya khasiat yang terdapat pada kandungan flavonoid, fenolik dan tannin menyebabkan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) efektif terhadap penyembuhan luka bakar.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian uji efektivitas fraksi n-butanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap penyembuhan luka bakar pada mencit putih jantan diperoleh kesimpulan bahwa:

1. Pemberian fraksi n-butanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan konsentrasi 15% efektif dalam penyembuhan luka bakar. Dilihat dari 3 parameter yaitu persentase penyembuhan luka, waktu epitelisasi dan histopatologi
2. Lama pemberian salep fraksi n-butanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) pada konsentrasi 15% mempengaruhi efektivitas penyembuhan luka bakar pada mencit putih jantan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambiga, S. N. (2007). Evaluation Of Wound Healing Activity Of Flavonoids From *Ipomoea Carnea* Jacq. *Ancient Science of Life*, 26 (3), 45–51.
- Anjani, R. C. (2023). Uji Efektivitas Salep Ekstrak Etanol Daun Sirih Terhadap Diameter Luka Pada (*Rattus Novergicus*). *Majalah Kedokteran Andalas*, Vol. 46, No.2, Hal (245-250).
- Aria, M. V. (2015). Uji Efek Antiinflamasi Fraksi Daun *Piladang* (*Solenostemonscutellarioides* (L.) Codd) terhadap Mencit Putih Betina. *Scientia : Jurnal Farmasi Dan Kesehatan*, 5(2), 84.
- Ariningrum, D. &. (2018). *Buku Pedoman Manajemen Luka*. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Asri, M. (2017). Pengaruh Efek Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper Betle* Linn.) Sebagai Antioksidan Terhadap Luka Bakar Pada Kulit Punggung Kelinci (*Oryctolagus Cuniculus*). *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 9(2), 182–187.



- Depkes, R. (2008). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Eva, F. P. (2017). Pemberian ekstrak daun sirih (Piper betle) secara topikal meningkatkan ketebalan epidermis, jumlah fibroblas, dan jumlah kolagen dalam proses penyembuhan luka pada tikus jantan galur Wistar (Rattus norvegicus). *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, vol.5, no.1, pp:34-43.
- Giri, I. M. (2021). Peran Metabolit Sekunder Tumbuhan dalam Pembentukan Kolagen pada Kulit Tikus yang Mengalami Luka Bakar. *Jurnal Integrasi Obat Tradisional*, 1(1), 23–29.
- Izzati, U. Z. (2015). Efektivitas Penyembuhan Luka Bakar Salep Ekstrak Etanol Daun Senggangi (Melastoma Malabathricum L.) Pada Tikus (Rattus Norvegicus) Naskah Publikasi . -.
- Kemenkes. (2019). *Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor Hk.01.07/Menkes/555/2019 Tentang Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Tatalaksana Luka Bakar*. Jakarta.
- Kusumawardhani, A. D. (2015). 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. *Majalah Kesehatan FKUB*, 2(1), 16–28.
- Latuheru, J. O. (2013). Efek Daun Sirih (Piper batle L.) terhadap Penyembuhan Luka Insisi Kulit Kelinci (Oryctolagus Cuniculus). *Jurna E-Biomedic EBM*, Vol. 1, No, hal 802-805.
- Musfiroh, M. I. (2020). Efektivitas Salep Ekstrak Etanol 70% Daun Sirih Terhadap Epitelisasi Luka Tikus Putih. *Ejournal Kedokteran Indonesia*, 8(3).
- Noventi, W. R.-4.-2.-P. (2016). Potensi Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper betle L .) sebagai Alternatif Terapi Acne vulgaris The Potential of Green Sirih Leaf (Piper betle L .) for Alternative Therapy Acne vulgaris. *Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung*, Vol. 5(1), Hal. 140.
- Primadina, N. B. (2019). Proses Penyembuhan Luka Ditinjau dari Aspek Mekanisme Seluler dan Molekuler. *Qanun Medika - Medical Journal Faculty of Medicine Muhammadiyah Surabaya*, 3(1), 31.
- Purnama, N. (2017). Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Tumbuhan Daun Sirih (Piper batle L.). *Prosiding Seminar Nasional Mipa III*, (pp. 437–441.).
- Reza, F. K. (2014). Pengaruh Perawatan Luka Bakar Derajat II Menggunakan Ekstrak Etanol Daun Sirih (Piper betle Linn.) Terhadap Peningkatan Ketebalan Jaringan Granulasi pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) Jantan Galur Wistar. *Majalah Kesehatan FKUB*, 86–94.
- Sari, S. I. (2018). Pengaruh Pendidikan Kesehatan Dengan Metode Demonstrasi Terhadap Praktik Pertolongan Pertama Luka Bakar Pada Ibu Rumah Tangga Di Garen Rt.01/Rw.04 Pandean Ngeplak Boyolali. *Jurnal Kesehatan Kusuma Husada*, 98–105.
- Sartika, D. R. (2021). Uji Efektivitas Salep Ekstrak Daun Sirih Hutan (Piper Aduncum L.) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Katalisator*, 6(2), 307–318.
- Syamsuni. (2006). *Farmasetika Dasar dan Hitungan Farmasi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Yulianto, S. (2017). Penggunaan Tanaman Herbal Untuk Kesehatan. *Jurnal Kebidanan Dan Kesehatan Tradisional*, 2(1), 1–7.