

## **Pengaruh gel ekstrak daun kerehau (*Callicarpa longifolia* Lam.) terhadap penyembuhan luka pada model tikus diabetes**

**Sansan Candra<sup>1</sup>, Elis Susilawati<sup>1</sup>, I Ketut Adnyana<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Sekolah Tinggi Farmasi Bandung, Jl Soekarno Hatta No. 754 Cibiru, Bandung

<sup>2</sup>Sekolah Farmasi, ITB, Jl. Ganesha No. 10 Bandung

Corresponding author email: sancandra3@gmail.com

### **Abstrak**

Luka diabetes adalah infeksi, luka dan destruksi pada penderita diabetes melitus. Daun kerehau secara empiris digunakan oleh suku Dayak Tunjung sebagai obat luka dan bengkak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh gel ekstrak daun kerehau terhadap penyembuhan luka pada model tikus diabetes. Induksi diabetes dilakukan menggunakan aloksan dosis 75 mg/kg BB intravena. Model hewan diabetes dibuat luka dengan kedalaman 0,3 cm menggunakan scalpel steril pada bagian punggung. Hewan uji dibagi menjadi lima kelompok dan mendapatkan sediaan basis gel, Prontosan<sup>®</sup> gel, sediaan gel ekstrak daun kerehau konsentrasi 2,5%, 5%, dan 10%. Pengolesan gel dilakukan dua kali sehari selama 13 hari. Parameter penyembuhan luka dilakukan dengan mengukur panjang luka dan dinyatakan dengan persentase penyembuhan luka. Hasil pengujian menunjukkan bahwa dengan pemberian gel ekstrak daun kerehau dapat mempercepat penyembuhan luka pada model tikus diabetes dimana sediaan gel ekstrak daun kerehau konsentrasi 2,5% memberikan kesembuhan pada hari ke-13, sediaan gel konsentrasi 5% pada hari ke-12, dan sediaan gel konsentrasi 10% pada hari ke-9. Hasil juga menunjukkan rata-rata persentase penyembuhan luka pada kelompok konsentrasi 10% lebih tinggi dibandingkan konsentrasi 2,5% dan 5%. Dapat disimpulkan bahwa pemberian gel ekstrak daun kerehau dapat menyembuhkan luka pada model tikus diabetes.

**Kata kunci:** Luka diabetes, daun kerehau, penyembuhan luka

### ***Effect of Kerehau Leaves Extract Gel to Wound Healing Process in Diabet Rats Model***

#### ***Abstract***

*Diabetic wounds are infection, injury and destruction in people with diabetes mellitus. Kerehau leaves are empirically used by the Tunjung Dayak tribe as a medicine for wounds and swelling. The aim of this study was to determine the effect of Kerehau leaf extract gel on wound healing in diabetic mouse models. Induction of diabetes is done using alloxan dose of 75 mg / kg BW intravenously. The diabetic animal model was made with a 0.3 cm depth wound using a sterile scalpel on the back. The test animals were divided into five groups and obtained base gel preparations, Prontosan<sup>®</sup> gel, preparations of Kerehau leaf extract gel concentrations of 2.5%, 5%, and 10%. Gel application is done twice a day for 13 days. Wound healing parameters were performed by measuring the length of the wound and expressed by the percentage of wound healing. The test results showed that administration of Kerehau leaf extract gel could accelerate wound healing in diabetic mouse models where the preparations of Kerehau leaf extract gel with a concentration of 2.5% gave healing on the 13th day, preparations for 5% gel on 12th day, and preparations gel concentration of 10% on day 9. The results also showed that the average percentage of wound healing in the concentration group was 10% higher than the concentration of 2.5% and 5%. It can be*

*concluded that administration of Kerehau leaf extract gel can heal wounds in diabetic mouse models.*

**Keywords:** *Diabetic ulcer, kerehau leaf, wound healing*

## **Pendahuluan**

Diabetes melitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya (ADA, 2017). Prevalensi DM di dunia pada tahun 2014 adalah sekitar 387 juta, dan diperkirakan akan menjadi 592 juta pada tahun 2035. Di Indonesia juga diprediksi adanya kenaikan jumlah penyandang DM dari 9,1 juta pada tahun 2014 menjadi 14,1 juta pada tahun 2035 (IDF, 2015).

Diabetes melitus disebut *the silent killer* karena dapat menyerang semua organ tubuh dan menimbulkan komplikasi. Komplikasi pada penderita DM terjadi apabila mengalami hiperglikemi dalam jangka waktu lama. Salah satu keluhan yang terjadi pada pasien DM ialah timbul luka yang sulit disembuhkan yang disebut dengan ulkus diabetik. Sekitar 15% dari keseluruhan jumlah penderita diabetes di Indonesia mengalami ulkus diabetik yang menyebabkan 23,5% dari seluruh penderita ulkus diabetik mengalami amputasi (Santosa dan Nikmah, 2014).

Ulkus diabetik merupakan salah satu komplikasi diabetes yang berasal dari komplikasi neuropati dan/atau penyakit arteri perifer (ADA, 2017). Sekitar 20-40% pasien diabetes menderita neuropati diabetes dan hampir 50% berkembang menjadi penyakit pembuluh darah perifer yang berujung pada amputasi (Jan dkk., 2016). Biaya yang diperlukan untuk pengobatan ulkus diabetik diperkirakan sekitar 3.096-107.900 dolar Amerika. Besar biaya yang diperlukan tergantung pada tingkat keparahan ulkus (Hunt dkk., 2011).

Saat ini penggunaan tumbuhan sebagai obat diminati masyarakat karena efek samping yang rendah dibanding penggunaan obat kimia dan merupakan alternatif menurunkan tingginya biaya pengobatan.

Salah satu tumbuhan yang biasa digunakan sebagai obat luka dan bengkak oleh suku Dayak Tunjung adalah kerehau (*Callicarpa longifolia* Lam.). Secara empiris, daun kerehau memiliki khasiat sebagai obat masuk angin, malaria, ulkus, diare, pengobatan setelah persalinan, dan demam. Sebagai obat bengkak, daun ditumbuk dan ditempelkan pada bengkak kemudian dibalut dan ditutup kain penutup. (Semiawan dkk., 2015).

Penelitian gel ekstrak etanol daun kerehau terhadap penyembuhan luka pada punggung kelinci terbukti berefek. Ekstrak etanol daun kerehau juga diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi (Semiawan *et al.*, 2015). Daun kerehau mengandung flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid (Supomo dkk., 2016). Metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid/steroid dapat digunakan untuk mempercepat penutupan luka pada mencit model diabet (Malini dkk., 2017).

Penggunaan daun kerehau untuk luka pada diabetes dapat diformulasikan dengan tujuan mempermudah dalam penggunaannya salah satunya dalam bentuk sediaan gel. Bentuk sediaan gel dipilih karena mempunyai beberapa keunggulan dibanding jenis sediaan topikal lain, yaitu memiliki kemampuan pelepasan obat yang baik, mudah dibersihkan dengan air, memberikan efek dingin akibat penguapan lambat di kulit, mempunyai kemampuan penyebaran yang baik di kulit serta tidak memiliki hambatan fungsi rambut secara fisiologis. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dilakukan penelitian mengenai pengaruh gel ekstrak daun kerehau (*C. longifolia* Lam.) terhadap penyembuhan luka pada model tikus diabetes.

## Metode

**Alat.** Kandang tikus, tempat minum tikus, timbangan analitik, blender, alat-alat gelas (*pyrex*), *rotary vaporator*, baki plastik, wadah gel, wadah kaca, batang pengaduk, pipet tetes, spatel, spuit injeksi, glukometer *Easy Touch*, lanset, alat pencukur bulu, *scalpel* steril, dan jangka sorong.

**Bahan.** Daun kerehau, alkohol 96%, strip pengukur gula darah, aquades, amonia 25%, kloroform, HCl, pereaksi *Meyer*, pereaksi *Dragendroff*, serbuk Mg, amil alkohol, FeCl<sub>3</sub> 1%, gelatin, eter, asam asetat anhidrat, asam sulfat, kertas saring, kertas label, karbopol, TEA, propilenglikol, gliserin, DMDM Hydantoin, n-heksan, makanan tikus, tisu, *cotton bud*, kasa steril, alkohol 70%, kapas, aloksan, lidokain 2% injeksi dan Prontosan<sup>®</sup> gel.

**Hewan Uji.** Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus Wistar jantan dengan bobot 180-250 gram berumur 2-3 bulan, sehat dan memiliki aktivitas normal yang diperoleh dari Fakultas Peternakan, Universitas Padjajaran. Penelitian ini telah mendapatkan keterangan lolos kaji etik (*ethical approval*) dari Komisi Etik Penelitian Universitas Padjajaran Bandung dengan nomor 148/UN6.KEP/EC/2018.

## Prosedur Penelitian

**Pengambilan Simplisia.** Simplisia yang digunakan untuk penelitian ini adalah daun kerehau yang diperoleh dari daerah Muara Muntai, Kabupaten Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur. Determinasi dilakukan di Laboratorium Anatomi dan Sistematis FMIPA Universitas Mulawarman Samarinda

**Pembuatan Ekstrak Daun Kerehau.** Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara maserasi menggunakan etanol 96%. Simplisia dimasukkan ke dalam wadah kaca, setelah itu ditambahkan etanol 96% dengan perbandingan 1:10 dan direndam selama 24 jam. Setelah itu filtrat dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan *rotary vaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

**Purifikasi Ekstrak.** Ekstrak kental daun kerehau ditimbang kemudian dilarutkan dengan air panas perbandingan 1:10 dan

disaring panas-panas. Klorofil akan menggumpal dan ekstrak air ditampung selanjutnya dipekatkan di penangas air.

**Pembuatan Gel Ekstrak Daun Kerehau.** Pembuatan gel diawali dengan mencampurkan karbopol dalam aquades hingga homogen. Setelah itu ditambahkan propilenglikol, gliserin dan trietanolamin (TEA) hingga terbentuk gel yang mengembang dan jernih. Kemudian campuran tersebut ditambahkan DMDM Hydantoin. Setelah terbentuk gel kemudian ditambahkan ekstrak daun kerehau, diaduk hingga homogen. Setelah itu gel disimpan dalam wadah tertutup. Formula gel ekstrak daun kerehau disajikan pada Tabel 1 (Dewantari dan Nining, 2015).

Tabel 1. Formula Gel Ekstrak Daun Kerehau

Bahan	Konsentrasi (%) b/v			
	Basis gel	GEDK 2,5%	GEDK 5%	GEDK 10%
Ekstrak daun kerehau	-	2,5	5	10
Karbopol	2	2	2	2
TEA	1	1	1	1
Propilenglikol	10	10	10	10
Gliserin	2	2	2	2
DMDM	0,6	0,6	0,6	0,6
Hyadantoin	0,6	0,6	0,6	0,6
Aquades ad	100	100	100	100

Keterangan:

GEDK 2,5%: Gel ekstrak daun kerehau, konsentrasi 2,5%, GEDK 5%: Gel ekstrak daun kerehau konsentrasi 5%, GEDK 10%: Gel ekstrak daun kerehau konsentrasi 10%

## Pengujian Sediaan Gel

### a. Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan untuk melihat tampilan fisik sediaan dengan cara melakukan pengamatan bentuk, warna, dan bau dari gel ekstrak daun kerehau.

### b. Uji Homogenitas

Dioleskan pada sekeping kaca transparan dimana sediaan diambil bagian atas, tengah, dan bawah. Homogenitas ditunjukkan dengan tidak adanya butiran kasar pada sediaan.

### c. Uji pH

Pengujian pH dilakukan dengan menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi. Elektroda dicelupkan dalam

sediaan dan dicatat nilai pH yang muncul konstan di layar.

#### d. Uji Daya Sebar

Sebanyak 0,5 g gel diletakan dalam kaca arloji, kaca arloji lainnya diletakan di atasnya dan didiamkan selama 1 menit. Setelah itu, ditambahkan 150 g beban didiamkan 1 menit dan diukur diameter konstan (Mappa dkk., 2013).

**Pemodelan Tikus Diabetes.** Semua tikus diinduksi aloksan dengan dosis 75 mg/kg BB secara intravena. Hari ke-4 pasca induksi aloksan, tikus diukur kadar glukosa darahnya. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan dengan menggunakan glukometer. Tikus dinyatakan diabetes jika kadar glukosa darah  $\geq 200$  mg/dL (ADA, 2017). Tikus yang telah diabetes kemudian dikelompokkan menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus.

**Pembuatan Luka Diabetes.** Masing-masing tikus yang telah diabetes dibuat luka sayat pada bagian punggung. Cara pembuatan luka mula-mula tikus dicukur rambut di daerah punggung bagian atas. Pada saat akan dibuat luka, tikus dianestesi menggunakan lidokain 2% dengan dosis 0,2 mL lidokain dalam 1 mL NaCl 0,9% secara subkutan (Pazry dkk., 2017). Setelah itu mengoleskan alkohol 70% pada daerah punggung yang telah dicukur bulunya, kemudian dilukai dengan menggunakan *scalpel* steril dengan kedalaman luka 0,3 cm atau mencapai dermis, ditandai dengan keluarnya darah (Eriadi dkk., 2015). Pada setiap kelompok diberi perlakuan yakni tikus yang diberi basis gel, Prontosan<sup>®</sup> gel, gel ekstrak daun kerehau konsentrasi 2,5%, 5%, dan 10%.

Pemberian gel dilakukan secara topikal dengan cara mengoleskan gel di bagian luka pada tikus dengan menggunakan *cotton bud* setiap hari sebanyak 2 kali sehari. Untuk mencegah terjadinya infeksi pada luka dilakukan dengan menjaga kebersihan kandang baik sebelum dan selama perlakuan. Parameter yang diamati pada penelitian

meliputi tampilan morfologis pada luka, panjang luka, dan lama penyembuhan luka.

#### Persentase Penyembuhan Luka.

Persentase penyembuhan luka dihitung dengan rumus:

$$\text{Panjang luka} = \frac{\text{luka awal (cm)} - \text{luka akhir (cm)}}{\text{luka awal (cm)}} \times 100\%$$

**Analisis Data.** Hasil pengamatan persentase penyembuhan luka diuji secara statistik menggunakan uji analisis varian (ANAVA) dengan taraf kepercayaan 95%. Jika terdapat perbedaan antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* LSD.

#### Hasil dan Pembahasan

**Purifikasi Ekstrak.** Ekstrak yang diperoleh dari proses ekstraksi menggunakan pelarut organik atau air, sering mengandung senyawa yang tidak diinginkan seperti zat warna (klorofil), lilin, resin, dan sejenisnya. Keberadaan zat-zat tersebut ditinjau dari aktifitas, jarang diperlukan bahkan menjadikan ketidakstabilan sifat fisika ekstrak ketika akan diformulasi (Suryani dkk., 2017). Penggunaan ekstrak terpurifikasi dapat meminimalkan masa suatu ekstrak dalam tujuan praktis pembuatan sediaan secara farmasetis karena beberapa komponen yang terkandung dapat direduksi dengan proses tersebut (Malik dkk., 2017). Ekstrak kental awalnya berwarna hijau tua setelah disaring menjadi berwarna coklat kemerahan. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *water bath* menjadi 60 mL, sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak kental hasil purifikasi adalah 63,33 %.

**Hasil Skrining Fitokimia.** Skrining fitokimia terhadap simplisia dan ekstrak terpurifikasi dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalamnya. Hasil pemeriksaan skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Simplisia dan Ekstrak Terpurifikasi Daun Kerehau

Golongan Senyawa	Pereaksi	Hasil Skrining	
		Simplisia	Ekstrak Terpurifikasi
Alkaloid	Mayer	(-) tidak ada endapan	(-) tidak ada endapan
	Bouchardat	(-) tidak ada endapan	(-) tidak ada endapan
	Dragendorf	(-) tidak ada endapan	(-) tidak ada endapan
Flavonoid	Serbuk Mg + HCl pekat + Amil alkohol	(+) warna jingga pada lapisan amil alkohol	(+) warna jingga pada lapisan amil alkohol
	Air panas, dikocok + HCl 2N	(+) busa stabil	(+) busa stabil
Saponin	Polifenol	FeCl <sub>3</sub> 1%	(+) warna ungu kehitaman
			(+) warna ungu kehitaman
Tanin	Gelatin	(-) tidak ada endapan	(-) tidak ada endapan
Kuinon	NaOH 1 N	(+) warna merah	(+) warna merah
Steroid	Lieberman-Bouchard	(+) warna hijau	(+) warna hijau

Keterangan:(+) = Mengandung senyawa kimia; (-) = Tidak mengandung senyawa kimia

Dari hasil yang diperoleh, ekstrak terpurifikasi mengandung metabolit sekunder yang sama seperti pada skrining simplisia. Hal ini membuktikan proses purifikasi ekstrak yang dilakukan tidak menghilangkan kandungan metabolit sekunder, melainkan hanya mengurangi kandungan klorofil yang terdapat pada ekstrak.

### Evaluasi Gel

**Uji Organoleptik.** Uji organoleptik dilakukan sebagai uji pendahuluan gel yang meliputi bau, warna dan konsistensi dari tiap formula. Hasil uji organoleptik dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Organoleptik Sediaan Gel

Jenis Gel	Bentuk	Warna	Bau
Basis gel	Setengah padat	Bening	Hampir tidak berbau
GEDK 2,5%	Setengah padat	Merah	Bau khas daun kerehau
GEDK 5%	Setengah padat	Merah kecoklatan pekat	Bau khas daun kerehau
GEDK 5%	Setengah padat	Merah kecoklatan pekat	Bau khas daun kerehau

**Keterangan:** GEDK 2,5%: Gel ekstrak daun kerehau konsentrasi 2,5%; GEDK 5%: Gel ekstrak daun kerehau konsentrasi 5%; GEDK 10%: Gel ekstrak daun kerehau konsentrasi 10%

Dari hasil pemeriksaan warna menunjukkan perbedaan. Hal ini karena perbedaan konsentrasi dari ekstrak daun kerehau pada masing-masing gel tersebut.

Semakin banyak kandungan ekstrak daun kerehau dalam sediaan, maka warna gel akan semakin mirip dengan warna dari ekstrak. Pengamatan dari segi bau menunjukkan basis gel hampir tidak berbau. Sedangkan sediaan gel ekstrak daun kerehau dengan variasi konsentrasi 2,5% dan 5% memiliki bau khas yaitu bau khas daun kerehau. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin kuat bau khas ekstrak daun kerehau.

**Uji Homogenitas.** Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa gel ekstrak daun kerehau pada berbagai variasi konsentrasi ekstrak homogen yang ditandai dengan tidak adanya gumpalan maupun butiran kasar pada gel. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak tidak mempengaruhi homogenitas gel.

**Uji Daya Sebar.** Pada pengujian daya sebar dilakukan untuk mengetahui penyebaran sediaan gel. Semakin mudah diratakan pada kulit maka akan semakin memperluas area kulit dan absorpsi zat aktifnya semakin besar. Daya sebar yang baik membentuk lingkaran dan tersebar secara merata akan menjamin pelepasan obat yang merata pada bagian kulit yang akan dioleskan sediaan gel. Menurut Mappa dkk (2013) daya sebar sediaan gel yang baik antara 5-7 cm. Berdasarkan hasil tersebut sediaan gel yang dibuat masuk dalam daya sebar yang baik untuk sediaan gel.

Tabel 4. Hasil Uji Daya Sebar Sediaan Gel

Jenis Gel	Diameter Daya Sebar
Basis Gel	5,72 cm
Gel Ekstrak Daun Kerehau Konsentrasi 2,5%	5,50 cm
Gel Ekstrak Daun Kerehau Kosentrasi 5%	5,27 cm
Gel Ekstrak Daun Kerehau Konsentrasi 10%	5,10 cm

**Uji pH.** Hasil uji pH diperoleh semua sediaan memiliki pH 5. Pengujian pH dilakukan untuk memastikan sediaan gel yang dibuat memiliki pH yang sesuai dengan pH fisiologis kulit. Nilai pH yang terlalu rendah atau asam dapat menyebabkan iritasi pada kulit, sedangkan pH terlalu tinggi atau basa dapat menyebabkan kulit bersisik dan dapat menyebabkan kulit menjadi kering (Eriadi dkk., 2015). Hasil menunjukkan bahwa nilai pH sediaan gel masih berada pada rentang yang diperbolehkan untuk digunakan secara topikal.

**Pemodelan Tikus Diabetes.** Pemodelan tikus diabetes dilakukan dengan induksi aloksan 75 mg/kg BB secara intravena. Aloksan dilarutkan dalam larutan isotonis NaCl 0,9% dan segera disuntikkan setelah aloksan larut. Pada hari ke-4 pasca penyuntikan aloksan tikus menunjukkan kadar glukosa darah >200 mg/dL yang dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Kadar Glukosa Darah Rata-rata

Kelompok	Kadar Glukosa Darah (mg/dL) (mean ± SD)		
	KGD0	KGD1	KGD2
Prontosan® gel	101,67 ± 8,98	210,5 ± 8,71	203,67 ± 4,93
Basis gel	108,67 ± 8,26	217,16 ± 4,66	216,00 ± 3,10
GEDK 2,5%	83,50 ± 11,98	211,67 ± 10,91	215,67 ± 11,06
GEDK 5%	80,33 ± 11,25	213,00 ± 6,75	229,67 ± 8,11
GEDK 10%	93,33 ± 10,54	220,73 ± 8,60	225,11 ± 6,32

Keterangan:

KGD0= Kadar glukosa darah sebelum induksi,

KGD1= Kadar glukosa darah pasca induksi,

KGD2= Kadar glukosa darah hari ke-8 pengamatan luka

Pada hari ke-8 pengamatan luka, kadar glukosa darah kembali diukur untuk mengetahui apakah tikus masih dalam kondisi hiperglikemia atau tidak. Dari Tabel 5 menunjukkan tikus masih mengalami hiperglikemia, namun pada kelompok Prontosan® gel dan basis gel mengalami penurunan jika dibandingkan kadar glukosa pasca induksi. Hal ini disebabkan aloksan merusak sel β pankreas dengan kerusakan yang berbeda-beda sehingga tidak semua sel β pankreas mengalami kerusakan dan adanya kemampuan sel β melakukan regenerasi. Akibatnya, sel β masih dapat menghasilkan insulin sehingga glukosa darah menurun (Kurnawan dkk., 2014).

**Pengujian Efek Gel Daun Kerehau Pada Luka Model Tikus Diabetes.** Semua tikus yang telah diabetes dicukur bulu bagian punggungnya sehari sebelum dilukai. Luka sayat dibuat menggunakan *scalpel* steril dengan kedalaman 0,3 cm atau mencapai dermis, ditandai dengan keluarnya darah (Eriadi dkk., 2015). Luka yang dibuat merupakan luka derajat 1 (luka superficial) menurut klasifikasi Wagner-Meggitt.

Penyembuhan luka pada kondisi diabetes sedikit berbeda pada kondisi normal. Terdapat beberapa faktor fisiologis yang berperan dalam defisiensi penyembuhan luka pada individu dengan diabetes. Faktor-faktor ini meliputi gangguan aliran darah dan oksigenasi akibat meningkatnya kadar glukosa darah, menurunnya sintesis kolagen dan fibronektin, dan menurunnya kadar insulin, fungsi makrofag dan hormon pertumbuhan. Tujuan penyembuhan luka pada kondisi diabetes adalah mempercepat proses penutupan luka dengan menstimulasi faktor-faktor pertumbuhan sehingga mampu berfungsi normal (Kurnawan dkk., 2014).

Penyembuhan luka merupakan proses yang kompleks dikarakteristik oleh 4 fase, yaitu fase koagulasi atau hemostatis, fase inflamasi, fase proliferasi dan fase *remodeling*. Fase hemostatis merupakan fase yang menekan pendarahan awal saat terjadinya luka yang dapat terlihat pada 10-30 menit setelah terjadinya luka. Pada fase ini teramati luka masih tampak merah,

terjadi pendarahan, serta belum ada penutupan luka. Selanjutnya fase inflamasi ditandai dengan reaksi kemerahan, sensasi hangat, dan nyeri. Fase ini berlangsung 1-6 hari setelah terjadinya luka dan berfungsi untuk pembersihan luka yang ditandai banyaknya neutrofil dan makrofag pada luka yang membantu fagositosis bakteri dan benda asing (Baranoski dan Ayello, 2008). Fase proliferasi yaitu fase pembentukan jaringan baru berupa re-epitelisasi, neovaskularisasi, dan pembentukan kolagen yang dapat berlangsung pada hari ke 5-21 setelah terjadi luka (Bryant dan Nix, 2007).

Luka pada hewan uji dinyatakan sembuh ditandai dengan adanya pembentukan keropeng, penutupan luka, dan tumbuhnya kulit baru serta bulu di sekitar luka. Parameter penyembuhan luka dapat diamati dengan mengukur panjang luka setiap hari, mengamati tampilan morfologis luka, dan lama penutupan luka. Hal ini dilakukan untuk membandingkan kemampuan penyembuhan dari setiap kelompok perlakuan. Hasil pengamatan tampilan morfologis luka dapat dilihat pada Tabel 6.

Selanjutnya untuk pengukuran terhadap panjang luka dilakukan dengan menggunakan jangka sorong. Pengukuran ini dilakukan setiap hari mulai dari hari ke-0 yakni hari dibuatnya luka sampai hari ke-13. Hasil pengukuran dapat dilihat pada Tabel 7.

Pada Tabel 7 menunjukkan bahwa pemberian gel ekstrak daun kerehau dengan konsentrasi 2,5%, 5%, dan 10% dapat menyembuhkan luka pada model tikus diabetes masing-masing pada waktu 13, 12, dan 10 hari. Pada kelompok perlakuan basis gel menunjukkan efek berkurangnya panjang luka paling lama, sedangkan kelompok perlakuan Prontosan<sup>®</sup> Gel paling cepat yakni 9 hari. Namun panjang luka awal (hari ke-0) tiap kelompok berbeda, sehingga untuk lebih memastikan hasil yang diperoleh dilakukan dengan perhitungan persentase penyembuhan luka. Hasil perhitungan persentase penyembuhan luka tiap kelompok dapat dilihat pada Tabel 8.

Berdasarkan data pengamatan, diketahui bahwa proses penyembuhan luka mulai

terjadi pada hari ke-1 dengan kecepatan penyembuhan yang berbeda tiap kelompok. Semakin besar persen penyembuhan luka maka semakin kecil panjang luka. Pada Tabel 8 menunjukkan bahwa mulai hari ke-1 hingga hari ke-13 peningkatan persentase penyembuhan luka pada kelompok yang diberi gel uji dan Prontosan<sup>®</sup> gel lebih besar daripada kelompok yang hanya diberi basis gel. Pemberian Prontosan<sup>®</sup> gel menunjukkan rata-rata persentase penyembuhan luka yang paling tinggi bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya yang telah mencapai 100% pada hari ke-9. Hal ini dikarenakan Prontosan<sup>®</sup> gel mengandung zat aktif 0,1% undecylenamidopropyl betaine dan 0,1% polyaminopropyl biguanide (Polihexanide). Betaine mengurangi tegangan permukaan dari biofilm yang mengakibatkan maserasi dari biofilm yang memungkinkan terjadi proses penetrasi yang lebih baik ke dalam. Setelah itu, biofilm dengan mudah dihilangkan. Polyhexanide memiliki efek antiseptik yang mencegah kontaminasi dan meningkatkan proses granulasi dan epitelisasi. Tidak toksik, tidak menyebabkan iritasi jaringan atau penyerapan jaringan (Horrocks, 2006).

Tabel 6. Pengamatan Penyembuhan Luka Tiap Kelompok

Hari ke-	Kelompok				
	Prontosan® Gel	Basis Gel	GEDK 2,5%	GEDK 5%	GEDK 10%
0					
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					

Tabel 7. Panjang Luka Rata-rata Pada Punggung Tikus

Hari ke-	Rata-rata panjang luka (cm) (mean ± SD)				
	Prontosan® Gel	Basis Gel	GEDK 2,5%	GEDK 5%	GEDK 10%
0	1,68 ± 0,20	1,56 ± 0,04	1,51 ± 0,02	1,54 ± 0,03	1,73 ± 0,08
1	1,42 ± 0,18	1,52 ± 0,03	1,48 ± 0,03	1,50 ± 0,04	1,69 ± 0,08
2	1,28 ± 0,18	1,46 ± 0,04	1,44 ± 0,05	1,45 ± 0,03	1,58 ± 0,11
3	1,18 ± 0,18	1,39 ± 0,07	1,32 ± 0,02	1,36 ± 0,06	1,42 ± 0,08
4	1,03 ± 0,23	1,32 ± 0,08	1,22 ± 0,08	1,20 ± 0,05	1,22 ± 0,12
5	0,73 ± 0,06	1,21 ± 0,13	1,08 ± 0,11	1,08 ± 0,11	1,03 ± 0,07
6	0,46 ± 0,05	1,12 ± 0,12	1,03 ± 0,11	0,86 ± 0,07	0,83 ± 0,07
7	0,37 ± 0,08	0,94 ± 0,08	0,85 ± 0,08	0,68 ± 0,05	0,63 ± 0,11
8	0,23 ± 0,03	0,70 ± 0,07	0,67 ± 0,10	0,46 ± 0,08	0,33 ± 0,10
9	0	0,52 ± 0,11	0,46 ± 0,09	0,33 ± 0,11	0,13 ± 0,15
10	0	0,49 ± 0,10	0,39 ± 0,06	0,30 ± 0,06	0
11	0	0,40 ± 0,05	0,32 ± 0,05	0,02 ± 0,04	0
12	0	0,29 ± 0,06	0,22 ± 0,06	0	0
13	0	0,20 ± 0,04	0	0	0

Keterangan: GEDK 2,5%: Gel ekstrak daun kerehau konsentrasi 2,5%; GEDK 5%: Gel ekstrak daun kerehau konsentrasi 5%; GEDK 10%: Gel ekstrak daun kerehau konsentrasi 10%



Tabel 8. Persentase Penyembuhan Luka Rata-rata Tiap Kelompok

Hari ke-	Persentase Penyembuhan Luka (%) (mean ± SD)					
	Prontosan® Gel	Basis Gel	GEDK 2,5%	GEDK 5%	GEDK 10%	
1	15,56 ± 3,37	2,66 ± 1,60	1,85 ± 1,72	2,15 ± 0,97	2,08	± 0,32
2	23,81 ± 5,07	6,38 ± 2,76	4,39 ± 2,66	5,93 ± 3,04	8,45	± 4,40
3	29,69 ± 3,12	9,85 ± 2,58	12,20 ± 1,19	11,43 ± 3,82	18,37	± 6,12*
4	39,03 ± 6,17	15,21 ± 4,76	19,05 ± 6,08	21,80 ± 4,26	29,52	± 8,45*
5	56,23 ± 2,51	23,33 ± 8,20	28,19 ± 7,98	29,50 ± 4,04	40,15	± 4,78*
6	71,97 ± 3,17	28,03 ± 7,69	31,91 ± 7,93	44,27 ± 5,43*	51,74	± 4,17*
7	78,68 ± 4,51	40,10 ± 4,60	43,85 ± 5,93	55,91 ± 3,01*	64,83	± 3,42*
8	86,51 ± 1,26	55,03 ± 4,57	55,68 ± 6,48	69,77 ± 5,64*	80,20	± 4,40*
9	100	65,99 ± 7,79	69,50 ± 6,09	76,92 ± 6,18*	92,78	± 8,51*
10	100	68,36 ± 7,43	73,90 ± 4,05	83,25 ± 2,54*	100*	
11	100	74,45 ± 3,74	78,66 ± 3,10	98,70 ± 2,90*	100*	
12	100	81,56 ± 3,64	85,37 ± 4,08*	100*	100*	
13	100	87,34 ± 2,85	100*	100*	100*	

\*= berbeda bermakna dengan basis gel

Data yang diperoleh dianalisa secara statistik metode *One Way Anova* menggunakan program SPSS 20 dengan taraf kepercayaan 95%. Analisa dilakukan terhadap hasil persentase penyembuhan luka dimulai dari hari ke-1 sampai hari ke-13. Mula-mula dilakkan uji normalitas menggunakan metode Shapiro-Wilk yang menunjukkan data terdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan uji homogenitas, hasil menunjukkan semua kelompok data homogen. Karena uji normalitas dan homogenitas telah terpenuhi maka selanjutnya dilakukan uji ANOVA. Uji ANOVA tiap hari pengamatan menunjukkan bahwa seluruh kelompok berbeda bermakna sehingga dilanjutkan uji *post hoc* untuk melihat kelompok mana saja yang berbeda bermakna.

Berdasarkan hasil uji *post hoc* dimulai hari ke-3 pemberian gel ekstrak daun kerehau konsentrasi 10% menunjukkan perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) jika dibandingkan pemberian basis gel. Hal ini dapat diartikan bahwa pemberian gel ekstrak daun kerehau konsentrasi 10% memiliki efek penyembuhan luka dengan persentase rata-rata penyembuhan luka masing-masing sebesar 18,37%. Jika dibandingkan dengan pemberian Prontosan® gel yang memiliki persentase rata-rata penyembuhan luka 29,69% menunjukkan berbeda bermakna ( $p < 0,05$ ) yang berarti pemberian gel ekstrak daun kerehau konsentrasi 10% pada hari ke-

3 belum sebanding dengan pemberian Prontosan® gel. Pemberian gel ekstrak daun kerehau konsentrasi 10% dengan persentase rata-rata penyembuhan luka 80,20% baru menunjukkan perbedaan tidak bermakna dengan Prontosan® gel ( $p > 0,05$ ) dengan persentase rata-rata penyembuhan luka sebesar 86,51% pada hari ke-8, yang artinya pemberian gel ekstrak daun kerehau konsentrasi 10% sebanding dengan pemberian Prontosan® gel pada hari ke-8.

Dimulai dari hari ke-6 pemberian gel ekstrak daun kerehau konsentrasi 5% menunjukkan berbeda bermakna ( $p < 0,05$ ) dengan pemberian basis gel. Dimana pada konsentrasi 5% persentase rata-rata penyembuhan luka adalah 44,27%, sedangkan basis gel sebesar 28,03%. Hal ini menunjukkan pemberian gel ekstrak daun kerehau konsentrasi 5% dapat memberikan efek penyembuhan luka dibanding dengan pemberian basis gel, meskipun belum sebanding dengan pemberian Prontosan® gel. Pemberian gel ekstrak daun kerehau konsentrasi 5% baru menunjukkan perbedaan tidak bermakna dengan Prontosan® gel ( $p > 0,05$ ) pada hari ke-11.

Pemberian gel ekstrak daun kerehau konsentrasi 2,5% dimulai hari ke-12 mulai menunjukkan berbeda bermakna ( $p < 0,05$ ) dibanding pemberian basis gel. Persentase rata-rata penyembuhan luka pemberian gel ekstrak daun kerehau konsentrasi 2,5% adalah 85,37%, sedangkan pemberian

pemberian basis gel adalah 81,56%. Dari hasil penelitian efek gel ekstrak daun kerehau untuk menyembuhkan luka pada model tikus diabetes menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi gel ekstrak daun kerehau maka semakin besar juga efek penyembuhan luka. Hal ini disebabkan oleh semakin tingginya jumlah zat aktif yang terkandung di dalamnya mengakibatkan semakin tinggi kemampuan dalam menyembuhkan luka. Kandungan senyawa di antaranya flavonoid, saponin, dan steroid yang terkandung mempunyai efek terhadap penyembuhan luka melalui mekanisme berbeda-beda.

Kandungan flavonoid pada daun kerehau mempunyai aktivitas antiinflamasi. Aktivitas antiinflamasi ini terjadi karena cincin benzopiron yang ada pada struktur flavonoid dapat berikatan dengan enzim siklooksigenase dan lipooksigenase (Wijonarko dkk., 2016). Pada fase proliferasi senyawa flavonoid berperan sebagai antioksidan, sehingga dapat menghambat pelepasan senyawa oksigen reaktif pada jaringan luka yang dapat merusak sel-sel pada jaringan luka. Zat yang bersifat antioksidan mampu meningkatkan kelangsungan kolagen fibril dengan peningkatan kekuatan serat kolagen, meningkatkan sirkulasi, mencegah kerusakan sel dan merangsang sintesis DNA (Kurnawan dkk., 2014). Selain itu, flavonoid merupakan *vascular protector agent* yang merupakan agen untuk memperbaiki peredaran darah dengan meningkatkan pembentukan kapiler darah atau neovaskularisasi (Soni dan Singhai, 2012). Neovaskularisasi sangat diperlukan dalam proses penyembuhan luka untuk membawa oksigen dan nutrisi yang sangat diperlukan untuk metabolisme sel dan regenerasi jaringan. Hambatan sirkulasi darah mengakibatkan sel-sel yang bekerja pada fase inflamasi, seperti neutrofil dan makrofag berkurang pada daerah luka, sehingga proses fagositosis mikroba dan jaringan mati terhambat (Malini dkk., 2017).

Saponin mempunyai kemampuan sebagai pembersih dan antiseptik yang berfungsi

membunuh atau mencegah pertumbuhan dari mikroorganisme yang timbul pada luka sehingga tidak mengalami infeksi yang berat (Robinson, 1995). Sedangkan kandungan steroid memiliki kemampuan untuk meningkatkan sintesis kolagen. Kolagen memegang peranan penting dalam penyembuhan luka dan merupakan komponen utama jaringan ikat yang menyediakan komponen struktural untuk regenerasi jaringan (Kurnawan dkk., 2014).

### Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah gel ekstrak daun kerehau mempunyai efek dalam menyembuhkan luka pada model tikus diabetes.

### Daftar Pustaka

- American Diabetes Association. (2017) : *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, Diabetes Care* 40 (Suplemen 1), S75.
- Baranoski, S., dan Ayello, E.A. (2008) : *Wound Care Essential Practice Principle*. New York:Lippincott Williams & Wilkins.
- Bryant, R.A., Nix, D. (2007) : *Acute and Chronic Wounds. Current Management Concepts*.Elsevier, Missouri.
- Dewantari, D.R., dan Nining, S. (2015) : *Formulasi dan Uji Aktivitas Gel Ekstrak Daun Petai Cina (Leucaena glauca Benth.) sebagai Sediaan Obat Luka Bakar, Jurnal Ilmiah Farma Sains*, 2(5), 217-222.
- Eriadi, A., Arifin, H., Rizal, Z., dan Barmitoni. (2015) : *Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Binahong (Anredera cordifolia (Tenore) Steen) Terhadap Penyembuhan Luka Sayat Pada Tikus Putih Jantan, Jurnal Farmasi Higea*, 7(2), 162-172.
- Horrocks, A. (2006) : *Prontosan Wound Irrigation and Gel: Management of Chronic Wounds, British Journal of Nourshing*, 15(22), 1222-1228.
- Hunt, N.A., Lin, G.T., dan Lavery, L.A. (2011) : *The Economics of Limb Salvage*

- In Diabetes, *Plast. Reconstr. Surg*, 127(1), 289S-295S.
- International Diabetes Federation. (2015) : *IDF Diabetes Atlas*, Brussels, Diabetes Federation. Jan AW, Khan H, Ahmad I, Khan M. 2016. Diabetic Foot Ulcer; Risk Factors Stratification In Patients. A study of 150 patients. *Professional Med J* 23(6): 693-698.
- Kurnawan, W., Nurbaeti, S.D., dan Novianry, V. (2014) : Efek Salep Kombinasi Ekstrak Daun Bangun-bangun dan Ekstrak Herba Pegagan Terhadap Penyembuhan Luka Eksisi Pada Tikus Hiperglikemia yang Diinduksi Aloksan, *Naskah Publikasi, Pontianak*, Universitas Tanjungpura.
- Malini, D.K., Madihah., dan Kamilawati, F. (2017) : Uji Potensi Sediaan Salep Ekstrak Etanol Kulit Buah Jengkol Untuk Mempercepat Penyembuhan Luka Pada Kulit Mencit Model Diabet, *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*, 3(2), 205-210.
- Mappa, T., Hosea, J.E., dan Novel, K. (2013) : Formulasi Gel Ekstrak Daun Sasaladahan (*Peperomia pellucida* L.) dan Uji Efektivitasnya Terhadap Luka Bakar Pada Kelinci, *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(3), 49-55.
- Pazry, M., Busman, H., Nurcahayani, N., dan Sutyarso. (2017) : Potensi Ekstrak Etanol Daun Pare (*Momordica charantia* L.) sebagai Alternatif Obat Penyembuh Luka Pada Punggung Mencit Jantan (*Mus musculus* L), *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 17(1), 109-116.
- Santosa, A., dan Nikmah, I.M.N. (2014) : Hubungan Pengetahuan tentang Pengendalian Kadar Gula Darah dengan Kejadian Ulkus Diabetik pada Pasien Diabetes Melitus, *Medisains*, 18(3), 1-11.
- Semiawan, F., Ahmad, I., dan Masruhim, M.A. (2015) : Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* L.), *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 1(1), 1-4.
- Soni, H., dan Singhai, AK. (2012) : A Recent Update of Botanicals for Wound Healing Activity. *Intl Res J Pharmac*, 3(7): 1-7.
- Supomo., Supriningrum, R., dan Junaid, S. (2016) : Karakteristik dan Skrining Fitokimia Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk.), *Jurnal Kimia Mulawarman*, 12(2), 89-96.
- Suryani., Putri, A.E.P., dan Agustyiani, P. (2017) : Formulasi dan Uji Stabilitas Sediaan Gel Ekstrak Terpurifikasi Daun Paliasa, *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*, 6(3), 157-168.