

DOI: <http://dx.doi.org/10.33846/sf11nk421>

Efektifitas Pemberian Salep Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* Linn.) Terhadap Epitelisasi Pada Tikus Wistar Dengan Model Perlukaan Akut

Dewi Sartika MS

Program Studi Ilmu Keperawatan, STIKes Amanah Makassar; sartikadewy31@gmail.com (koresponden)

Wardihan Sinrang

Program Studi Ilmu Kedokteran, Universitas Hasanuddin Makassar; wardihans@gmail.com

Risfah Yulianty

Program Studi Farmasi, Universitas Hasanuddin Makassar; risfah@yahoo.com

Sri Sakinah

Program Studi Ilmu Keperawatan, STIKes Muhammadiyah Sidrap; ns.srisakinah@gmail.com

ABSTRACT

Wound is defined as damage to the integrity of the epithelium of skin and can even deeper into the subcutaneous tissue and other structures. Epithelialization is a component that is used as a parameter to determine the success of the wound healing process. Betel leaf (*Piper betle* Linn.) has anti-inflammatory, antibacterial, antimicrobial and antioxidant effects that is very effective to accelerate the wound healing process. This study aimed to find out the effectiveness of *Piper betle* Linn. Extract ointment against epithelialization in the process of acute wound healing. This research applied experimental study. The data were collected via randomized post test control by using 45 wistar male rats which have injury on their back. The injury then classified into three main treatment, negative control group which was given vaseline, positive control group which was given oxytetracycline ointment, and treatment group which was given 3% *Piper betle* linn. Data were analyzed by using normality test and supported by non parametric test whereas the test used kruskal wallis hypothesis. The result of the research show that every group treatment show different reaction among groups extract piper betle Linn 3%, positive control, and negative control 3th day (p-value 0.70), 7th day (p-value 0.09) and 14th day (p-value 0.10) after treatment. This study showed that the extract of *Piper betle* Linn. can increase epithelialization in acute wound healing specially on proliferation phases.

Keywords: *piper betle* linn extract; epithelialization; wound healing

ABSTRAK

Luka didefinisikan sebagai kerusakan integritas epitel kulit dan bahkan dapat lebih dalam ke jaringan subkutan dan struktur lainnya. Epitelisasi merupakan komponen yang digunakan sebagai parameter untuk menentukan keberhasilan proses penyembuhan luka. Daun sirih (*Piper betle* Linn.) memiliki efek antiinflamasi, antibakteri, antimikroba dan antioksidan yang sangat efektif mempercepat proses penyembuhan luka. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas pemberian salep ekstrak *Piper betle* Linn. terhadap epitelisasi dalam proses penyembuhan luka akut. Penelitian ini merupakan penelitian *ekperimental study* dengan desain penelitian *Randomized Post Test Control Group* dengan menggunakan 45 ekor tikus wistar jantan dengan luka punggung yang dibagi menjadi 3 kelompok besar yaitu kelompok kontrol negatif yang diberikan vaseline, kelompok kontrol positif yang diberikan salep *oxytetracycline* dan kelompok perlakuan yang diberikan salep ekstrak *Piper betle* Linn. 3%. Data dari masing-masing kelompok dianalisis menggunakan uji normalitas dan diikuti oleh uji non-parametrik dengan pengujian hipotesis *Kruskal-Wallis*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan tingkat epitelisasi antara kelompok ekstrak *Piper betle* Linn. 3%, kontrol positif, dan kontrol negatif hari ke 3 (*p value* 0,70), hari ke 7 (*p value* 0,09) dan hari ke 14 (*p value* 0,10) setelah perawatan. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak *Piper betle* Linn. dapat meningkatkan epitelisasi dalam penyembuhan luka akut khususnya pada fase proliferasi.

Kata kunci: ekstrak *piper betle* linn; epitelisasi; penyembuhan luka

PENDAHULUAN

Luka merupakan salah satu kasus cedera yang sering dialami oleh manusia. Luka diartikan sebagai kerusakan integritas epitel dari kulit bahkan bisa lebih dalam ke jaringan subkutan dan rusaknya struktur lain.^(1,2) Jaringan yang rusak nantinya memulai proses penyembuhan luka yang merupakan proses terjadinya penggantian jaringan-jaringan yang telah rusak atau jaringan nekrosis dengan jaringan baru dan sehat.⁽³⁾

Fase proses penyembuhan luka terdiri atas fase-koagulasi, inflamasi, proliferasi, dan remodeling. Fase inflamasi ditandai dengan banyaknya sel radang seperti neutrofil.⁽³⁾ Sel PMN sangat penting terutama pada saat terjadi luka, yaitu dengan terjadinya peningkatan jumlah sel PMN sebagai adanya respon terhadap gerakan dari sel tubuh atau disebut kemotaksis yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Tahap proliferasi, epitelisasi merupakan komponen penting yang digunakan sebagai parameter untuk menentukan keberhasilan penyembuhan luka. Re-epitelisasi sangat berpengaruh pada proses penyembuhan luka, karena semakin cepat luka tertutup artinya semakin cepat proses reepitelisasi sehingga semakin cepat proses penyembuhan lukanya.⁽⁴⁾ Tahap akhir pada proses

penyembuhan luka, fase remodeling ditandai dengan adanya remodeling jaringan dan kolagen, maturasi epidermis, dan pengerutan luka.⁽²⁾

Sekarang ini masyarakat cukup populer menggunakan obat alternatif/herbal dibandingkan obat kimia untuk mengobati luka. Salah satu alasan penggunaan obat tradisional adalah senyawa dari obat herbal lebih dapat ditolerir dan lebih murah dibanding bahan kimia sintesis dan dapat diolah menjadi obat yang aman. Daun sirih (*Piper betle* Linn.) dari suku *piperaceae* merupakan tanaman yang memiliki aktivitas sebagai antiracun dan penyembuhan luka.⁽⁵⁾ Ekstrak daun sirih memiliki efek antiinflamasi, antibakteri, efek antidiabetik, antimutagenik, antikarsinogenik, dan antioksidan. Eugenol merupakan salah satu konstituen utama dari daun sirih juga telah terbukti memiliki efek antiinflamasi dalam berbagai model hewan penelitian dengan berbagai inflamatojen.⁽⁶⁾

Berdasarkan uraian dalam latar belakang, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah “Apakah pemberian salep ekstrak *Piper betle* Linn. secara topikal dapat meningkatkan epitelisasi dalam proses penyembuhan luka pada tikus wistar dengan model perlukaan akut?” Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas pemberian salep ekstrak daun sirih (*Piper Betle* Linn.) secara topikal terhadap epitelisasi dalam mempercepat proses penyembuhan luka.

METODE

Penelitian ini bersifat *eksperimental study* dengan desain penelitian *Randomized Post Test Control Group* dengan tikus wistar sebagai subjek penelitian. Populasi dalam penelitian ini adalah tikus wistar dengan umur 6-8 minggu dan dengan berat badan 250-300 gram. Penelitian ini, memakai jumlah sampel sebanyak 6 ekor tiap kelompok perlakuan. Proses randomisasi adalah: 54 ekor tikus dikelompokkan secara random menjadi empat kelompok dimana masing-masing terdapat 1 ekor tikus cadangan. Tikus wistar dibagi dalam 3 kelompok yaitu kontrol negatif (diberi perawatan luka menggunakan *vaseline*), kontrol positif (diberi perawatan luka menggunakan *oxytetracycline*), dan kelompok perlakuan (diberi perawatan luka menggunakan ekstrak etil asetat daun sirih 3%), kemudian diberikan perawatan luka berdasarkan dimensi waktu yakni 3 hari, hari 7 hari dan 14 hari sesuai dengan kelompoknya.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Entomologi Fakultas Kedokteran Unhas untuk pemeliharaan dan perlakuan hewan coba, Klinik hewan pendidikan (KHP) laboratorium diagnostik fakultas kedokteran hewan Universitas Hasanuddin Makassar untuk pembuatan preparat histopatologi dan pembacaan hasil. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April sampai Juli 2016.

Variabel independent pada penelitian ini adalah ekstrak *Piper betle* Linn. sedangkan variabel dependent adalah epitelisasi dan penyembuhan luka.

Pembuatan model perlukaan akut dengan tikus terlebih dahulu dianestesi dengan menggunakan eter secara inhalasi dengan dosis 0.5 – 1 cc kemudian dimasukkan kedalam kotak anastesi. Setelah tikus wistar tidak sadar, bulu daerah punggung dibersihkan dengan menggunakan *hair removal krim*, kemudian dilakukan desinfeksi menggunakan *chlorhexidine* 0,5% dalam alkohol 70%. Bulu dicukur dengan luas sekitar 3 cm x 3 cm. Setelah itu dilakukan pembuatan model perlukaan akut melalui luka eksisi dengan diameter 8 mm pada kulit daerah punggung bilateral kiri atau kanan untuk pemeriksaan epitelisasi. Eksisi ini dilakukan dengan menggunakan *punch biopsy* pada epidermis hingga hypodermis/lapisan subkutan (luka derajat 2). Perawatan ini dilakukan dimulai pada hari pertama setelah dibuat model perlukaan akut. Teknik perawatan dengan mengoleskan salep ekstrak daun sirih, *oxytetracycline*, dan *vaseline* pada luka. Selanjutnya luka ditutup dengan menggunakan transparan films.

Setelah 3 hari, 7 hari, atau 14 hari (sesuai dengan kelompoknya), wistar pada setiap kelompok dimatikan dengan ether inhalasi. Setelah wistar mati, bulu di sekitar punggung dicukur bersih dan didesinfeksi menggunakan menggunakan betadin, disapu dengan alkohol 70 % selanjutnya dibuat eksisi biopsi lebih kurang 1.5cm x 1.5cm dengan melintasi irisan dengan kedalaman sampai lapisan subkutis. Semua jaringan biopsi dimasukkan kedalam larutan formalin 10%, dibuat blok parafin kemudian dilakukan pengecatan dengan pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (HE).

Preparat epitelisasi diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 100x, kemudian dilakukan interpretasi epitelisasi berdasarkan parameter skoring histopatologi sebagai berikut: skor 0 jika ada ketebalan pinggir luka, skor 1 jika ada perpindahan sel (<50%), skor 2 jika ada perpindahan sel (≥50%), skor 3 jika ada penutupan eksisi, dan skor 4 jika ada keratinisasi.

Analisis data yang dilakukan dengan uji homogenitas menggunakan *Levene Test* dan normalitas data menggunakan *Shapiro Wilk Test*. Selanjutnya menggunakan uji *Kruskal-Wallis*.

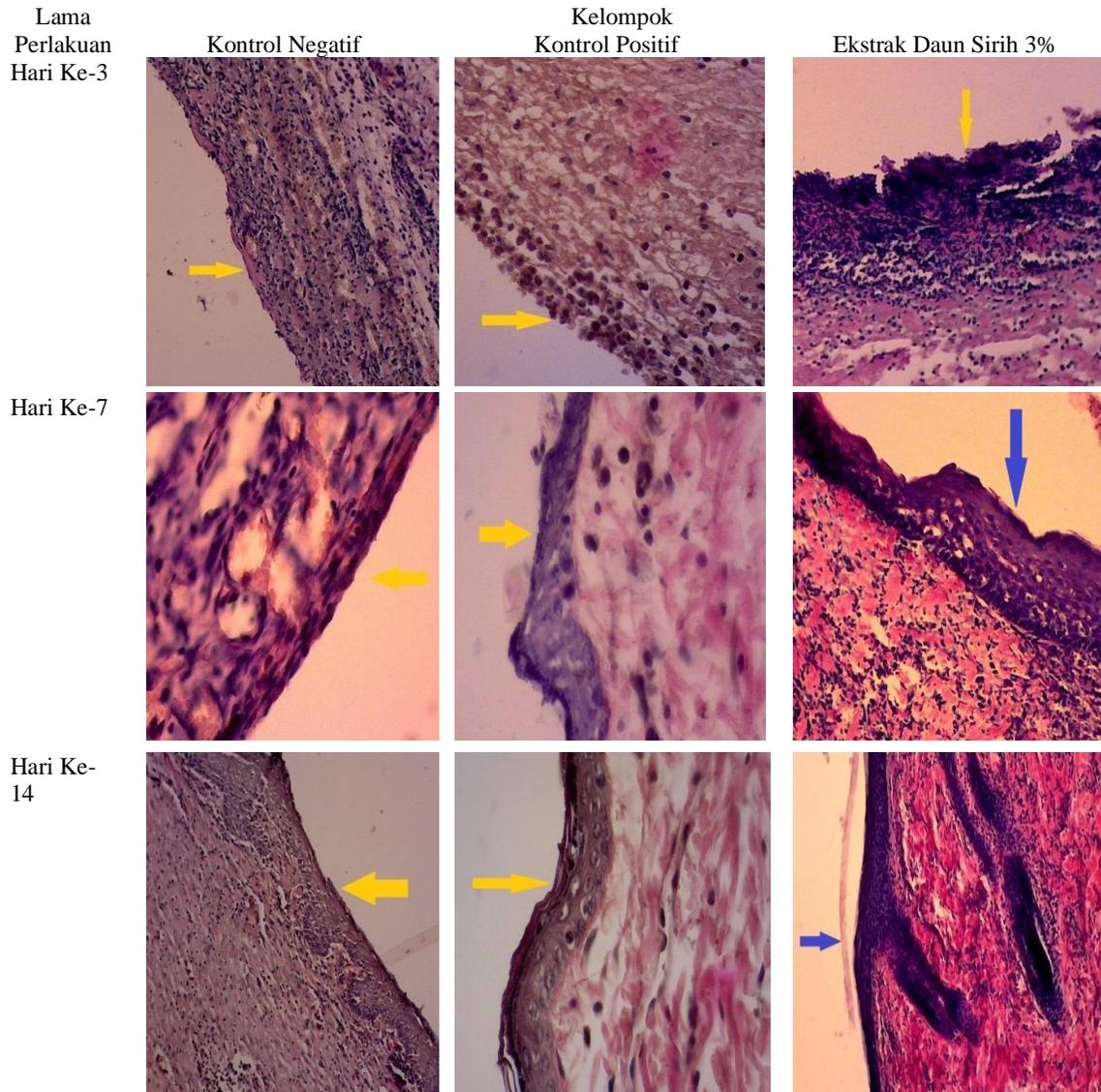
Ethical clearance telah didapatkan dari Komisi Etik Penelitian Biomedik pada binatang, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar (526/H4.8.4.5.31/PP36KOMETIK/2016). Eksperimen hewan coba di bawah pengawasan ahli dalam penggunaan tikus wistar sebagai objek penelitian.

HASIL

Epitelisasi pada hari ke-3 kontrol negatif dengan persentase tertinggi 60% dengan ketebalan pinggir luka masih kurang, kontrol positif persentase tertinggi 60% dengan perpindahan sel <50%, kelompok ekstrak daun sirih 3% persentase tertinggi 60% dengan perpindahan sel <50%.

Tabel 1. Perbedaan kadar epitelisasi berdasarkan kelompok

Hari	Epitelisasi										p-value	
	Ketebalan pinggiran luka		Perpindahan sel (<50%)		Perpindahan sel (≥50%)		Penutupan eksisi		Keratinisasi			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
Hari ke - 3												
Kontrol negatif	3	60	2	20	-	-	-	-	-	-	-	0,7
Kontrol positif	2	40	3	60	-	-	-	-	-	-	-	
Ekstrak daun sirih 3%	2	40	3	60	-	-	-	-	-	-	-	
Hari ke - 7												
Kontrol negatif	-	-	2	40	3	60	-	-	-	-	-	0,09
Kontrol positif	-	-	1	20	4	80	-	-	-	-	-	
Ekstrak daun sirih 3%	-	-	-	-	3	60	1	20	1	20	-	
Hari ke - 14												
Kontrol negatif	-	-	-	-	-	-	4	80	1	20	-	0,1
Kontrol positif	-	-	-	-	-	-	3	60	2	40	-	
Ekstrak daun sirih 3%	-	-	-	-	-	-	1	20	4	80	-	



Hasil dari foto mikroskopik ini memperlihatkan bahwa adanya peningkatan epitelisasi dari hari ke 7 dan hari ke 14 pada kelompok kontrol positif dan kelompok ekstrak *Piper betle* Linn 3%.

Gambar 1. Foto mikroskopik gambaran epitelisasi.

Pada hari ke-7, epitelisasi mulai meningkat. Pada kontrol negatif persentase tertinggi 60% dengan perpindahan sel $\geq 50\%$, kontrol positif persentase tertinggi 80% dengan perpindahan sel $\geq 50\%$, kelompok ekstrak daun sirih 3% persentase tertinggi 60% dengan perpindahan sel $\geq 50\%$. Pada hari ke-14, terjadi peningkatan epitelisasi dimana pada kontrol negatif persentase tertinggi 80% dengan penutupan eksisi. Pada kontrol positif persentase tertinggi 60% dengan penutupan eksisi (Gambar 1). Pada kelompok ekstrak daun sirih 3% persentase tertinggi 80% dengan adanya keratinisasi.

Berdasarkan uji statistik dengan *kruskal wallis* menunjukkan bahwa pada pengamatan hari ke-3 tidak ada perbedaan signifikan terhadap epitelisasi antara kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok ekstrak daun sirih dengan nilai $p = 0,7$. Demikian juga pada hari ke-7 dengan nilai $p = 0,09$, dan pada hari ke-14 dengan nilai $p = 0,1$ (tabel 1).

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian epitelisasi secara histopatologi menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan terhadap sel neutrofil pada ke-3 kelompok dengan nilai $p > 0,05$ bila membandingkan ke-3 kelompok tersebut pada masing-masing fase penyembuhan luka (hari ke-3, ke-7 dan ke-14), tetapi bila melihat lama hari perawatan menunjukkan perbedaan signifikan dengan nilai $p < 0,05$ dan dari persentase sebaran epitelisasi setiap fase tersebut, maka akan terlihat bahwa pada kelompok perlakuan salep ekstrak daun sirih 3% menunjukkan hasil yang lebih baik yang menunjukkan bahwa terjadi peningkatan epitelisasi (Gambar 1).

Hasil analisis data tersebut sejalan dengan beberapa data literatur. Salah satunya penelitian dari Hermawati menyebutkan bahwa daun sirih mempercepat proses penyembuhan luka insisi pada mencit dengan hasil terbaik pada kelompok perlakuan menunjukkan pada fase proliferasi dengan granulasi jaringan, peningkatan tepi luka (epitelisasi) dan struktur kulit tidak mengalami kematian jaringan dan pembentukan scar.⁽⁷⁾ Re-epitelisasi sangat berpengaruh pada proses penyembuhan luka, karena semakin cepat luka tertutup artinya semakin cepat pula proses reepitelisasi sehingga semakin cepat proses penyembuhan lukanya.⁽⁴⁾ 24 jam pertama akan terjadi proses epitelisasi yang ditandai dengan adanya penebalan lapisan epidermis pada tepian luka. Dalam beberapa jam setelah perlakuan, re-epitelisasi dimulai dan pelepasan EGF (*epidermal growth factor*), TGF α (*transforming growth factor*), dan FGF (*fibroblast growth factor*) yang merupakan tindakan untuk merangsang migrasi sel epitel dan proliferasi. Proses ini dimulai dengan pembubaran sel-sel dan sel substratum diikuti oleh polarisasi dan migrasi keratinosit selama ECM. Setelah penutupan luka (100% epitelisasi) tercapai, keratinosit menjalani stratifikasi dan diferensiasi untuk mengembalikan barrier.⁽⁸⁾

Hari ke-3 kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan kelompok pemberian salep daun sirih masih terdapat beberapa sampel yang menunjukkan belum adanya reepitelisasi yang terjadi di daerah luka disebabkan area luka masih dalam kondisi lembab. Dalam penelitian Febram 2010 mengatakan bahwa area lembab ujung epitel akan mudah terkoyak dan luruh sehingga difagosit dengan mudah oleh sel-sel radang sehingga belum dapat melakukan proses regenerasi jaringan.⁽⁹⁾ Sel epitel mulai terbentuk pada hari ke-7 pada ketiga kelompok baik kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok salep ekstrak daun sirih namun sebaran persentase reepitelisasi pada kelompok pemberian salep ekstrak daun sirih cenderung lebih baik dibanding 2 kelompok lainnya. Terjadinya peningkatan proses reepitelisasi ini dipengaruhi oleh zat aktif yang terdapat pada sediaan salep ekstrak daun sirih yang mampu merangsang proliferasi sel epitel setelah partikel asing difagosit oleh sel radang sehingga proses re-epitelisasi berlangsung dengan cepat. Pada hari ke-14 antara masing-masing kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan pemberian salep daun sirih terjadi penutupan eksisi dan terbentuknya keratinisasi namun pada pemberian salep ekstrak daun sirih menunjukkan sebaran persentase yang lebih bagus dibandingkan dengan kedua kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif.

Kandungan aktif pada daun sirih diantaranya flavonoid, saponin, eugenol, tannin, minyak atsiri. Jika pada flavonoid berfungsi untuk membatasi pelepasan mediator inflamasi. Maka saponin memiliki peran khusus pada proses epitelisasi. Saponin dapat meningkatkan fibronektin, kemudian gumpalan fibrin yang terbentuk akan menjadi dasar dalam reepitelisasi pada jaringan.⁽¹⁰⁾ Maka dari itu, jika gumpalan fibrin cepat terbentuk maka fibroblast akan segera berproliferasi ke area luka untuk membentuk pemulihan jaringan luka itu sendiri. Selain itu, saponin juga memiliki sifat antimikroba sehingga infeksi dapat ditekan, karena luka yang terinfeksi dapat menghambat laju re-epitelisasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa pemberian salep ekstrak daun sirih 3% secara topikal dapat meningkatkan epitelisasi pada fase proliferasi dalam proses penyembuhan luka pada tikus wistar dengan model perlukaan akut.

DAFTAR PUSTAKA

1. Atik N, Iwan J. The Differences Between Topical Application of The Aloe Vera Gel with Povidone Iodine Solution For Skin Wound Healing in Mice Musculus. *Journal MKB UNPAD*. 2009;41(2):28-34.

2. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The Wound Healing Process: an Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *National Library of Medicine*. 2009;37(5):1528-1542.
3. Rodhiyah, Sulistiyawati. Pengaruh Ekstrak Minyak Biji Bunga Matahari (*Helianthus Annuus*) Terhadap Proses Awal Penyembuhan Luka. *Jurnal FKIP UNS*. Jan 2011;706-711.
4. Isrofah, Sagiran, Afandi. Efektifitas Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera Cordifolia Ten Steenis*) Terhadap Proses Penyembuhan Luka Bakar Derajat 2 Termal pada Tikus Putih (*Rattus Novergicus*). *Muhammadiyah Journal of Nursing*. 2013;2(1):28-38.
5. Chitra S, Vidya N. Dose Dependent Effect of Piper Betle Linn. Leaf Extract on Erythrocytes of Experimental Mice. *Journal of Medicine*. Sep 2006;1(1):19-23.
6. Bhalerao SA, et al. Phytochemistry, Pharmacological Profile and Therapeutic Uses of Piper Betle Linn. An Overview, *RRJPP. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. Oct-Des 2013;1(2):10-19.
7. Hermawati S. Pengaruh Tumbukan Daun Sirih Terhadap Proses Percepatan Penyembuhan Luka Insisi Pada Hewan Coba Mencit (*Mus musculus*) Strain Balb/c (tesis). Surabaya: Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya; 2015.
8. Barrientos S, et al. Growth Factor and Cytokines In Wound Healing. *Wound Repair and Regeneration:the International Journal of Tissue Repair and Regeneration*. Sep-Oct 2008;16(5):585-601.
9. Febram B, Wientarsih, Pantjo. Efektivitas Sediaan Salep Ekstrak Batang Pisang Ambon (*Musa paradisiaca var sapientum*) Dalam Proses Persembuhan Luka Pada Mencit (*Mus musculus albinus*). *Majalah obat Tradisional*; 2010. p. 121-137.
10. Kusumawardhani AD. Effect of betel leaves extract ointment (Piper betle Linn.) on the number of fibroblast in IIA degree bum wound on rat (*Rattus Norvegicus*) wistar strain. *Majalah Kesehatan FKUB*. Mar 2015;2(1). p. 16-28.