

Uji Efektivitas Penyembuhan Luka Sayat Ekstrak Rimpang Jeringau Merah (*Acorus sp.*) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar

Vera Eufrasia¹, Nera Umilia Pratiwi², Ressi Susanti²

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura

Abstrak

Latar Belakang. Ekstrak etanol rimpang jeringau merah mengandung flavonoid dan saponin yang dipercaya dapat membantu dalam mempercepat proses penyembuhan luka. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol rimpang jeringau merah terhadap proses penyembuhan luka dan mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak dalam sediaan terhadap proses penyembuhan luka. **Metode.** Hewan percobaan dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok negatif yang tidak diberikan perlakuan, kelompok positif yang diberikan salep povidon iodine, kelompok F5 (konsentrasi ekstrak 5%), kelompok F10 (konsentrasi ekstrak 10%), kelompok F15 (Konsentrasi ekstrak 15%) yang diberikan ekstrak yang telah dibuat salep secara topikal. Pengamatan dilakukan dengan program *Macbiophotonic Image J* dengan cara mengukur panjang luka dari hari ke-1 sampai hari ke-9. Analisis data menggunakan *One Way Anova* dan *Post Hoc Test*. **Hasil.** Analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok negatif dengan kelompok positif, F5, F10 dan F15. Berdasarkan hasil perhitungan total AUC, kelompok F15 dalam salep memberikan hasil penyembuhan luka secara keseluruhan paling besar yaitu sebesar 326,45 % dibanding kelompok F10 yaitu sebesar 318,17 % dan kelompok F5 yaitu sebesar 301,37 % juga kelompok positif yaitu 291,79 %. **Kesimpulan.** Ekstrak etanol rimpang jeringau merah (*Acorus sp.*) menunjukkan adanya aktivitas untuk mempercepat penyembuhan luka dan semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin cepat pula proses penyembuhan luka terjadi.

Kata Kunci : Ekstrak etanol, rimpang jeringau merah, luka sayat, flavonoid, saponin.

Background. Ethanolic extract from *Acorus sp.* rhizome contain flavonoid and saponin which believed can help accelerate wound healing process. The aim of this study is to know the effectiveness of ethanolic extract from *Acorus sp.* rhizome for wound healing process and to know how the difference of extract concentration in the ointment influence wound healing process. **Method.** The rats in this research divided in 5 groups, negative group which given no treatment, positive group which given povidone iodine ointment, group F5 which given the test ointment with 5% *Acorus sp* rhizome extract concentration, group F10 which given the test ointment with 10% *Acorus sp* rhizome extract concentration and group F15 which given the test ointment with 15% *Acorus sp* rhizome extract concentration. The change of wound length measured with *Macbiophotonic Image J* and be measured from the first day until the 9th day. For analyze the data used *One Way Anova*. **Result.** the result of the analysis showed there is a presence significant difference ($p < 0,05$) between negative group with the other groups. Based on the calculation of the AUC total value the group which is give the best result to help accelerate wound healing process is F15 with 326,45% AUC total value compare with F10 with 318,17 % AUC total value, F5 with 301,37 % AUC total value and positive with 291,79% AUC total value. **Conclusion.** Ethanolic extract from *Acorus sp.* rhizome has activity to accelerate wound healing process and higher concentration of extract in the test ointment make the wound healing process run faster.

Keywords : Ethanolic extract, *Acorus sp.* rhizome, cut wound, flavonoid, saponin

LATAR BELAKANG

Luka merupakan cedera yang paling sering dialami oleh manusia. Luka merupakan hilangnya integritas epitelial dari kulit.⁽¹⁾ Epitelial merupakan organ yang sangat berperan penting dalam kehidupan sehari-hari. Organ ini berperan untuk mengatur keseimbangan air serta elektrolit, termoregulasi, dan barier terhadap lingkungan luar termasuk mikroorganisme.⁽²⁾ Apabila barier ini rusak akibat berbagai penyebab seperti ulkus, luka bakar, trauma atau neoplasma maka kulit tidak dapat melaksanakan fungsinya dengan baik. Oleh karena itu sangat penting untuk mengembalikan integritasnya sesegera mungkin.⁽¹⁾ Ketika terjadi perlukaan pada jaringan kulit, proses kesembuhan dan regenerasi sel terjadi secara otomatis sebagai respon fisiologis tubuh.⁽³⁾ Terdapat tiga fase dalam proses kesembuhan luka, yaitu fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodeling yang terjadi saling berkelanjutan.⁽⁴⁾

Pemanfaatan tanaman obat tradisional untuk penyembuhan luka didasarkan pada efek antiseptik, antiinflamasi, astringent dan antibakterinya.⁽⁵⁾ Jeringau merah (*Acorus* sp.) adalah tumbuhan endemik Kalimantan Barat yang telah digunakan masyarakat suku Dayak secara empiris untuk mengobati berbagai macam penyakit. Beberapa penelitian telah membuktikan khasiat dari rimpang jeringau merah yaitu infusa dari rimpang jeringau merah dapat berkhasiat menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella thyposa*.⁽⁶⁾

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Nina (2016), menyatakan bahwa rimpang jeringau merah (*Acorus* sp.) memiliki aktivitas antiinflamasi.⁽⁶⁾ Senyawa yang terkandung pada ekstrak etanol rimpang jeringau merah (*Acorus* sp.) yang dipercaya berperan mempercepat proses penyembuhan luka adalah flavonoid yang berdasarkan penelitian sebelumnya terbukti terkandung pada ekstrak etanol rimpang jeringau merah berdasarkan skrinning fitokimia dan penetapan profil KLT. Flavonoid ini bekerja pada fase inflamasi. Senyawa lain yang dipercaya dapat mempercepat proses penyembuhan luka adalah saponin yang terkandung dalam ekstrak etanol rimpang jeringau.⁽⁶⁾ Senyawa utama yang persentasinya paling besar terdapat pada jeringau (*Acorus calamus*) adalah senyawa bioaktif asaron. Senyawa ini terdiri dari alpha-asaron dan beta-asaron, tetapi yang jumlahnya paling besar pada jeringau adalah beta-asarone yang dicurigai memiliki aktivitas antibakteri.⁽⁷⁾ Penelitian mengenai aktivitas penyembuhan luka sayat ekstrak etanol rimpang jeringau merah belum pernah dilakukan sebelumnya, sehingga berdasarkan uraian di atas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian ini.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas, bejana maserasi, neraca, *hot plate* (*Schott Instrument*®), Oven, *rotary evaporator* (*Heidolph*®), blender simplisia,

desikator, kertas saring, cawan penguap, cetakan aluminium silinder, gunting bedah, jangka sorong, pot salep, kaca arloji, kamera digital, pH meter. Bahan yang digunakan pada penelitian ini simplisia rimpang jeringau merah (*Acorus sp.*), etanol 96%, salep povidon iodine 10%.

Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan hewan uji berupa tikus putih jantan (*Rattus novvergicus*) galur wistar. Hewan dipilih secara acak yang memenuhi kriteria inklusi yaitu tikus putih Wistar jantan, berumur 2-3 bulan dengan bobot 150-200 gram. Tikus yang digunakan berjumlah 25 ekor. Tikus dibagi ke dalam 5 kelompok, tiap kelompok berisi 5 ekor tikus. Pembagian setiap kelompok adalah sebagai berikut :

1. Kelompok kontrol negatif hanya dilakukan perlakuan.
2. Kelompok kontrol positif yang diberikan salep povidon iodine 10% satu kali sehari.
3. Kelompok yang diberikan salep rimpang jeringau merah dengan dosis 5 % satu kali sehari (F 5).
4. Kelompok yang diberikan salep rimpang jeringau merah dengan dosis 10% satu kali sehari (F 10).
5. Kelompok yang diberikan salep rimpang jeringau merah dengan dosis 15% satu kali sehari (F 15). Sebelum penelitian tikus diaklimatisasi selama 7 hari.

Analisis Profil Kromatografi Lapis Tipis

Disiapkan lempeng silika del GF254 dengan ukuran 7 cm dan lebar 1 cm kemudian

ditotolkan ekstrak kental yang sudah dilarutkan dengan etanol 96% pada jarak 1 cm pada garis batas bawah dan diangin-anginkan beberapa saat. Kemudian lempeng silika gel GF254 yang sudah ditotolkan tadi dielusi dengan fase gerak butanol : asam asetat : air (B : A : A) dengan perbandingan (6 : 1 : 3) untuk senyawa golongan flavonoid dan fase gerak kloroform : etil asetat (6 : 4) untuk golongan senyawa minyak atsiri. Lempeng dielusi hingga eluen merambat sampai pada garis batas atas, kemudian diangin-anginkan^(8,9)

Tahapan selanjutnya adalah identifikasi noda yang terbentuk pada permukaan lempeng gel silika GF254 dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Reagen yang digunakan untuk senyawa flavonoid adalah $AlCl_3$ (noda kuning) dan untuk minyak atsiri adalah vanillin- H_2SO_4 (noda merah-violet).^(9,10)

Uji Efek Penyembuhan Luka

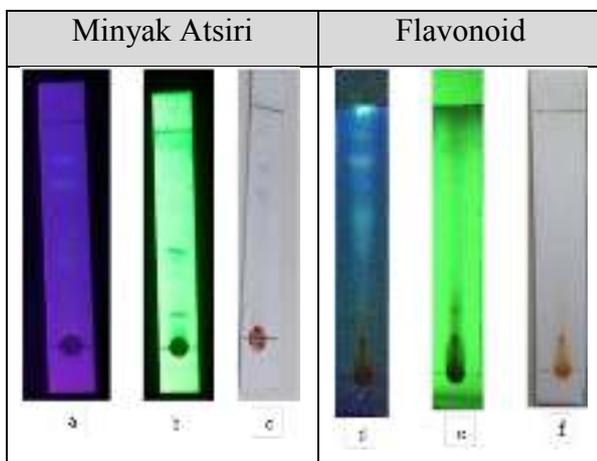
Sebelum dilakukan perlakuan, tikus dianestesi dengan pemberian ketamine dosis 20 mg/KgBB melalui jalur intra muskular.⁽¹¹⁾ Kemudian bulu disekitar punggung tikus dicukur dengan diameter kurang lebih 3 cm dan dibersihkan dengan alkohol 70%. Perlakuan ini dilakukan sama kepada setiap hewan uji. Perlakuan dilakukan pada punggung tikus dengan membuat sayatan sepanjang 2 cm menggunakan *scalpel* steril No.11.⁽¹²⁾ Sediaan uji diberikan secara topikal dengan pemberian 0,5 mg / ekor tikus setiap kali pemberian. Masing-masing luka dilakukan pemberian ekstrak selama 9 hari..

Luar area luka diukur dengan bantuan foto menggunakan kamera beresolusi tinggi dan kuantifikasi dibantu program computer *Macbiophotonics Image J* kemudian data dianalisis secara statistik menggunakan bantuan program komputer SPSS 22.

HASIL

Analisis Profil Kromatografi Lapis Tipis

Analisis profil KLT dilakukan untuk membuktikan kembali bahwa didalam ekstrak etanol yang digunakan terdapat kandungan senyawa yang berperan dalam aktivitas penyembuhan luka. Hasil KLT ekstrak etanol rimpang jeringau merah mengandung senyawa flavonoid ditandai dengan bercak noda warna jingga-kekuningan dan minyak atsiri ditandai dengan noda berwarna keunguan setelah diberi penampak bercak.



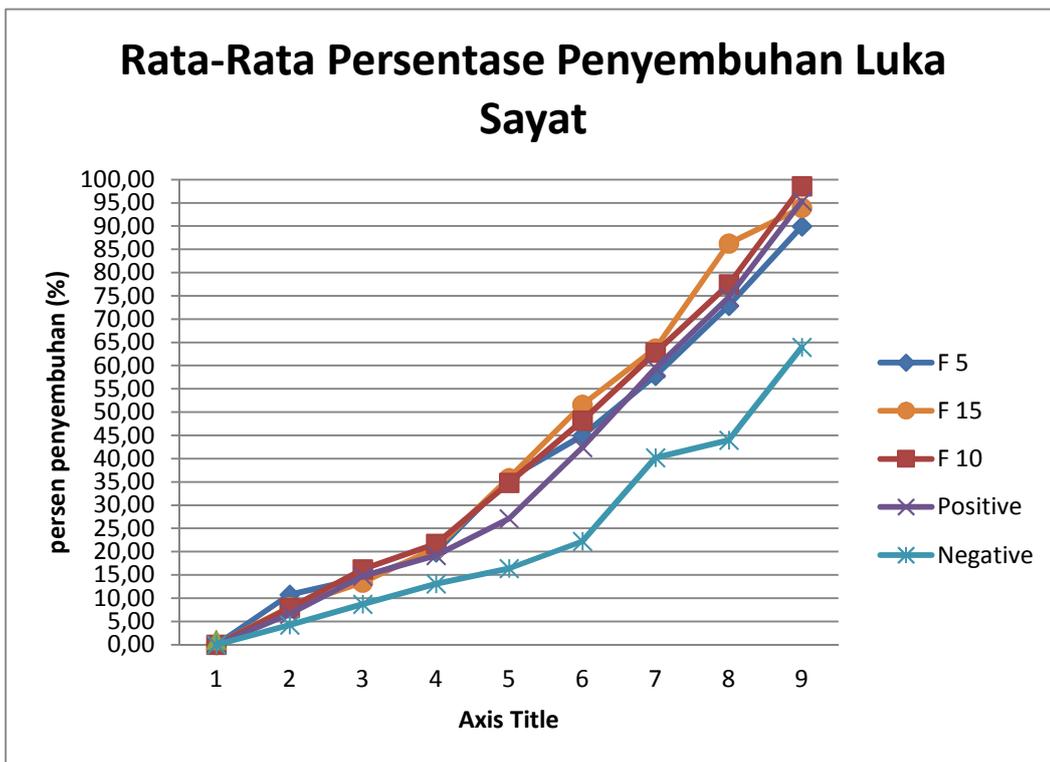
Gambar 1. Hasil Uji Profil KLT ekstrak etanol rimpang jeringau merah dengan plat silika gel GF₂₅₄, (a,d) pengamatan pada panjang gelombang 366nm, (b,e) pengamatan pada panjang gelombang 254 nm, (c) plat setelah disemprot vanillin-H₂SO₄ kemudian dipnaskan pada suhu 105⁰ C, (f) Plat setelah disemprot AlCl₃.

Efek Penyembuhan Luka

Pengujian mengenai efek penyembuhan luka sayat salep ekstrak jeringau merah ini dilakukan pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar. Pengamatan luka dilakukan setiap hari dari hari pertama sampai hari ke-9 dengan cara di ambil gambarnya dengan kamera digital dan diukur panjang luka dengan program *Macbiophotonic Image J*. Setelah diperoleh panjang luka dihitung nilai persentase daya penyembuhan luka. Peningkatan persentase daya penyembuhan luka berbanding terbalik dengan luas area luka, dimana semakin kecil luas area luka maka persentase daya penyembuhan luka akan semakin besar.

Berdasarkan nilai persentase penyembuhan luka dapat dihitung nilai AUC. Nilai AUC menggambarkan proses penyembuhan luka secara keseluruhan sehingga dapat diketahui kelompok yang memberikan efek penyembuhan luka terbaik. Nilai AUC yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik.

Uji yang pertama dilakukan adalah uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan diperoleh hasil data terdistribusi secara normal ($p > 0,05$). Kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas dengan menggunakan uji *Homogeneity of Variances* dan diperoleh hasil bahwa data yang diperoleh memiliki penyebaran yang homogen ($p > 0,05$). Untuk melihat apakah terdapat perbedaan yang

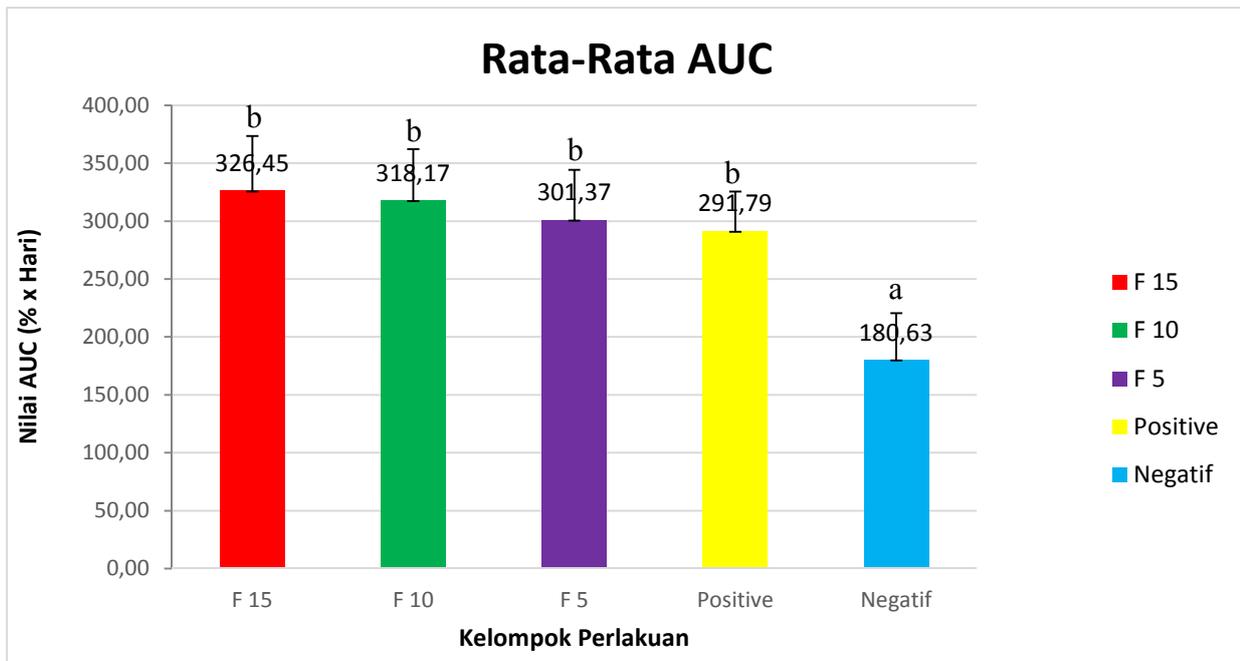


Gambar 2. Grafik Rata-rata Persentase Daya Penyembuhan Luka Sayat

bermakna antar kelompok maka dilakukan uji *One Way ANOVA*. Hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok ditandai dengan nilai $p < 0,05$. Analisis statistic dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*, Uji ini berfungsi untuk mengetahui secara detail kelompok-kelompok mana yang memiliki perbedaan yang signifikan. Hasil uji menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok negatif dengan nilai total AUC 180,63 % dengan kelompok positif dengan nilai 291,79 % hasil ini dapat diinterpretasikan bahwa metode yang digunakan sudah valid. Antara kelompok negatif dengan kelompok perlakuan F5 yang memiliki nilai total AUC sebesar 301,37 % juga terdapat perbedaan yang signifikan begitu pula dengan kelompok perlakuan F10 dan F15 yang memiliki nilai

total AUC beturut-turut 318,17 % dan 326,45 % hasil ini dapat diinterpretasikan bahwa ekstrak yang ada didalam sediaan adalah yang berperan paling besar dalam membantu proses penyembuhan luka. Hasil analisis statistik tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok positif dan ketiga kelompok perlakuan hasil ini dapat diinterpretasikan bahwa sediaan yang diuji memiliki efek penyembuhan luka.

Senyawa yang diduga memiliki aktivitas penyembuhan luka pada ekstrak etanol rimpang jeringau merah yaitu saponin dan flavonoid. Flavonoid bekerja pada fase inflamasi dengan cara menghambat pembentukan prostaglandin dan mediator inflamasi lainnya yaitu leukotriene turunnya produksi prostaglandin dan leukotrien sebagai mediator peradangan akan mempercepat



Gambar 3. Diagram Nilai AUC Total Rata-rata

Ket : a dan b terdapat perbedaan yang signifikan

proses inflamasi ke proses selanjutnya yaitu proliferasi dan mengakibatkan penyembuhan luka menjadi lebih cepat.^(13,14,15,16)

sedangkan saponin bekerja pada fase proliferasi dengan cara meningkatkan proliferasi dari monosit yang dapat mempengaruhi jumlah makrofag. Meningkatnya jumlah makrofag disekitar area luka dapat mempengaruhi banyak hal seperti meningkatnya sekresi *growth factors* yang berperan pada fase proliferasi dan meningkatnya jumlah fibroblast yang bermigrasi ke area luka disertai dengan meningkatnya jumlah kolagen yang disintesis sehingga proses proliferasi dapat dipercepat.^(13,14,15)

KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah :

1. Ekstrak etanol rimpang jeringau merah (*Acorus sp.*) menunjukkan adanya aktivitas penyembuhan luka.
2. Berdasarkan hasil penelitian dan dilihat dari nilai total AUC yang diperoleh menunjukkan adanya pengaruh dari perbedaan konsentrasi terhadap aktifitas penyembuhan luka dimana semakin tinggi konsentrasi maka semakin baik pula aktivitasnya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cohen IK, Diegelmann RF, Yager DR, Wornum IL, Graham M, Crossland MC. Wound care And wound healing. In: Schwartz SI, Spencer S, Fischer D, Galloway, editor. Principles of surgery. Edisi ke-7. New York: McGraw-Hill;1999.
2. Junquiera LC, Jose C. Basic histology: text and atlas. Edisi ke-11. New York: McGraw-Hill; 2005.

3. Ingold W. Wound Therapy : Growth Agenys As Factor to Promotes Wound Healing. *Trends Biotechnol.* 1993; 11: 387-392
4. Wiksman LB, Solomonik I, Spira R, Tennenbaum T. Novel insights into wound healing Sequence of events. *Toxicologic Pathol.* 2007;35:767-79.
5. Jaiswal S, Singh SV, Singh B, Singh HN. Plants used for tissue healing of animals. *Nat Prod Radiance.* 2004; 3: 284-92.
6. Safrina N. Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Rimpang Jeringau Merah (*Acorus sp.*) Terhadap Radang Kaki Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Karagenan [Skripsi]. Pontianak : Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura; 2016
7. Effendi VP, Widjanarko SB. Distilasi dan Karakterisasi Minyak Atsiri Rimpang Jeringau (*Acorus calamus*) dengan Kajian Lama Waktu Distilasi Dan Rasio Bahan : Pelarut. *Jurnal Pangan dan Agrobisnis.* 2014; 2(2): 1-8.
8. Tiwari N, Anil C, Ashutosh M, Ganesh B. Anti-Inflammatory effects of the saponins obtained from the leaves of *Acorus calamus*. *Pharmacologyonline.* 2010; 2.
9. Novidayanti. Uji Aktivitas antiinflamasi dan antipiretik ekstrak etanl daun petai (*Parkia speciosa* Hassk) pada tikus putih jantan galur wistar. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.2015; 3(1).
10. Hidayati, Nur A, Shanti L, Ahmad DS. Kandungan kimia dan uji antiinflamasi ekstrak etanol *Lantana camura* L pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan. *Bioteknologi.*2008; 5(1): 10-17.
11. Soeratri W, Erawati T, Rahmatika D, Rosita N. Penentuan Dosis Asam p-metoksisinamat (APMS) Sebagai Antiinflamasi Topikal dan Srudi Penetrasi APMS Melalui Kult Tikus dengan dan Tanpa Stratum Korneum. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia.* 2014; 1(1): 28-30.
12. Ukieyanna E. Aktivitas antioksidan, kadar fenolik dan flavonoid total tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth). Institut Pertanian Bogor; 2012.
13. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. The Basic Science of Wound Healing. *Plast Reconstr Surg.*2006; 117(7S) : 12S-34S.
14. Ardiana T, Kusuma ARP, Firdausy MD. Efektivitas Pemberian Gel Binahong (*Anredera cordifolia*) 5% Terhadap Jumlah Sel Fbroblast pada Soket PAsca Pencabutan Gigi Marmut (*Cavia cobaya*). *ODONTO Dental Journal.* 2015; 2(1) : 64-70.
15. Goldberg SR, Diegelmann RF. Basic Science of Wound Healing. *Critical Limb Ischemia.* 2017: 131-136.
16. Kim HP, Son KH, Chang HW, Kang SS. Anti-Inflammatory Plant Flavonoids and Cellular Action Mechanism. *J Pharmacol Sci.* 2004; 96: 229-245.