

Pengaruh Pemberian Salep Fraksi Etil Asetat Daun Meniran (*Phyllanthus Ninuri* L.) Selama 5 Hari Terhadap Penyembuhan Luka Eksisi pada Tikus Putih Jantan

Tobat, S.R.^{1,2}, Wahyuni, F.S.⁴, Yenny, S.W.³, Etriyel⁵, Afrianti, R.², Rani, D.N.²

¹Program Doktor, Departemen Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang.

²Fakultas Farmasi, Universitas Perintis Indonesia, Padang.

³Departemen Dermatologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang.

⁴Fakultas Farmasi Universitas Andalas.

⁵Departemen Bedah, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang.

Abstrak

Pendahuluan: Proses penyembuhan luka yang tidak tepat dapat menyebabkan luka menjadi kronis dan meningkatkan resiko infeksi sehingga memperburuk keadaan pasien. Terapi herbal merupakan bagian dari terapi tradisional, selain mudah didapat dan harga terjangkau, terapi herbal memiliki kemampuan menyembuhkan karena bekerja dalam lingkup sel dan molekuler. **Tujuan penelitian:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian salep fraksi etil asetat daun meniran terhadap penyembuhan luka eksisi tikus putih jantan. **Metode:** Pada penelitian ini hewan coba dikelompokkan menjadi 4 kelompok yang terdiri dari 1 kelompok kontrol, 2 kelompok uji dan 1 kelompok pembandingan. Kelompok kontrol diberikan basis salep selama 5 hari. Kelompok uji diberikan salep daun meniran fraksi etil asetat konsentrasi 5% dan 10%, dan kelompok pembandingan diberikan salep yang beredar yaitu Salep T®. Setiap kelompok diberikan persiapan selama 5 hari. Parameter yang diamati adalah persentase penyembuhan luka dan waktu epitelisasi. Kemudian dilanjutkan uji histopatologi untuk melihat serat kolagen, fibroblas dan re-epitelisasi. **Hasil:** Hasil uji ANOVA menunjukkan salep daun meniran fraksi etil asetat konsentrasi 10% menunjukkan persentase penyembuhan luka terbaik dengan persentase 33,78% dan waktu epitelisasi terjadi pada hari ke 7. Hasil pemeriksaan histopatologi menunjukkan salep etil asetat fraksi daun meniran 10% hampir mempunyai efek yang sama dengan salep pembandingan terhadap proses penyembuhan luka yang ditandai dengan serabut kolagen tampak berdifusi sedang dan tampak menyatu, fibroblas terdiri dari >50 sel dan untuk re-epitelisasi lapisan epidermis mempunyai sudah terbentuk, namun masih ada penebalan. **Kesimpulan:** Pemberian salep fraksi etil asetat daun meniran (*Phyllanthus ninuri* L) konsentrasi 5% dapat mempercepat proses penyembuhan luka eksisi tikus putih jantan.

Kata Kunci: Meniran, Fraksi Etil Asetat, Luka Eksisi, Histopatologi

Abstract

Introduction: Improper wound healing processes can cause wounds to become chronic and increase the risk of infection, thus making the patient's condition worse. Herbal therapy is part of traditional therapy, apart from being easily available and affordable, herbal therapy has the ability to heal because it works in cellular and molecular terms. **Research objectives:** This study aims to determine the effect of administering meniran leaf ethyl acetate fraction ointment on the healing of excision wounds in male white rats. **Method:** In this study, experimental animals were grouped into 4 groups consisting of 1 control group, 2 test groups and 1 comparison group. The control group was given ointment base for 5 days. The test group was given meniran leaf ointment with ethyl acetate fraction concentrations of 5% and 10%, and the comparison group was given the ointment in

*circulation, namely Ointment T®. Each group was given 5 days of preparation. The parameters observed were the percentage of wound healing and epithelialization time. Then proceed with histopathological tests to see collagen fibers, fibroblasts and re-epithelialization. **Results:** ANOVA test results showed that meniran leaf ointment with a 10% concentration of ethyl acetate fraction showed the best wound healing percentage with a percentage of 33.78% and the epithelialization time occurred on day 7. The results of histopathological examination showed that 10% meniran leaf fraction ethyl acetate ointment almost had an effect. which is the same as the comparison ointment regarding the wound healing process which is characterized by collagen fibers appearing to be moderately diffuse and appearing to be fused, fibroblasts consisting of >50 cells and for re-epithelialization the epidermis layer has been formed, but there is still thickening. **Conclusion:** Administration of meniran leaf (*Phyllanthus niruri* L) ethyl acetate fraction ointment with a concentration of 5% can accelerate the healing process of excision wounds in male white rats.*

Keywords: *Meniran, Ethyl Acetate Faction, Excision Wound, Histopathology*

I. PENDAHULUAN

Luka eksisi adalah luka dengan penghilangan volume yang signifikan pada jaringan sehingga ruangan yang kehilangan jaringannya tersebut diisi oleh material-material dari penyembuhan luka.¹ Penyembuhan luka merupakan proses kompleks yang melibatkan integrasi antara peristiwa selular dan molekular.² Sel fibroblas dan mononuklear adalah beberapa sel yang berperan penting dalam penyembuhan luka. Penyembuhan luka terdiri dari fase koagulasi dan hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase maturasi.³ Fase koagulasi dan hemostasis ditandai dengan vasokonstriksi, agregasi platelet, pembentukan klot fibrin, dan pengeluaran sitokin inflamasi dan faktor pertumbuhan.⁴ Sel-sel inflamasi kemudian mulai tertarik ke daerah luka karena beberapa agen kemotaktik, lalu memfagosit mikroorganisme dan benda asing di daerah luka. Fase proliferasi merupakan proses perbaikan jaringan dengan adanya migrasi fibroblas, angiogenesis, dan pembentukan jaringan granulasi. Sel-sel fibroblas selanjutnya akan mensintesis kolagen untuk memberi ketuhanan dan kekuatan jaringan. Dan fase terakhir adalah fase maturasi yaitu perkembangan komposisi jaringan baru sampai luka sembuh atau terbentuk jaringan parut.⁵

Proses penyembuhan luka yang tidak tepat dapat menyebabkan luka menjadi kronis dan meningkatkan resiko infeksi sehingga memperburuk keadaan pasien.⁶ Menurut Riskesdas 2007 dan 2013 luka eksisi termasuk dalam luka terbuka dan menempati tiga besar jenis cedera yang dialami masyarakat yaitu sebanyak 23,2%, dengan prevalensi cedera di Indonesia yang meningkat yaitu sebanyak 7,5% pada tahun 2007 dan 8,2% pada tahun 2013.^{7,8}

Terapi herbal merupakan bagian dari terapi tradisional, selain mudah didapat dan harga terjangkau, terapi herbal memiliki

kemampuan menyembuhkan karena bekerja dalam lingkup sel dan molekuler. Hal ini menjadikan herbal sebagai terapi alternatif tradisional yang patut dilakukan untuk memperbaiki kualitas hidup pasien.⁹

Salah satu sediaan topikal yang biasa digunakan adalah salep, dimana salep merupakan sediaan setengah padat yang ditujukan untuk pemakaian topikal pada kulit atau selaput lendir. Selain pembuatannya yang mudah salep memiliki beberapa kelebihan seperti lebih stabil, lunak, mudah dipakai dan terdistribusi secara merata.¹⁰ Sediaan topikal yang berasal dari bahan alam untuk penyembuhan luka salah satunya adalah daun pegagan (*Centella asiatica*) yang telah dipatenkan dengan nama sediaan T[®]. Daun pegagan juga memiliki khasiat yang sama dengan daun meniran sebagai alternatif perawatan luka terkontaminasi karena mengandung triterpen yang berfungsi sebagai antiinflamasi, antibakteri dan mendorong pembentukan kolagen serta mengandung minyak esensial yang berfungsi sebagai antibakteri.¹¹

Hasil penelitian Ahmed pada tahun 2012 menunjukkan bahwa pada kelompok tikus yang diinduksi luka dan diberikan ekstrak daun meniran (*Phyllanthus niruri* L) 5% dan 10% dapat mengurangi lebar bekas luka, meningkatkan proliferasi fibroblas, serta meningkatkan jumlah kolagen dan angiogenesis.¹² Selain itu Shanbag pada tahun 2010 membuktikan bahwa pemberian ekstrak daun meniran baik secara oral maupun topikal dapat mempercepat proses penyembuhan luka yang ditandai dengan lebih cepatnya periode epitelisasi.¹³ Hal ini dihubungkan dengan kandungan kimia pada daun meniran (*Phyllanthus niruri* L) yaitu Flavonoid, Tanin, dan Triterpenoid. Ekstrak daun meniran memiliki beberapa efek yang berperan penting dalam proses penyembuhan luka.¹⁴

Hasil penelitian Novitamara tahun 2019 menunjukkan bahwa salep ekstrak daun

meniran (*Phyllanthus niruri* L) konsentrasi 10% dan 20% memberikan hasil yang baik terhadap proses penyembuhan luka dibandingkan konsentrasi 5% dan kelompok pembanding, sedangkan hasil penelitian Gusriyani tahun 2019 dengan menggunakan parameter hidrosiprolin menunjukkan bahwa salep fraksi etil asetat daun meniran (*Phyllanthus niruri* L) konsentrasi 5% dan 10% memberikan persentase penyembuhan luka yang paling besar dibandingkan semua kelompok. Pada penelitian ini dilakukan pengukuran persentase penyembuhan luka menggunakan parameter histopatologi terhadap pembentukan serabut kolagen pada kulit punggung tikus. Pemeriksaan jumlah fibroblas dan re-epitelisasi menggunakan metode skor, dimana menggunakan sediaan salep fraksi etil asetat daun meniran (*Phyllanthus niruri* L) konsentrasi 5% dan 10%.^{15,16}

Berdasarkan uraian diatas bahwa kandungan Flavonoid, Tanin, dan Triterpenoid yang terdapat di dalam daun meniran mempunyai efek sebagai anti inflamasi, anti oksidan, anti mikroba, anti virus serta analgesik dan berperan sebagai astringensia yang sangat baik sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan luka. Oleh karena itu, peneliti tertarik melakukan penelitian lebih lanjut mengenai gambaran histopatologi penyembuhan luka eksisi menggunakan salep fraksi etil asetat daun meniran (*Phyllanthus niruri* L) konsentrasi 5% dan 10 % selama 5 hari pada tikus putih jantan terhadap pembentukan serabut kolagen pada kulit punggung tikus, pemeriksaan jumlah fibroblas dan re-epitelisasi menggunakan metode skor.

II. METODOLOGI PENELITIAN

A. ALAT

Alat-alat yang digunakan adalah kapas, pencukur bulu, gunting bedah, tabung reaksi, pipet tetes, penggaris, rotary evaporator, timbangan digital, pinset, erlenmeyer, gelas

ukur,krus porselen, labu ukur,cawan penguap, botol semprot, batang pengaduk.

B. BAHAN

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah makanan dan minuman tikus, daun meniran, etanol 96%, aquadest, alkohol 70%, kloroform, vaselin flavum, salep T[®], formalin.

C. PROSEDUR PENELITIAN

1. Penyiapan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun meniran (*phyllantus niruri* L.) di daerah Anak Air, Lubuk Buaya, Koto Tangah, Kota Padang, Sumatera Barat.

2. Identifikasi Sampel

Identifikasi sampel dilakukan di Herbarium Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Andalas Padang (UNAND).

3. Persiapan Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih jantan galur wistar yang berumur 2-3 bulan sebanyak 24 ekor dengan berat badan antara ± 200 gram. Tikus 24 ekor ini dibagi menjadi 4 kelompok besar, dimana tiap-tiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus. Sebelum diperlakukan tikus diaklimatisasi selama 7 hari dengan diberi makan dan minum yang cukup. Tikus yang digunakan adalah tikus yang sehat dan tidak menunjukkan perubahan berat badan lebih dari 10% yang berarti menunjukkan perilaku yang normal.

a. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Meniran(*Phyllantus niruri* L)

Ekstrak dibuat dengan cara maserasi dengan menggunakan etanol 70%. Satu bagian serbuk kering herba meniran dimasukkan kedalam maserator, ditambah 10 bagian etanol 96%, direndam selama 6 jam sambil sekali-kali diaduk, kemudian didiamkan sampai 24 jam. Maserat dipisahkan dan proses diulangi 2 kali dengan jenis dan

jumlah pelarut yang sama. Semua maserat dikumpulkan dan diuapkan dengan rotary evaporator, setelah etanol tidak menetes diperoleh ekstrak kental. Rendemen yang diperoleh ditimbang dan dicatat¹⁷.

b. Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)

Ekstrak etanol kental daun meniran diencerkan dengan aquadest (1:5), lalu dimasukkan kedalam corong pisah. Fraksinasi dengan pelarut heksan (2:1) secara berulang hingga diperoleh fraksi terakhir heksan yang sudah tidak berwarna lagi. Semua fraksi heksan diuapkan pelarutnya dengan rotary evaporator sehingga diperoleh fraksi non polar daun meniran. Selanjutnya fasa air difraksinasi dengan etil asetat (2:1) secara berulang seperti prosedur diatas sehingga diperoleh fraksi kental semi polar¹⁶.

Pada penelitian ini selanjutnya digunakan fraksi semi polar, yaitu fraksi etil asetat yang kemudian dibuat menjadi sediaan salep untuk diujikan pada hewan percobaan.

c. Pembuatan Salep Fraksi Etil Asetat Daun Meniran¹⁸

Sediaan salep yang akan dibuat dalam penelitian ini memiliki konsentrasi fraksi etil asetat daun meniran yaitu 5% dan 10% dan sediaan yang dibuat sebanyak 20 g selama 5 hari pengamatan. Masukkan fraksi etil asetat ekstrak daun meniran kedalam lumpang kemudian timbang dasar salep masukkan kedalam lumpang kemudian digerus hingga homogen. Keluarkan dari lumpang, masukkan kedalam wadah yang disiapkan.

d. Evaluasi Salep Fraksi Etil Asetat Daun Meniran¹⁸

i. Uji Organoleptis

Pengujian organoleptik dilakukan dengan mengamati sediaan salep dari bentuk, bau dan warna sediaan. Spesifikasi salep yang harus dipenuhi adalah memilih bentuk setengah padat, warna harus sesuai dengan

spesifikasi pada saat pembuatan awal salep dan baunya tidak tengik.

ii. Uji Homogenitas

Uji homogenitas sediaan dilakukan dengan cara salep dioleskan pada sekeping kaca atau bahan transparan lain yang cocok harus menunjukkan susunan yang homogen. Salep yang homogen ditandai dengan tidak terdapatnya gumpalan pada hasil pengolesan, struktur yang rata dan memiliki warna yang seragam dari titik awal pengolesan sampai titik akhir pengolesan. Salep yang di uji diambil tiga tempat yaitu bagian atas, tengah dan bawah dari wadah salep.

iii. Uji pH salep

Pengukuran nilai pH menggunakan alat bantu stik pH universal yang dicelupkan kedalam 0,5 g salep yang telah diencerkan dengan 5 mL aquadest. Nilai pH salep yang baik adalah 4,5-6,5 atau sesuai dengan nilai pH kulit manusia.

4. Pembuatan Luka

Sehari sebelum pembuatan luka, hewan percobaan dicukur bulunya pada bagian punggung yang akan dibuat sayatan kemudian dibersihkan dengan menggunakan kapas yang diberi alkohol 70% dan dilakukan anestesi pada tikus dengan menggunakan kloroform. Selanjutnya dibuat luka yang berbentuk lingkaran dengan diameter \pm 2 cm dengan kedalaman \pm 1 mm dengan cara mengangkat kulit tikus pada bagian punggung dengan pinset lalu dilukai dengan gunting bedah¹⁹.

5. Pemberian Salep Fraksi Etil Asetat Daun Meniran

Hewan ditimbang dan dikelompokkan menjadi 4 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor.

Kelompok I : Tikus yang dioleskan basis salep (kontrol)

Kelompok II : Tikus yang dioleskan salep fraksi etil asetat daun meniran konsentrasi 5%

Kelompok III : Tikus yang dioleskan salep fraksi etil asetat daun meniran konsentrasi 10%

Kelompok IV : Tikus yang dioleskan sediaan yang beredar yaitu salep T[®].

6. Pengujian Aktivitas Penyembuhan Luka

Sediaan salep dioleskan pada bagian punggung tikus, pemakaian 2 kali sehari yang diberikan pada pagi dan sore selama 5 hari. Sediaan diberikan pada masing-masing kelompok sesuai dengan pengelompokkannya. Lalu dilakukan pengamatan parameter penyembuhan luka¹⁹.

7. Parameter yang Diukur pada Penyembuhan Luka

a. Persentase Luas Penyembuhan Luka

Persentase luas penyembuhan luka dengan menghitung luas luka pada hari pertama setelah dilukai sampai hari ke-5 pada masing-masing kelompok. Dicari persentase luas penyembuhan lukanya dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Luas Penyembuhan Luka} = \frac{\text{Luas Luka Awal} - \text{Luas Luka Akhir}}{\text{Luas Luka Awal}} \times 100\%$$

b. Waktu Epitelisasi

Waktu yang diperlukan untuk terbentuknya epitel baru yang sempurna menutupi daerah luka. Dalam hal ini dicatat hari ke pengelupasan krusta dari luka tanpa meninggalkan sisa luka di area eksisi.

c. Pengamatan Waktu epitelisasi

Waktu epitelisasi diamati pada fase proliferasi, dimana fase proliferasi ini diamati saat akhir fase inflamasi sampai kira-kira minggu ke 3. Fase ini berlangsung pada hari ke 5 sampai hari ke 21. Pada fase proliferasi ini permukaan luka sudah mulai tertutup. Dengan tertutupnya permukaan luka, proses fibroplasia dengan pembentukan jaringan granulasi juga terhenti dan mulailah proses pematangan.

d. Histopatologi

Dilakukan pengamatan terhadap serabut kolagen pada jaringan luka eksisi. Dari tiap kelompok diambil 2 ekor tikus untuk dikorbankan masing-masing pada hari ke-5.

8. Prosesing Jaringan

- Pemotongan Jaringan basah; jaringan dipotong dengan ketebalan \pm 4mm dan dimasukkan kedalam kaset jaringan
- Fiksasi; fiksasi dengan formalin 10% berbuffer phospat dengan ph normal (7)
- Dehidrasi dalam bertingkat masing-masing 30menit dalam larutan ethanol 70%, 95% dan 100%
- Clearing dalam larutan Xylene I, dan Xylene II masing masing 30 menit
- Impregnasi dalam parafin cair (paraplast) I, dan II, pada suhu 54°C selama masing masing 1 jam
- Blocking jaringan dengan parfin cair dalam tissue mold, kemudian didinginkan pada suhu ruang.
- Pemotongan Block dengan rotary microtome dengan ketebalan \pm 4 μ m, kemudian di tempelkan pada kaca objek²⁰.

9. Pewarnaan Hematoksilin-eosin

- Panaskan slide di oven 65 °C 30 menit
- Rendam slide dalam Xylene I, II (masing 1-3 minutes)
- Rehidrasi dengan merendam slide pada larutan alkohol bertingkat dari konsentrasi tinggi ke rendah,
 - EtOH (ethanol alcohol) 100% (2-3 menit)
 - EtOH(ethanol alcohol) 96% (2-3 menit)
 - EtOH (ethanol alcohol) 70% (2-3 menit)
- Aquadest 3 menit
- Hematoxylin, 5-10 menit
- Bilas Aquadest 5-10 menit
- Rendam Eosin Y ; 3 menit
- Bilas dalam Alkohol 70% 3 menit
- Dehidrasi dengan merendam slide pada larutan alkohol bertingkat dari konsentrasi rendah ke tinggi
 - EtOH(ethanol alcohol) 96% (menit)

- Absolute 100% ethanol, (3 menit)
- Clearing dalam; Xylene, 3 menit
- Mounting with entelan dan tutup sediaan dengan cover slip²⁰.

10. Pemeriksaan Mikroskopis Sediaan histologi jaringan Luka Eksisi

Sediaan yang telah ditutup dengan cover slip kemudian diamati dibawah mikroskop dan dibuat skor dengan kriteria²¹:

- 0 : Tidak tampak serabut kolagen
- 1 : Serabut kolagen menyebar tipis atau sedikit
- 2 : Serabut kolagen menyebar sedang dan tampak penyatuan
- 3 : Serabut kolagen menyebar banyak dan terikat sempurna

11. Pemeriksaan jumlah fibroblas dan re-epitelisasi

Pengamatan Histopatologi untuk pemeriksaan jumlah fibroblas dan re-epitelisasi menggunakan metode skor.

TABEL 1. SKOR JUMLAH FIBROBLAS DAN RE-EPITELISASI^{22,23}

Parameter	Skor		
	0	1	2
Fibrolas	Tidak ada	5-10 Sel	10-50 Sel
Re-Epitelisasi	Absent	Starting	Incomplete

Keterangan Skor Re-epitelisasi :

- 0=*absent* (kerusakan menyeluruh pada bagian epidermis)
- 1=*starting* (mulai terbentuk lapisan epidermis)
- 2=*incomplete* (lapisan epidermis sudah terbentuk, tetapi masih ada penebalan)
- 3=*complete* (lapisan epidermis sudah terbentuk secara sempurna dan tidak ditemukan penebalan pada lapisan epidermis).

D. ANALISIS DATA

Data yang diperoleh dianalisis dengan pengujian statistik analisa uji ANOVA (*Analisis of Variance*) satu arah. Jika hasil yang diperoleh signifikan ($P < 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji duncan yang

bertujuan untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan hasil antara masing-masing kelompok perlakuan.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada Penelitian ini diperoleh hasil uji organoleptis yang menunjukkan bentuk fraksi etil asetat daun meniran berupa cairan kental, bau yang khas, dan berwarna coklat kehijauan. Hasil Rendemen didapatkan 15.35%. Hasil pemeriksaan susut pengeringan fraksi diperoleh hasil 16,33% dan menurut BPOM pada tahun 2004, susut pengeringan yang baik adalah $\leq 17\%$, ini berarti untuk pemeriksaan awal dari fraksi meniran sudah sesuai literatur.²⁴ Tujuan dilakukan susut pengeringan adalah untuk mengetahui persentase senyawa yang hilang selama proses pemanasan, tidak hanya air tapi juga senyawa menguap lainnya. Kemudian dilanjutkan dengan uji fitokimia yang positif mengandung flavonoid, fenolik, dan steroid.

Uji skrining fitokimia merupakan salah satu cara untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada suatu tanaman. Uji skrining ini sangat berguna untuk menentukan golongan utama dari senyawa aktif dari fraksi etil asetat daun meniran yang mendukung dalam proses penyembuhan luka. Pada literatur tertulis bahwa pada tanaman meniran ini mengandung tidak kurang dari 3,20% flavonoid.²⁵ Diketahui bahwa ekstrak herba meniran mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, tannin dan fenolik, sedangkan pada penelitian ini hasil uji skrining fitokimia fraksi etil asetat daun meniran hanya positif mengandung flavonoid, fenolik dan steroid.²⁶

Perbedaan hasil uji tersebut dapat disebabkan oleh perbedaan geologis dari tanaman meniran yang telah diisolasi, lingkungan dengan kondisi yang berbeda suhu, ketersediaan hayati, energy surya, mutu atmosfer, struktur dan komposisi udara tanah, reaksi tanah dan organisme dari

faktor-faktor tersebut maka memungkinkan didapatkannya hasil isolasi yang berbeda dari pengambilan sampel yang berbeda pula tempat pengambilannya.²⁷

Selanjutnya fraksi etil asetat kental daun meniran dibuat dalam bentuk sediaan salep karena salep cukup baik sebagai penghantar untuk sediaan topikal yang bersifat stabil, lunak, mudah dipakai dan terdistribusi secara merata. Hasil pengamatan secara organoleptis terhadap salep fraksi etil asetat daun meniran menunjukkan bentuk berupa sediaan setengah padat, bau yang khas, dan berwarna coklat kehijauan. Hasil organoleptis dari sediaan menunjukkan bahwa sediaan homogen yang ditandai dengan tidak terdapatnya gumpalan pada hasil pengolesan. Hasil uji pH salep menunjukkan salep konsentrasi 5% memiliki pH 6, dan salep konsentrasi 10% memiliki pH 5, salep tersebut memiliki nilai pH yang baik karena sesuai dengan nilai pH kulit manusia yaitu 4,5 - 6,5.

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan, karena disamping keseragaman jenis kelamin hewan uji ini juga mempunyai keseragaman galur. Keseragaman ini dilakukan bertujuan agar dapat memberikan respon yang relatif lebih seragam. Sebelum dilakukan pengujian, terlebih dahulu hewan percobaan diaklimatisasi selama 1 minggu untuk menyesuaikan diri terhadap lingkungan sekitar. Hewan coba dinyatakan sehat jika hewan yang selama pemeliharaan perubahan bobotnya tidak melebihi 10%.

Hewan percobaan dikelompokkan atas 4 kelompok, tiap kelompok terdiri 6 ekor tikus. Kelompok 1 (kontrol) tikus yang dilukai dan dioleskan vaselin flavum, kelompok 2 (perlakuan) tikus yang dilukai dan dioleskan salep fraksi etil asetat daun meniran konsentrasi 5%, kelompok 3 (perlakuan) tikus yang dilukai dan dioleskan salep fraksi etil asetat daun meniran konsentrasi 10%, kelompok 4 (pembanding) tikus yang dilukai

dan dioleskan sediaan pembanding yaitu salep T[®].

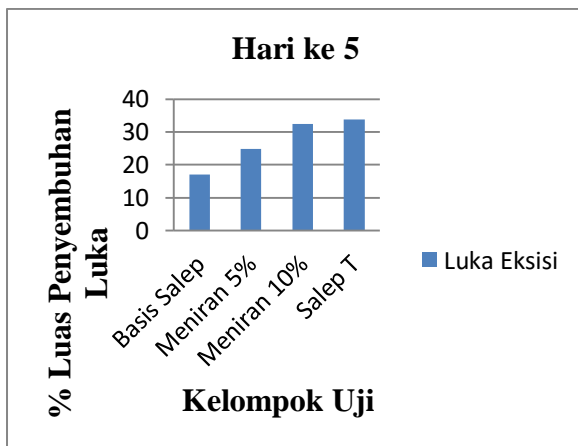
Sebelum diberikan sediaan uji hewan percobaan dibuat luka ekisisi, dengan cara punggung tikus dirontokkan bulunya dengan krim veet[®] dimana sebelum dilukai pada punggung tikus, tikus dianestesi terlebih dahulu dengan menggunakan kloroform, kemudian pada daerah punggung yang telah dirontokkan bulunya dibersihkan dengan alkohol 70%. Setelah itu dibuat luka berbentuk lingkaran dengan diameter \pm 2 cm, dengan cara mengangkat kulit tikus dengan pinset dan digunting dengan gunting bedah. Setelah dilukai ukur diameter luka awal yang terbentuk. Kemudian sediaan uji diberikan secara topikal sebanyak 2 kali sehari pada pagi dan sore selama 5 hari sebanyak 200 mg. Pengukuran diameter luka yang terbentuk dilakukan setiap hari untuk menghitung persentase penyembuhan luka.

Hasil pengukuran persentase penyembuhan luka yang menggunakan fraksi etil asetat daun meniran menunjukkan bahwa salep fraksi etil asetat daun meniran konsentrasi 10% memberikan efek yang lebih besar terhadap penyembuhan luka yang dilihat dari hasil persentase penyembuhan luka yaitu 32.44%. Hal ini dikarenakan karena pada fraksi etil asetat merupakan senyawa semi polar yang berperan dalam proses penyembuhan luka, dapat dilihat pada Tabel 2, Gambar 1.

TABEL 2 . HASIL PENGUKURAN PERSENTASE PENYEMBUHAN LUKA

Kelompok	Hewan Percobaan	% Luas Penyembuhan Luka Hari Ke-5	Rata-rata SD
Basis Salep	1	13,68	17,12% \pm 2,08
	2	15,91	
	3	16,86	
	4	18,88	
	5	19,00	
	6	18,41	
Meniran 5%	1	22,14	
	2	20,55	

	3	26,14	24,78%
	4	25,79	± 2,80
	5	27,85	
	6	26,24	
Meniran 10%	1	30,37	
	2	29,34	
	3	30,04	32,44%
	4	34,25	± 2,83
	5	35,77	
	6	34,92	
Salep T[®]	1	33,47	
	2	35,77	
	3	31,20	33,78%
	4	37,09	± 2,44
	5	30,96	
	6	34,19	



GAMBAR 1. DIAGRAM PERSENTASE LUAS PENYEMBUHAN LUKA

Berdasarkan hasil analisa statistik dengan uji ANOVA didapatkan nilai signifikansi 0,00 ($p < 0,05$), artinya dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Dari hasil uji lanjutan Duncan terlihat bahwa masing-masing kelompok memiliki efek menyembuhkan luka yang berbeda nyata, tetapi antara kelompok Meniran 10% dan kelompok Salep T memiliki efek yang hampir sama terhadap penyembuhan luka eksisi pada tikus dengan persentase masing-masing 32,44 dan 33,78%.

Waktu epitelisasi adalah waktu yang dicatat dari hari pertama pengelupasan keropeng tanpa meninggalkan sisa luka. Dari hasil pengamatan yang dilakukan selama 5 hari pada hewan percobaan kelompok perlakuan

sediaan basis salep pengelupasan jaringan terjadi pada hari ke-9. Pada kelompok perlakuan sediaan salep fraksi etil asetat 5% pengelupasan jaringan terjadi pada hari ke-8. Sedangkan kelompok perlakuan sediaan salep fraksi etil asetat 10% dan kelompok perlakuan sediaan Salep T[®] pengelupasan jaringan terjadi pada hari ke-7. Ini menunjukkan bahwa waktu pengelupasan keropeng yang paling baik terdapat pada sediaan salep yang mengandung fraksi etil asetat daun meniran 10% dan sediaan Salep T[®], dapat dilihat pada Tabel 3.

TABEL 3 . WAKTU EPITELISASI

Kelompok	Hewan Percobaan	Waktu Epitelisasi (hari ke-)	Rata-rata
Basis Salep	1	9	Hari ke 9
	2	9	
	3	8	
	4	10	
Meniran 5%	1	7	Hari ke 8
	2	8	
	3	8	
	4	9	
Meniran 10%	1	7	Hari ke 7
	2	8	
	3	7	
	4	7	
Salep T[®]	1	7	Hari ke 7
	2	6	
	3	8	
	4	7	

Pada pengujian histopatologi dilakukan pada tiap kelompok hewan yang masing-masing kelompok digunakan 2 ekor tikus, tikus dikorbankan pada hari ke 6 dengan menggunakan eter, setelah itu dijepit kulit tikus bagian luka menggunakan pinset kemudian digunting sampai terbawa daging tikus yang sehat. Lalu setelah kulit digunting, masukkan kedalam larutan NaCl fisiologis yang bertujuan untuk menghilangkan darah pada kulit dan kemudian dipindahkan ke dalam larutan formalin 10% untuk diawetkan. Jaringan kulit tikus difiksasi dengan formalin 10%

dan selanjutnya diproses menjadi blok paraffin dan dipotong dengan mikrotom dengan ketebalan 4 µm.

Sediaan diwarnai dengan pewarnaan hematoksin-eosin. Pengukuran dilakukan dengan pemotretan sediaan hematoksin-eosin dengan mikroskop cahaya Olympus BX 51 pada perbesaran 400x dan untuk setiap sampel diambil 5 daerah lapang pandang yang berbeda, lalu dilakukan penilaian mikroskop jaringan kulit dengan menilai serabut kolagen, fibroblast dan re-epitelisasi.

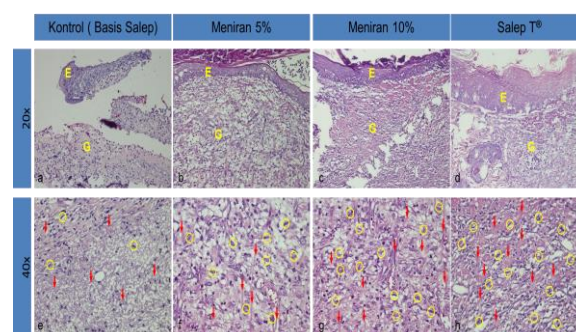
Terdapat perbedaan pada gambaran histopatologis jaringan kulit hewan coba antar kelompok pada sampel penelitian seperti tampaknya re-epitelisasi maupun proliferasi fibroblast dan deposisi serabut kolagen pada kelompok perlakuan dengan fraksi meniran lebih baik dibandingkan kelompok basis salep, namun tidak sebaik pemberian kelompok salep T, dapat dilihat pada Tabel 4.

TABEL 4. PERBEDAAN HISTOPATOLOGI BERDASARKAN KELOMPOK UJI

Kelompok Uji	Keterangan
Basis salep	Serabut kolagen tampak menyebar tipis atau sedikit, fibroblast terdiri dari 5-10 sel dan Re-epitelisasi lapisan epidermis mulai terbentuk.
Meniran 5%	Serabut kolagen tampak menyebar tipis atau sedikit, fibroblast terdiri dari 10-50 sel dan Re-epitelisasi lapisan epidermis mulai terbentuk.
Meniran 10%	Serabut kolagen tampak menyebar sedang dan tampak penyatuan, fibroblast terdiri dari 10-50 sel dan Re-epitelisasi lapisan epidermis sudah terbentuk, tetapi masih ada penebalan

Salep T[®] Serabut kolagen tampak menyebar sedang dan tampak penyatuan, fibroblast terdiri dari > 50 sel dan Re-epitelisasi lapisan epidermis sudah terbentuk, tetapi masih ada penebalan

Dari Tabel 4, Gambar 2 terlihat perbedaan pada gambaran histopatologis jaringan luka eksisi hewan coba bahwa serabut kolagen pada kelompok hewan uji yang diberikan fraksi Meniran 10% lebih banyak dibandingkan kelompok hewan uji yang diberikan fraksi meniran 5%, namun pada kelompok hewan uji yang diberikan basis salep serabut kolagen masih tampak menyebar tipis. Begitu juga dengan proliferasi sel fibroblast, terdapat peningkatan proliferasi fibroblast pada pemberian fraksi meniran 10% lebih tinggi dibandingkan fraksi meniran 5% dan basis salep untuk proses penyembuhan luka. Sedangkan pada pemberian basis salep re-epitelisasi sudah mulai tampak namun tipis, sedangkan pemberian fraksi meniran memperlihatkan re-epitelisasi yang lebih baik, epitelisasi tampak kelihatan lebih tebal pada fraksi meniran 10% dibanding fraksi meniran 5%, namun pada pemberian basis salep re-epitelisasi belum ditemukan secara sempurna dan pada pemberian salep T[®] masih tampak belum sempurna pada hari ke 5 percobaan.



GAMBAR 2. GAMBARAN MIKROSKOPIS JARINGAN KULIT LUKA EKSISI
KETERANGAN GAMBAR :
RE-EPITELISASII (E), JARINGAN GRANULASI (G) DAN SERABUT KOLAGEN (PANAHI/↓), FIBROBLAST (LINGKARAN/○)SERTA INFILTRASI SEL RADANG.

TABEL 5. PENILAIAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI SERABUT KOLAGEN, FIBROBLAS DAN RE-EPITELISASI BERDASARKAN SKOR PADA HEWAN COBA

Kelompok Sampel	Rata-rata Skor Histopatologi Penyembuhan Luka			
	Kolagen	Fibroblas	Re-Epitelisasi	
Basis Salep	1	1	1	1
	2	1	1	1
Meniran 5%	1	1	2	1
	2	2	2	1
Meniran 10%	1	2	2	2
	2	3	3	2
Salep T [®]	1	3	3	2
	2	2	3	2

Dari Tabel 5 terlihat gambaran mikroskopis histopatologi serabut kolagen, fibroblast dan Re-epitelisasi yang dinilai berdasarkan skor, hasilnya menunjukkan terdapat perbedaan antara kelompok perlakuan dan kelompok pembanding. Dari metode skor terlihat bahwa sediaan salep meniran 10% memberikan hasil yang baik yang ditandai dengan peningkatan serabut kolagen dan peningkatan fibroblast dan jaringan epidermisnya sudah tampak menebal. Inilah yang membantu terhadap proses penyembuhan luka, akan tetapi pemberian Salep fraksi meniran 10% ini tidak sebaik pemberian salep T[®]. Namun lain halnya dengan uji statistik. Pada uji lanjut Duncan menunjukkan tidak terdapatnya perbedaan nyata hasil histopatologi serabut kolagen, fibroblast dan re-epitelisasi antara salep fraksi etil asetat 10% dan salep T[®].

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

Dari penelitian diatas dapat disimpulkan bahwa pemberian salep fraksi etil asetat daun meniran (*Phyllanthus ninuri* L) konsentrasi 5% dapat mempercepat proses penyembuhan luka dengan persentase 24,78% serta gambaran histopatologi memperlihatkan Serabut kolagen tampak menyebar tipis atau sedikit, fibroblast terdiri dari 10-50 sel dan

Re-epitelisasi lapisan epidermis mulai terbentuk. Serta pemberian salep fraksi etil asetat daun meniran (*Phyllanthus ninuri* L) konsentrasi 10% dapat mempercepat proses penyembuhan luka dengan persentase 32,44% serta gambaran histopatologi memperlihatkan Serabut kolagen tampak menyebar sedang dan tampak penyatuan, fibroblast terdiri dari 10-50 sel dan Re-epitelisasi lapisan epidermis sudah terbentuk, tetapi masih ada penebalan.

Disarankan untuk peneliti selanjutnya untuk menggunakan teknik pewarnaan yang spesifik guna menilai deposisi kolagen seperti metoda Sirius red, serta penilaian sel fibroblast dengan metoda immunohistokimia.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Dorsett-Martin WA dan Wysocki AB. *Sourcebook of Models for Biomedical Research*, PM Conn Ed. Humana Press Inc: 631-637; 2008.
- [2]. Gopalakrishnan A, Ram M, Kumawat S. Quercetin Accelerated Cutaneous Wound Healing in Rats by Increasing Levels of VEGF and TGF- β 1, *Indian Journal of Experimental Biology*; 54: 187-195; 2015.
- [3]. Samanta R, Pattnaik AK, Pradhan KK, Mehta BK, Pattanayak SP, Banerjee S. Wound Healing Activity Of Silibinin In Mice, *Pharmacognosy.Res*; 8(4): 298-302; 2016.
- [4]. Pereira RF & Bartolo PJ. Traditional therapies for skin wound healing, *Advances in wound care*; 5(5): 208-229; 2016.
- [5]. Velnar T, Bailey T, Smrkoli V. The Wound Healing Process: an Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms, *The Journal Of International Medical Research*; 37(5): 1528 – 1542; 2009.
- [6]. Pereira RF, Bártolo PJ. Traditional Therapies for Skin Wound Healing. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2016 May 1;5(5):208-229. doi: 10.1089/wound.2013.0506. PMID: 27134765; PMCID: PMC4827280.
- [7]. Riset Kesehatan Dasar. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, *Departemen Kesehatan, Republik Indonesia*. Jakarta, 2007.
- [8]. Riset Kesehatan Dasar. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, *Departemen Kesehatan, Republik Indonesia*. Jakarta, 2013.
- [9]. Suryo Joko. Herbal Untuk Kanker Pada Wanita. Agromedia: Jakarta, 2009.

- [10]. Maryani, Siswati, Yanthy S, Liana T, Elizabeth LW, Elly H, Ninis S. Ilmu Resep Kelas X. Jakarta: Pilar Media, 2013
- [11]. Amaliya S, Bambang S, Yulian WU. Efek Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) Dalam Mempercepat Penyembuhan Luka Terkontaminasi Pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Galur Wistar. *Jurnal Ilmu Keperawatan*;1(1):19-25; 2013.
- [12]. Ahmed KA, Abdulla MA, Mahmoud FM. Wound healing potential of *Phyllanthus niruri* leaf extract in experimental rats. *Mid-East J Sci Res*;11(11):16-18; 2012.
- [13]. Shanbhag T, Amuthan A, Shenoy S, Sudhakar. Effect of *Phyllanthus niruri* Linn. on burn wound in rats. *Asian Pac J Trop Med.* ;3(2):105-108; 2010.
- [14]. Bagalkotkar G, Sagineedu SR, Saad MS, Stanslas J Phytochemical From *Phyllanthus niruri* Linn. And Their Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*: 1560-1562; 2007.
- [15]. Novitamara CK. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) Terhadap Penyembuhan Luka Eksisi Pada Tikus Putih Jantan, *Skripsi, STIFI*, Padang, 2019
- [16]. Gusriyani S. Pengaruh Pemberian fraksi Etil Asetat Daun Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) Terhadap Penyembuhan Luka Eksisi Pada Tikus Putih Jantan, *Skripsi, STIFI*, Padang,
- [17]. Aspan R, Sherley, Napitupulu, R, Wicaksono LS, Efizal, ML, Herawati LT, Novianti A, Wahyu S, Tumino. Taksonomi Koleksi Tanaman Obat Kebun Tanaman Citeureup, *Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, Jakarta*, 2008,
- [18]. Depkes RI. 1995. Farmakope Indonesia (Edisi IV). Jakarta: *Departemen Kesehatan RI, Direktorat Jenderal Badan Pengawasan Obat dan Makanan*.
- [19]. Cahaya, Herson H, Pramono, Dwi AR. Uji Farmakologis Ekstrak Kental Daun Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn) Untuk Membantu Penyembuhan Luka Sayat Pada Tikus Putih Jantan. *Jurnal Farmamedika*; 2(1):25-31; 2017.
- [20]. Bancroft JD. Theory And Practice Of Hystological Techniques. *Churcill living Stone.New York*, 2001.
- [21]. Burkitt HG, Heath JW dan Young B. Histologi Fungsional. Edisi 3. Penerjemah: Tambayong: Fungsional Histology. Jakarta: *Buku Kedokteran ECG*, 1995.
- [22]. Karimi MP, Parsaei SY, Asadi S, Ezzati RK, Boroujeni AZ, Rafieian-Kopaei M. Effects of *Camellia sinensis* Ethanolic Extract on Histometric and Histopathological Healing Process Of Burn Wound In Rat. *Middle-East Journal Of Scientific Research*;13: 14-19; 2013.
- [23]. Roodbari NA, Sotoudeh A, Jahanshahi MA, Takhtfooladi. Healing Effect Of *Adiantumcapillus Veneris* On Surgical Wound In Rat. *Research Opinions In Animal & Veterinary Sciences*.12: 591-595; 2012.
- [24]. Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM). Peraturan Teknis Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Pemanis Buatan dalam Produk Pangan. Jakarta: *Deputi Bidang Pengawasan Keamanan Pangan dan Bahan Berbahaya*, 2004.
- [25]. Depkes RI. Farmakope Herbal Indonesia. Edisi I. Jakarta: *Depkes RI*; 2008.
- [26]. Rivai H, Refilia S, Agusri B. Karakterisasi Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn) Dengan Analisa Flouresensi. *Jurnal Farmasi Higea* 5 (2): Hal 15 – 23; 2013.
- [27]. Nyapka MY, Pulung MA, Amrah AG, Munawar A, Hong Gb, Hakim N. Kesuburan Tanah. *Universitas lampung. Bandar lampung*. Hal:258; 1988.