

**POTENSI HIDROGEL EKSTRAK ETANOLIK DAUN PECUT KUDA
(*Stachytarpheta Jamaicensis* [L.] Vahl) TERHADAP PROSES
PENYEMBUHAN ULKUS DIABETIKUM PADA *Rattus Novergicus* GALUR
WISTAR**

***POTENCY OF PECUT KUDA (Stachytarpheta Jamaicensis [L.] Vahl)
EXTRACT AGAINST DIABETIC ULCUS IN RAT (Rattus Novergicus)***

¹Paulina Maya Octasari*, ¹Septiana Laksmi Ramayani

¹Politeknik Katolik Mangunwijaya

Info Artikel**Sejarah Artikel:**

Submitted: 11 Mar
2020

Accepted: 19 Feb
2021

Publish Online: 19
Feb 2021

Kata Kunci:

Makrofag, leukosit,
diabetes mellitus

Keywords :

Macrophage,
leukocyte, diabetes
mellitus

Abstrak

Latar belakang: Terapi utama pada ulkus diabetikum adalah perawatan luka dan pemberian antibakteri. Senyawa fenolik dan flavonoid bersifat antibakteri yang terdapat pada tanaman. Tanaman pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* [L.] Vahl) memiliki senyawa tersebut. **Tujuan:** Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi hidrogel ekstrak daun pecut kuda (EEDPK) terhadap proses penyembuhan ulkus diabetikum pada tikus. **Metode:** Pembuatan hidrogel EEDPK menggunakan bahan HPMC, propilenglikol dan metil paraben dengan konsentrasi ekstrak sebesar 1%, 3%, dan 5%. Dilakukan penentuan kadar total fenolik dan flavonoid. Tikus diolesi povidon iodine, basis hidrogel, EEDPK 1%, 3%, dan 5% pada ulkus diabetikum pada hari ke-7 hingga ke-21. Proses penyembuhan luka dilihat dengan pemeriksaan leukosit dan makrofag pada hari ke-3, 7, 14, 21. Analisis data menggunakan *One Way Anova* dilanjutkan dengan *Post Hoc* (taraf kepercayaan 95%). **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan bahwa hidrogel EEDPK mengandung senyawa fenolik dan flavonoid. Semakin tinggi konsentrasi EEDPK memiliki kandungan senyawa yang semakin besar. Semua tikus mengalami penyembuhan luka selama 21 hari. Semua sediaan dapat menurunkan kadar leukosit dan makrofag secara signifikan terhadap kontrol negatif ($p < 0.05$). **Simpulan dan saran:** Hidrogel EEDPK dapat menurunkan kadar leukosit dan makrofag pada hari ke-21.

Abstract

Background: The main therapy in diabetic ulcers is wound care and administration of antibacterial. Phenolic and flavonoid compounds are antibacterial and found in plants. Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* [L.] Vahl) has this compound. **Objectives:** The purpose of this study was to determine the potential for hydrogel of horse pimp leaf extract (EEDPK) on the healing process of diabetic ulcers in rats. **Methods:** The EEDPK hydrogel was prepared using HPMC, propylenglycol and methyl paraben with extract concentrations of 1%, 3%, and 5%. Determination of total phenolic and flavonoid levels was carried out. The mice were smeared with povidone iodine, hydrogel base, EEDPK 1%, 3%, and 5% on diabetic ulcers on days 7 to 21. The process of wound healing was seen by examining leucocytes and macrophages on days 3, 7, 14, 21. Data analysis used *One Way Anova* followed by *Post Hoc*, with a confidence level of 95%. **Results:** The results showed that the EEDPK hydrogel contained phenolic and flavonoid compounds. The higher the EEDPK concentration, the greater the compound content. All rats experienced wound healing during 21 days. All preparations can significantly reduce levels of leukocytes and macrophages against negative control ($p < 0.05$). **Conclusions and suggestions:** EEDPK hydrogel can reduce levels of leukocytes and macrophages on day 21. Can be examined for macrophages in the wound tissue.

PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia kronik akibat gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein yang disebabkan oleh kelainan pada sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya. Klasifikasi DM ada 4 macam, yaitu DM tipe 1, DM tipe 2, DM gestasional dan DM tipe lain. Kasus DM paling banyak dijumpai adalah DM tipe 2, yaitu sekitar 90% kasus (ADA, 2018).

Pada tahun 2014, jumlah pasien DM di dunia sebanyak 244 juta (WHO, 2016). Di Indonesia, jumlah pasien DM menduduki peringkat ke-6 di dunia setelah China, India, Amerika Serikat, Brazil dan Meksiko. *International Diabetes Federation* (IDF) memprediksi kenaikan jumlah pasien DM di Indonesia tahun 2017 dari 10,3 juta menjadi sekitar 16,7 juta pada tahun 2045 (IDF, 2017). Riset Kesehatan Dasar menunjukkan bahwa prevalensi DM di Indonesia sebesar 8,5%. Jumlah ini mengalami kenaikan dari tahun 2013 yaitu 6,9%. Prevalensi DM di Provinsi Jawa Tengah pada penduduk usia ≥ 15 tahun sebesar 2,1% (Kemenkes RI, 2018).

Penyakit DM berhubungan dengan kerusakan jangka panjang, disfungsi dan kegagalan berbagai organ terutama mata, ginjal, jantung dan pembuluh darah, serta saraf¹. Komplikasi neuropati terjadi pada $\frac{1}{3}$ – $\frac{1}{2}$ populasi DM (NIDDK, 2019). Risiko komplikasi neuropati pada pasien DM akan meningkat pada pasien yang telah lama menderita DM. Lama menderita DM dengan rata-rata $8,5 \pm 7,0$ tahun sebanyak 97,5% pada pasien DM tipe 2 menimbulkan komplikasi neuropati sebesar 67,2% (Aghniya, 2017). Sebanyak 54% pasien yang dirawat di RSCM Jakarta mengalami neuropati (Kemenkes RI, 2014).

Neuropati dan iskemia tungkai merupakan patogenesis utama ulkus diabetikum. Lebih dari 60% ulkus diabetikum disebabkan oleh neuropati (Langi, 2011). Ulkus diabetikum terjadi pada 15% pasien DM. Ulkus diabetikum dapat berkembang menjadi kematian jaringan, apabila tidak ditangani dengan baik secara intensif dapat menyebabkan infeksi lebih lanjut sehingga menimbulkan gangrene (Aumiller and Dollahite, 2015).

Salah satu upaya terapi pengobatan gangren adalah perawatan luka dan pemberian antibakteri (Choices, 2015; Says, 2012). Pengembangan agen topikal melalui penelitian terutama yang berasal dari bahan alam sebagai terapi alternatif terus dilakukan. Jenis salep dan hidrogel sebagai terapi topikal terbukti mampu menyembuhkan luka pada pasien DM. Pemilihan terapi topikal bertujuan untuk menciptakan suatu kondisi lingkungan fisiologis untuk proses penyembuhan luka (Langi, 2011).

Eksplorasi obat tradisional dilakukan karena obat tradisional dapat memberikan hasil yang efektif dan ekonomis. Obat tradisional dapat ditanam sendiri maupun dapat berupa tanaman liar yang belum pernah dimanfaatkan. Salah satu jenis tanaman yang digunakan dalam perawatan luka adalah tanaman yang mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan saponin. Senyawa fenolik dan flavonoid juga dapat digunakan sebagai antibakteri karena mampu menghambat pertumbuhan berbagai bakteri baik gram positif maupun gram negatif (Soeprama, 2006). Salah satu tanaman liar yang mengandung senyawa – senyawa berkhasiat tersebut adalah tanaman pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* [L.] Vahl) (Saravanakumar, et al, 2009).

Ekstrak akar dan daun pecut kuda dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* penyebab kandidiasi vaginalis (Syahril, 2015). Ekstrak daun pecut kuda melalui metode maserasi, juga mampu memberikan hambatan pada perkembangan bakteri *Staphylococcus aureus* (Sufitri, et al, 2015). Ekstrak etanol pecut kuda juga telah terbukti memiliki efek analgesik dan antiinflamasi pada hewan uji (Sulaiman, 2007). Nilai LD₅₀ ekstrak air herba pecut kuda lebih besar dari 5.000 mg/kgbb (Sutjiatmo, et al., 2015). Gel ekstrak etanol daun pecut kuda dapat menyembuhkan luka bakar pada derajat II pada punggung kelinci (Anggriawan, et al 2018). Oleh karena itu perlu dilakukan pengujian efektivitas hidrogel ekstrak etanolik daun pecut kuda (EEDPK) terhadap proses penyembuhan ulkus diabetikum.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental. Penelitian dilakukan melalui 2 tahapan, yaitu (1) tahap pembuatan hidrogel ekstrak etanol daun pecut kuda (EEDPK); (2) pengujian kandungan dan potensi hidrogel EEDPK terhadap proses penyembuhan ulkus diabetikum tikus Wistar.

1. Tahap pembuatan hidrogel EEDPK

a. Ekstraksi daun pecut kuda

Serbuk simplisia pecut kuda di ekstraksi secara *remaserasi* selama 5x24 jam, dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Larutan di *shaker* selama 1 jam setiap pagi dan sore. Filtrate yang dihasilkan dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 70°C dengan kecepatan 100 rpm. Ekstrak yang dihasilkan dilakukan kontrol kualitas meliputi organoleptis, rendemen, susut pengeringan dan skrining fitokimia.

b. Pembuatan hidrogel EEDPK

Formula hidrogel dilakukan dengan menggunakan 3 formula yaitu membedakan konsentrasi ekstrak yang digunakan sebagai zat aktif, yaitu 1%, 3% dan 5%. Formula dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Formula Hidrogel Ekstrak Daun Pecut Kuda

Komponen (%)	Formula 1	Formula 2	Formula 3
EDPK	1	3	5
HPMC	1	1	1
Propilenglikol	9	9	9
Metil paraben	0,1	0,1	0,1
Aquadest ad	100	100	100

2. Tahap pengujian kandungan dan aktivitas hidrogel EEDPK

a. Penentuan kadar total fenolik dan flavonoid

Larutan sampel sediaan hidrogel EEDPK yang digunakan adalah 100ppm. Larutan baku asam galat (kadar total fenolik) adalah 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm sedangkan larutan baku kuersetin (kadar total flavonoid) yang digunakan adalah 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm. Uji kadar fenolik menggunakan pereaksi *Follin Ciocalteau* dan kadar total flavonoid menggunakan pereaksi $AlCl_3$. Kurva kalibrasi dibuat dengan menghubungkan antara konsentrasi larutan baku dengan absorbansi, hingga diperoleh persamaan $y = bx + a$. Kandungan kadar total fenolik dan flavonoid pada sediaan hidrogel EEDPK dinyatakan sebagai mgGAE/g.ekstrak dan mgQE/g ekstrak. Rumus penentuan kadar total fenolik dan flavonoid adalah sebagai berikut (Ahmad, A.R; Juwita; Ratulangi, S. A. D.; Malik 2015):

$$Kadar = \frac{\text{konsentrasi}}{\text{g sampel}} \times \text{volume pemipetan sampel} \times \text{fp}$$

b. Pembuatan ulkus diabetes pada tikus

Tikus Wistar diinduksi dengan aloksan monohidrat dengan dosis 120 mg/kgBB secara intraperitoneal untuk meningkatkan kadar glukosa darah. Pemeriksaan kadar glukosa dilakukan menggunakan sampel darah yang diambil dari ekor tikus dan diteteskan pada stik glukosa yang telah dipasang di glucometer. Pengukuran kadar glukosa dilakukan sebelum dan 2 x 24 jam setelah pemberian aloksan monohidrat. Ulkus diabetikum pada tikus dilakukan dengan mencukur bulu tikus sampai sekitar ± 4 cm disekitar area kulit yang akan dilukai. Area area kulit yang telah dicukur diolesi dengan alkohol 70%. Area kulit yang telah dibersihkan kemudian diberi 2 – 3 tetes HCl pekat untuk menghasilkan ulkus selama 3 hari.

c. Pengujian potensi hidrogel EEDPK

Dilakukan pengamatan dan pemeriksaan leukosit dan makrofag pada hari ke-3 (*pretest*). Ulkus diabetikum dibersihkan menggunakan NaCl 0,9%. Setelah dibersihkan,

ulkus diabetikum diolesi povidine iodine, basis hidrogel, hidrogel EEDPK 1%, 3% dan 5% pada ulkus setiap hari. Dilakukan pemeriksaan leukosit dan makrofag serta pengamatan penutupan luka sesuai dengan kelompok perlakuan masing-masing pada hari ke 7, 14, dan 21.

Analisis data dilakukan dengan membandingkan jumlah leukosit dan makrofag pada hari ke 7, 14, dan 21. Analisis data menggunakan *One Way Anova* dilanjutkan dengan Post Hoc. Potensi hidrogel EEDPK ditunjukkan dengan nilai signifikansi dengan taraf kepercayaan 95%.

HASIL PENELITIAN

Kontrol kualitas suatu simplisa dan ekstrak merupakan parameter untuk menjamin keajegan kualitas dan efikasi sediaan fitofarmasi. Simplisia akan diekstraksi dengan pelarut tertentu sehingga menjadi suatu ekstrak yang akan menjadi bahan baku sediaan fitofarmasi. Kontrol kualitas serbuk simplisa dan ekstrak daun pecut kuda dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Kontrol Kualitas Serbuk Simplisa dan EEDPK

Parameter	Serbuk Simplisia Daun EEDPK Pecut Kuda
Organoleptis	Bentuk Serbuk Ekstrak kental Bau Hijau Cokelat Warna Khas Khas Rasa pahit Pahit
Susut pengeringan (%)	7,83 1,73
Rendemen (%)	- 28,09

Ekstrak yang telah diperoleh selanjutnya dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung pada EEDPK. Skrining Fitokimia merupakan metode yang sederhana, cepat serta sangat selektif yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi golongan senyawa dan mengetahui keberadaan senyawa aktif biologis yang terdistribusi dalam tanaman (Windarini 2013). Hasil skrining fitokimia EEDPK dapat dilihat di tabel 3.

Tabel 3. Skrining Fitokimia EEDPK

Uji Senyawa	Warna larutan ekstrak awal	Pereaksi	Warna larutan ekstrak setelah direaksikan	keterangan
Polifenol	Coklat	FeCl ₃	Hitam	
Tanin	Coklat	Larutan gelatin + NaCl 10%	Endapan putih	
Flavonoid	Coklat	HCl pekat	merah	+
Alkaloid	Coklat	Mayer Dragendorf	Endapan putih Endapan orange	+
Triterpenoid	Coklat	Asam asetat anhidrat + H ₂ SO ₄ p	Larutan hijau	-
Saponin	Coklat	Asam asetat anhidrat + H ₂ SO ₄ p	Larutan hijau	+
Antrakuinon	Coklat	Amonia	Merah	+

EEDPK selanjutnya dilakukan formulasi dengan menggunakan tiga konsentrasi ekstrak yang berbeda yaitu 1%, 3% dan 5%. Perbedaan konsentrasi ekstrak pada pembuatan sediaan sediaan hidrogel EEDPK menghasilkan borganoleptis, homogenitas, dan pH yang sama namun pada uji daya sebar, daya lekat, daya proteksi dan viskositas yang berbeda-beda. Hasil pengujian karakteristik sediaan hidrogel EEDPK dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Karakteristik fisik Formula Hidrogel Ekstrak Daun Pecut Kuda

Karakteristik	Formula 1 (EEDPK 1%)	Formula 2 (EEDPK 3%)	Formula 3 (EEDPK 5%)
Organoleptis	Bentuk cairan kental Warna hijau Bau khas pecut kuda Terasa dingin saat diaplikasikan	Bentuk cairan kental Warna hijau Bau khas pecut kuda Terasa dingin saat diaplikasikan	Bentuk cairan kental Warna hijau Bau khas pecut kuda Terasa dingin saat diaplikasikan
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen
pH	6	6	6
Daya Lekat (detik)	1,12	1,15	1,4
Daya Sebar (cm)	202,01 – 188,59	114,93 – 151,66	69,36 – 124,62
Daya Proteksi (detik)	1,63	2,7	4
Viskositas (cps)	9100	9330	9740

Penetapan kadar total fenolik dan flavonoid dilakukan secara kolorimetri dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kadar total fenolik menggunakan larutan standar baku asam galat. Asam galat termasuk dalam senyawa fenolik turunan asam hidroksibenzoat yang tergolong asam fenol sederhana (Ahmad, A.R; Juwita; Ratulangi, S. A. D.; Malik 2015). Sedangkan penetapan kadar flavonoid digunakan standar baku kuersetin. Kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus keto pada atom C-4 dan juga gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 yang bertetangga (Markham 1988). Hasil penentuan kadar total fenolik dan kadar total flavonoid sediaan hidrogel EDPK dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Kadar Total Fenolik dan Kadar Total Flavonoid Hidrogel EEDPK

Konsentrasi EEDPK (%)	Kadar Total Fenolik (mg GAE/g ekstrak)	Kadar Total Flavonoid (mg QE /g ekstrak)
1	0,2058 ^a	0,3716 ^a
3	0,4952 ^b	0,5886 ^b
5	0,7602 ^c	0,7114 ^c

Subscribe yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p < 0.05$)

Untuk mengetahui pengaruh perbedaan formula pada kadar total fenolik dan kadar total flavonoid dilakukan analisis statistik. Hasil uji normalitas dan homogenitas diperoleh nilai $p > 0,05$ sehingga data yang diperoleh normal dan homogen dan selanjutnya dapat dilanjutkan dengan analisis secara *one way* ANOVA. Hasil analisis *one way* ANOVA menunjukkan baik pada kadar total fenolik maupun flavonoid menunjukkan nilai signifikansi $p < 0,05$ sehingga formula yang digunakan memberikan pengaruh signifikan terhadap kadar total fenolik dan kadar total flavonoid yang dihasilkan. Hasil tertinggi terdapat pada formula 3 dengan kadar ekstrak EEDPK 5%.

Pada tahap pengujian senyawa, dilakukan terhadap 25 ekor tikus yang telah dipuasakan sebelumnya. Seluruh tikus juga diberi aloksan monohidrat sebagai penginduksi diabetes mellitus. Seluruh tikus mengalami peningkatan glukosa darah setelah 2 x 24 jam pemberian aloksan monohidrat. Hasil peningkatan glukosa darah puasa dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus Wistar

Kelompok	Rata – rata GDP (mg/dL)	
	Sebelum	Sesudah
I	113.4 ± 6.99	140.2 ± 9.93
II	84.4 ± 7.23	139.8 ± 9.01

III	84.2 ± 6.02	141.2 ± 8.89
IV	108.2 ± 5.22	153.2 ± 7.05
V	101.4 ± 5.73	136 ± 8.97

Setelah seluruh tikus mengalami DM, maka diinduksi dengan 2 – 3 tetes HCl pekat untuk menghasilkan luka bakar. Hasil luka bakar dapat dilihat pada gambar 1.



Luka bakar akibat HCl pekat

Gambar 1. Hasil Luka Bakar Tikus Galur Wistar

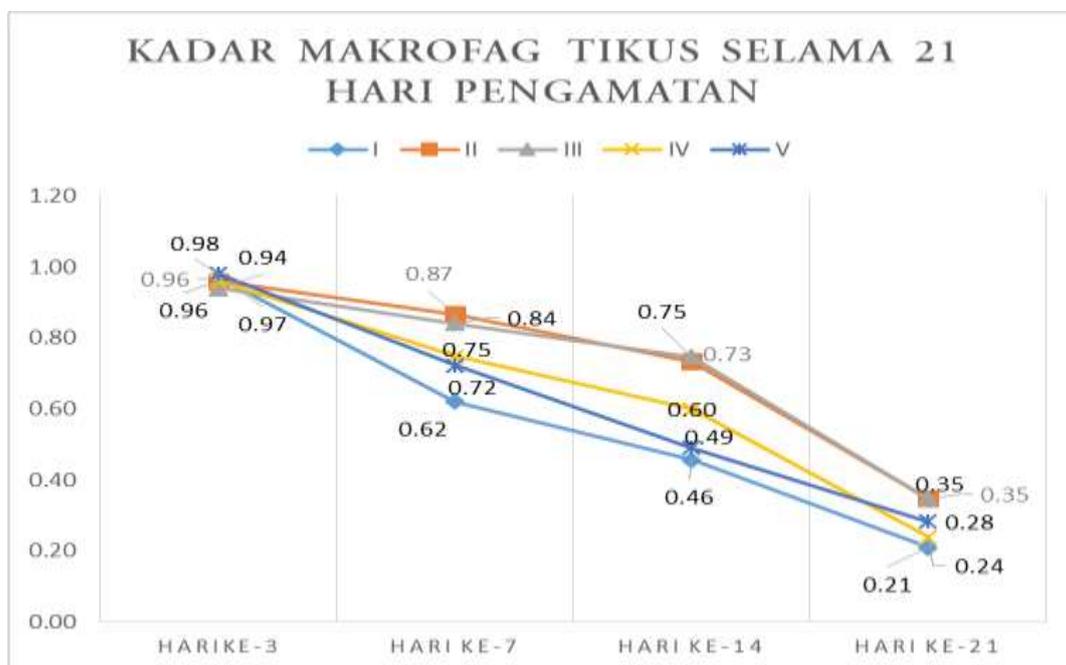
Pada hari ketiga, tujuh, empat belas dan dua puluh satu, dilakukan pengambilan darah melalui vena orbitalis menggunakan pipa kapiler sebanyak 1 ml. Sampel darah tikus ditampung dalam tabung eppendorf yang telah diberi NaEDTA. Senyawa ini diteteskan ke tabung eppendorf sebanyak 3 tetes untuk sampel darah sebanyak 1 ml. Hasil pemeriksaan kadar leukosit selama 21 hari pengamatan, dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Grafik Kadar Leukosit Tikus Selama 21 Hari Pengamatan

Pada gambar 2 menunjukkan bahwa selama 21 hari pengamatan, kadar leukosit pada hari ketiga merupakan kadar leukosit tertinggi. Kadar leukosit tikus mengalami penurunan mulai dari hari ke – 3 hingga hari ke – 21. Pada hari ke-7, kelompok I menunjukkan adanya penurunan yang paling besar, sedangkan pada hari ke-14, kelompok V yang menunjukkan penurunan yang paling besar. Pada pengamatan hari terakhir, kelompok III yang menunjukkan penurunan yang paling tajam.

Selain kadar leukosit, paramater lain yang digunakan dalam penelitian untuk mengetahui proses penyembuhan luka pada tikus pengamatan adalah menggunakan paramater makrofag. Makrofag merupakan jenis leukosit yang berada dalam jaringan. Nilai kadar makrofag dapat diinterpretasikan dengan kadar monosit dalam darah. Nilai kadar makrofag dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Grafik Kadar Makrofag Tikus Selama 21 Hari Pengamatan

Pada gambar 3 juga menunjukkan bahwa selama 21 hari pengamatan memiliki trend yang mirip dengan kadar leukosit tikus pengamatan. Hasil menunjukkan bahwa pada hari ketiga merupakan kadar makrofag tertinggi. Kadar makrofag tikus mengalami penurunan mulai dari hari ke - 3 hingga hari ke - 21. Pada hari ke-7, kelompok I (kontrol positif) menunjukkan adanya penurunan yang paling besar, sedangkan pada hari ke-14, kelompok V (EEDPK 5%) yang menunjukkan penurunan yang paling besar. Pada pengamatan hari terakhir, kelompok III (EEDPK 1%) yang menunjukkan penurunan yang paling tajam.

Besarnya penurunan paramater kadar leukosit dan makrofag setiap tahapan pengamatan dianalisis menggunakan statistik. Hasil pengolahan statistik kadar leukosit dan makrofag selama 21 hari pengamatan dapat dilihat pada tabel 7.

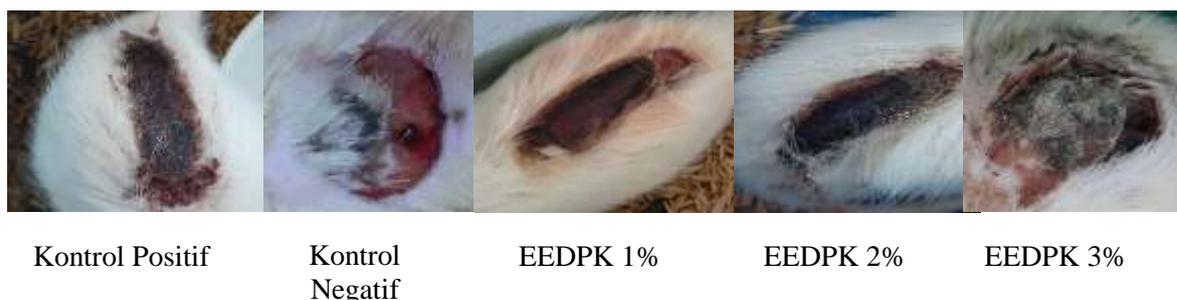
Tabel 7. Hasil Pengolahan Statistik Kadar Leukosit dan Makrofag Selama 21 Hari Pengamatan

Kelompok	Nilai signifikansi kadar Leukosit pada hari ke-				Nilai signifikansi kadar Makrofag pada hari ke-			
	3	7	14	21	3	7	14	21
I	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	1.000	0.000*	0.000*	0.000*
III	0.000*	1.000	1.000	0.000*	1.000	1.000	1.000	0.000*

IV	0.140	0.000*	0.000*	0.000*	1.000	0.000*	0.000*	0.000*
V	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.288	0.000*	0.000*	0.000*

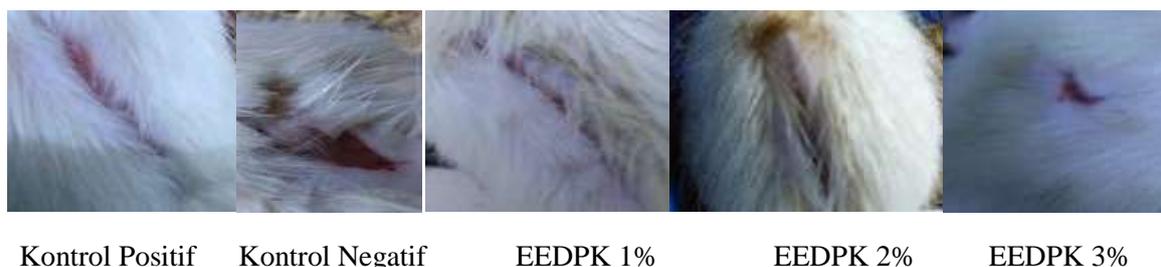
*signifikan (nilai $p < 0.05$)

Pada tabel 7 menunjukkan bahwa terdapat hasil yang signifikan untuk kadar leukosit maupun makrofag antara kelompok I, III, IV, dan V terhadap kontrol negatif pada hari ke-21. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan EEDPK kadar 1%, 3%, dan 5% dapat menyembuhkan ulkus diabetikum pada tikus. Pada kelompok I, IV, dan V telah memberikan penurunan kadar leukosit dan makrofag yang signifikan pada hari ke-7 sedangkan pada kelompok III memberikan nilai yang signifikan pada hari ke-21. Pada hari ke-21 ulkus diabetik yang terjadi di tikus Wistar mengalami penyembuhan. Perbandingan ulkus pada hari ke-3 dengan hari ke-21 dapat dilihat pada gambar 4 dan gambar 5.



Gambar 4. Gambaran ulkus diabetikum tikus Wistar pada hari ke-3

Pada gambar 4 menunjukkan bahwa semua tikus mengalami ulkus yang sama, yaitu dengan ukuran ± 4 cm. Ulkus yang terbentuk merupakan hasil dari pemberian HCl pekat sebanyak 2 – 3 tetes.



Gambar 5. Gambaran penyembuhan ulkus diabetikum tikus Wistar pada hari ke-21

Pada gambar 5 menunjukkan bahwa semua tikus mengalami proses penyembuhan luka ulkus pada hari ke-21. Jaringan kulit juga telah mengalami perbaikan sehingga daerah ulkus yang telah sembuh ditumbuhi rambut kembali. Penutupan ulkus diabetikum pada tikus paling baik adalah kelompok V (EEDPK 5%).

PEMBAHASAN

Tanaman pecut kuda yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Bandungan dan bagian yang digunakan adalah daun. Bagian daun mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang lebih tinggi dari bagian batang dan herba (E. Astuti 2016; Hermawati 2016). Simplisia pecut kuda dilakukan dengan melakukan pengeringan menggunakan oven pada suhu 50°C . pengeringan dengan oven memberikan keuntungan yaitu penggunaan suhu yang dapat diatur sesuai dengan bahan yang akan dikeringkan dan waktu pengeringan yang relative lebih cepat (BPOM RI 2013). Ekstraksi daun pecut kuda dilakukan secara maserasi. Metode maserasi merupakan metode ekstraksi dingin yang dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dengan

pelarut yang sesuai pada suhu kamar. Metode ekstraksi dingin dapat digunakan untuk menyari senyawa-senyawa yang tidak tahan pemanasan seperti senyawa fenolik dan flavonoid yang terdapat dalam daun pecut kuda. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Etanol merupakan pelarut universal yang dapat menarik senyawa polar maupun senyawa non polar, serta dapat mempercepat proses penguapan (Depkes 1986). Ekstrak daun pecut kuda yang dihasilkan berwarna coklat, bau khas, rasa pahit. Hasil rendemen dan susut pengeringan ekstrak pecut kuda adalah 28,09% dan 1,73%. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak pecut kuda positif mengandung senyawa polifenol, tanin, flavonoid, alkaloid, saponin, steroid dan antrakuinon. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi dapat menarik senyawa polar maupun non polar.

Formula hidrogel dibuat dalam 3 formula dengan membedakan konsentrasi ekstrak pecut kuda, yaitu 1%, 3% dan 5%. Perbedaan konsentrasi ekstrak yang digunakan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap uji farmakologik yang akan dilakukan. Hasil uji karakteristik menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi ekstrak menghasilkan organoleptis, homogenitas dan pH yang sama. Hasil pengujian pH menunjukkan bahwa sediaan hidrogel EEDPK aman digunakan karena masih masuk dalam rentang pH kulit normal yaitu 4,5 – 6,5. Nilai pH penting untuk mengetahui keasaman/kebasaaan sediaan sehingga tidak mengiritasi kulit saat diaplikasikan (Yunas, 2016). Peningkatan konsentrasi ekstrak menyebabkan daya lekat dan daya proteksi sediaan semakin lama dan viskositas yang semakin besar. Ekstrak diketahui memiliki daya lekat sehingga dengan semakin tinggi ekstrak yang digunakan semakin lama daya lekat sediaan dan daya proteksinya. Daya lekat merupakan kemampuan dari sediaan untuk melekat dalam jangka waktu lama saat dipakai. Semakin lama daya lekat suatu sediaan, semakin lama waktu penetrasi obat ke dalam kulit sehingga absorpsi obat menjadi optimal (Ansel, 1989). Viskositas merupakan pengukuran dari ketahanan fluida yang diubah baik dengan tekana maupun tegangan. Peningkatan konsentras ekstrak menyebabkan cairan semakin kental sehingga membutuhkan gaya yang lebih besar untuk mengalir (daya alir lambat). Peningkatan konsentrasi ekstrak menyebabkan daya sebar yang semakin kecil. Hasil ini sesuai dengan viskositas yang dihasilkan. Semakin besar konsentrasi ekstrak, konsistensi sediaan semakin kental, viskositas semakin besar dan daya sebar semakin kecil.

Penentuan kadar total fenolik dilakukan dengan menggunakan pereaksi *Follin Ciocalteau*. Senyawa fenol akan bereaksi dengan pereaksi *Follin Ciocalteau* menghasilkan warna kuning dan selanjutnya ditambahkan dengan larutan Na_2CO_3 sehingga menghasilkan warna biru. Senyawa fenolik bereaksi dengan pereaksi *Follin Ciocalteau* hanya dalam suasana basa sehingga terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat sehingga dilakukan penambahan larutan Na_2CO_3 . penentuan kadar total fenolik dilakukan dengan penambahan AlCl_3 sehingga membentuk kompleks dan terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah *visible* yang ditandai dengan terbentuknya warna kining intensif (Ahmad, A.R.; Juwita; Ratulangi, S. A. D.; Malik 2015).

Perbedaan konsentrasi ekstrak dalam pembuatan sediaan hidrogel EEDPK menunjukkan perbedaan signifikan terhadap kadar total fenolik dan kadar total flavonoid EEDPK. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang ditambahkan dalam sediaan maka semakin tinggi pula kadar senyawa yang dihasilkan (Astryani 2019). Kadar total fenolik dan kadar total flavonoid tertinggi ditunjukkan pada formula 3 yaitu formula yang menggunakan konsentrasi EEDPK paling tinggi yaitu 5%. Peningkatan kadar total fenolik dan kadar total flavonoid berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan dari suatu ekstrak ($p,0.05$) (Werdiningsih dan Zahro, 2020)

Pada pengujian potensi hidrogel EEDPK dilakukan dengan pembuatan ulkus diabetikum menggunakan senyawa HCl pekat. Senyawa HCl pekat dapat memberikan dampak luka bakar. Senyawa HCl bersifat korosif, mengiritasi dan tidak bersifat mudah terbakar. Luka terbuka yang dihasilkan dapat meningkatkan kadar leukosit dan makrofag dari tikus. Leukosit berhubungan erat dengan sistem pertahanan tubuh. Monosit, eosinofil, dan basofil dalam kondisi normal jumlahnya sangat sedikit, akan meningkat oleh kondisi patologis (Fitria and Sarto 2014). Ulkus dapat menurunkan aktivitas dan berat badan hewan uji sehingga perlu adanya penanganan yang tepat (Wahyuni dan Saban, 2018)

Sediaan EEDPK mengandung senyawa fenolik dan flavonoid. Flavonoid merupakan bahan aktif yang mempunyai efek anti inflamasi dan anti bakteri. Flavonoid memiliki cincin bensopiron sehingga dapat menghambat jalur siklooksigenase (COX) dan lipooksigenase (LOX) dari metabolisme asam arakidonat. Proses ini menyebabkan penghambatan sintesis mediator peradangan seperti prostaglandin dan tromboksan sehingga dapat menurunkan inflamasi. Konsentrasi rendah dari senyawa flavonoid yang dimiliki oleh EEDPK 1%, dapat menghambat jalur LOX tanpa menghambat jalur COX. (Wijonarko 2016). Hal ini berdampak pada lama waktu penyembuhan luka pada kelompok tersebut.

Flavonoid mempunyai kemampuan untuk menghambat pelepasan asam arakhidonat dan sekresi enzim lisosim dari sel neutrofil dan sel endotelial dan menghambat fase proliferasi dan fase eksudasi dari proses inflamasi (Sundaryono 2011). Flavonoid juga menghambat leukotrin dan hidroksi asam lemak sehingga menghambat produksi mediator LTB4. Senyawa ini berperan sebagai kemotaktik leukosit, polimorfonuklear, eosinophil, dan monosit sehingga jumlahnya berkurang (Miladiyah and Prabowo 2012).

Penurunan migrasi monosit yang diakibatkan oleh diblokirnya jalur lipooksigenase mengakibatkan penurunan jumlah makrofag. Efek tersebut mempengaruhi lama waktu peradangan, sehingga akan diikuti dengan kecepatan proses penyembuhan dan pemulihan yang ditandai dengan menurunnya jumlah makrofag (Wijonarko 2016).

Penggunaan hidrogel EEDPK secara topikal memberikan kelembaban pada luka sehingga mendorong luka untuk mempercepat proses granulasi dan kandungan dari flavonoid sendiri yang berfungsi antioksidan dan antimikroba, sehingga membantu meningkatkan sistem imun serta mencegah berkembangnya mikroba. Hal ini sesuai fungsi makrofag adalah membersihkan luka dari bakteri, sel-sel mati dan debris dengan cara fagositosis. kandungan dari flavonoid dan fenolik dari pecut kuda dapat menghambat perusakan jaringan dan sebagai antimikroba (S. M. Astuti et al. 2011)

SIMPULAN

Hidrogel EEDPK mengandung senyawa fenolik dan flavonoid. Semua sediaan EEDPK (konsentrasi 1%, 3%, dan 5%) dapat menurunkan kadar leukosit dan makrofag dalam range normal pada hari ke-21.

SARAN

Dapat dilakukan pemeriksaan makrofag di jaringan sehingga Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut khususnya Dapat dilanjutkan penelitian dengan mengukur Saran yang diberikan disesuaikan dengan hasil penelitian dan berupa rekomendasi penelitian selanjutnya.

REFERENSI

- ADA. 2018. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 35: S64–S71
- Aghniya, R., 2017. Hubungan Lamanya Menderita Diabetes Melitus Dengan Terjadinya *Diabetic Peripheral Neuropathy* (DPN) Pada Pasien Diabetes Mellitus tipe 2 Di Graha Diabetika Surakarta. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Surakarta: Surakarta
- Ahmad, A.R; Juwita; Ratulangi, S. A. D.; Malik, Abdul. 2015. “Penetapan Kadar Fenolik Dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah Dan Daun Patikala (*Etilingea Elatior* (Jack) R.M.M).” *Pharmaceutical Sciences and Research* 2(1).
- Anggriawan, M., Yuliet, dan Khaerati, K., 2018. Pengaruh Pemberian Topikal Ekstrak Etanol Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Derajat II Pada Punggung Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Biocelebes*, Vol 12 No 2, 44-51
- Astryani, Regina. 2019. “Formulasi Dan Uji Antioksidan Dengan Metode DPPH Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta (*Coffea Canephora*) Berbasis HPMC 60SH.”

- Universitas Sriwijaya.
- Astuti, E. 2016. "Kadar Total Flavonoid Pada Berbagai Organ Tanaman Pecut Kuda (*Stachytarpheta Jamaicensis* (L)." Akademi Farmasi Theresiana.
- Astuti, Sri Murni, Mimi Sakinah A.M, Retno Andayani B.M, and Awalludin Risch. 2011. "Determination of Saponin Compound from *Anredera Cordifolia* (Ten) Steenis Plant (Binahong) to Potential Treatment for Several Diseases." *Journal of Agricultural Science* 3(4): 224–32.
- Aumiller, W.D. and Dollahite, H.A., 2015. Pathogenesis and management of diabetic foot ulcers, *American Academy of Physician Assistants*, Volume 28 No 5.
- B POM RI. 2013. *Pedoman Cara Pembuatan Simplisa Yang Baik*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Choices, N.H.S., 2015. 'Gangrene - Causes - NHS Choices'. URL: <http://www.nhs.uk/conditions/Gangrene/Pages/Causes.aspx>. (diakses tanggal 09/08/2019).
- Depkes. 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Dipiro, J.T., Wells B.G., Schwinghammer, T.L., Dipiro C.V., 2009. *Pharmacotherapy Handbook*. 7ed. McGraw-Hill Companies. United States
- Fitria, L, and M Sarto. 2014. "Galur Wistar Jantan Dan Betina Umur 4 , 6 , Dan 8 Minggu." *jurnal ilmiah Biologi* 2(2): 94–100.
- Hermawati, H. 2016. "Pengaruh Perbedaan Organ Tanaman Pecut Kuda (*Stachytarpheta Jamaicensis* (L) Terhadap Kadar Total Fenol." Akademi Farmasi Theresiana, Semarang.
- International Diabetes Federation (IDF), 2017. *IDF Diabetes Atlas*. 8th Edition. IDF: Belgium
- Kementerian Kesehatan, 2018. *Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI: Jakarta.
- Kemenkes RI, 2014. *Pusat data dan informasi, Situasi dan analisis diabetes mellitus*, Jakarta
- Langi, Y.A (2011), Penatalaksanaan Ulkus Kaki Diabetes Secara Terpadu, *Jurnal Biomedik*, Volume 3, Nomor 2. 95-101
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Penerbit ITB, Bandung.
- Miladiyah, Isnatin, and Bayu Rizky Prabowo. 2012. "Ethanol Extract of *Anredera Cordifolia* (Ten.) Steenis Leaves Improved Wound Healing in Guinea Pigs." *Universa Medicina* 31(1): 4–11.
- NIDDK, 2019. What is diabetic neuropathy, <https://www.niddk.nih.gov/health-information/diabetes/overview/preventing-problems/nerve-damage-diabetic-neuropathies/what-is-diabetic-neuropathy>, diakses tanggal 8 Agustus 2019
- Saravanakumar, A., Venkateshwaran, K., Vanitha, J., Ganesh, M., Vasudevan, M., dan Sivakumar, T., 2009. Evaluation of antibacterial activity, phenol and flavonoid contents of *Thespesia populnea* flower extracts. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22: 282–286
- Says, A.D., 2012. 'Diagnosis and treatment of gangrene' *News-Medical.net*. URL: <http://www.news-medical.net/health/Diagnosis-and-treatment-of-gangrene.aspx>. (diakses tanggal 09/08/2019).
- Sundaryono, Agus. 2011. "Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid Total Dari *Gynura Segetum* (Lour) Terhadap Peningkatan Eritrosit Dan Penurunan Leukosit Padamencit (*Mus Musculus*)." *Jurnal Exacta* IX(2): 8–16.
- Soeprema, S. 2006. *Compton Natural Products for treatment of Diabetes*. *PATENSCOPE*, 36:185
- Syahril, A., 2015. 'Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Ekstrak Metanol Daun Pecut Kuda', *Skripsi*, Universitas Negeri Gorontalo, Gorontalo.
- Sufitri RA., Nurdiana, Krismayanti, L., 2015, Uji Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L) sebagai penghambat bakteri *Staphylococcus aureus*, *BIOTA: Jurnal Tadris IPA Biologi*, Vol VII NO 2 Juli – Des 2015
- Sulaiman, M R, et al., 2007. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl (Verbeceae) in Experimental Animal Models. *Medical Principle and Practise*, Vol. 19, hal. 272-279

-
- Sutjiatmo, A.B., Sukandar, E.Y, Candra, Vikasari, S.N., 2015. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Air Herba Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* (L) VAHL) Pada Mencit Swiss Webster. *Kartika-Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(2), 32-37 32
- Wahyuni, I.N dan Sabban, I.F. 2018. Gambaran Berat Badan Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Akibat Ulkus Traumatik Dengan Paparan Ekstrak Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*). *Jurnal Wiyata*, Vol. 5 No. 2. 61 - 68
- Werdiningsih, W dan Zahro, A. 2020. Penetapan Kadar Flavonoid Dan Fenoldari Daun Srikaya (*Annona squamosal* L) Serta Aktivitas Sebagai Antioksidan. *Jurnal Wiyata*, Vol. 7 No. 2. 157 - 170.
- Wijonarko, Bangun. 2016. "Efektivitas Topikal Salep Ekstrak Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) Terhadap Proses Penyembuhan Luka Ulkus Diabetik Pada Tikus Wistar (*Rattus Novergicus*)." *Jurnal Ilmiah Kesehatan (JIK) IX(2)*.
- Windarini, L.G.E ; Astuti K.W ; Warditiani N.K. 2013. "Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L.)" *Jurnal Farmasi Udayana* 2(4).
- World Health Organization (WHO). 2016. Global Report On Diabetes. WHO: France