

ORIGINAL ARTICLE

Studi In Vivo Pengaruh Gel Ekstrak Etanol Daun Carica (*Carica pubescens*) Terhadap Re-Epitelisasi Dan Ukuran Luka Pada Proses Penyembuhan Luka Insisi Gingiva

Yuliyi Zalma Noor Azizah¹, Helmi Hirawan¹, Fadli Ashar¹, Ali Taqwim¹

*I*Jurusan Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Indonesia
e-mail korespondensi: ali.taqwim@unsoed.ac.id

ABSTRAK

Latar belakang: Luka insisi merupakan luka akibat benda tajam ditandai dengan terputusnya pembuluh darah kapiler pada jaringan. Proses penyembuhan luka terdiri dari fase inflamasi, proliferasi, dan remodeling. Fase proliferasi meliputi terjadinya re-epitelisasi sebagai respon akibat adanya kerusakan jaringan. Re-epitelisasi akan membangun kembali jaringan yang rusak menyebabkan terjadinya penurunan ukuran luka hingga luka tertutup sempurna. Ekstrak etanol daun carica (*Carica pubescens*) diketahui mengandung zat aktif yang dapat mempengaruhi proses penyembuhan luka. Tujuan dari penelitian ini mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun carica terhadap re-epitelisasi dan penurunan ukuran luka pada proses penyembuhan luka insisi gingiva. **Metode:** Penelitian ini terbagi menjadi 5 kelompok perlakuan, yaitu P1 (gel ekstrak etanol daun carica 3%), P2 (gel ekstrak etanol daun carica 6%), P3 (gel ekstrak etanol daun carica 12%), KP (*Aloclair® Plus Gel*), dan KN (gel tanpa ekstrak). Perlakuan dilakukan selama 14 hari. Re-epitelisasi diamati melalui preparat HPA, sedangkan ukuran luka diukur menggunakan jangka sorong. Data dianalisis menggunakan uji ANOVA dengan *Post-Hoc* LSD. **Hasil:** Analisis statistik menunjukkan hasil terdapat perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$) antara seluruh kelompok dengan kontrol negatif gel tanpa ekstrak. Gel ekstrak konsentrasi 6% tidak menunjukkan perbedaan signifikan dengan kontrol positif *Aloclair® Plus Gel*. **Simpulan:** Simpulan penelitian ini adalah terdapat pengaruh ekstrak etanol daun carica terhadap re-epitelisasi dan penurunan ukuran luka.

Kata kunci: *Carica pubescens*, Luka insisi, Penyembuhan luka, Re-epitelisasi, Ukuran luka

In Vivo Study Of Carica Leaf Ethanol Extract Gel (*Carica pubescens*) Effect On Re-Epithelialization And Wound Size In Gingival Incision Wound Healing Process

Yuliyi Zalma Noor Azizah¹, Helmi Hirawan¹, Fadli Ashar¹, Ali Taqwim¹

*I*School of Dentistry, Medical Faculty, Jenderal Soedirman University, Purwokerto, Indonesia
Correspondence e-mail to: ali.taqwim@unsoed.ac.id

ABSTRACT

Background: Incision wounds result from sharp objects, causing capillary blood vessel rupture in tissues. The healing process involves inflammation, proliferation, and remodeling phases. The proliferation phase includes re-epithelialization, which rebuilds damaged tissue, reducing wound size until complete closure. *Carica pubescens* leaf ethanol extract contains active compounds that may influence wound healing. This study aimed to evaluate the effect of carica leaf ethanol extract on re-epithelialization and wound size reduction in gingival incision healing. **Methods:** Five treatment groups were studied: P1 (3% extract gel), P2 (6% extract gel), P3 (12% extract gel), KP (*Aloclair® Plus Gel*), and KN (gel without extract). Treatments lasted 14 days. Re-epithelialization was assessed through histopathological preparations, and wound size was measured using calipers. ANOVA and *Post-Hoc* LSD. **Results:** analysis showed significant differences ($p \leq 0.05$) between all treatment groups and the negative control. The 6% extract gel showed no significant difference from *Aloclair® Plus Gel*. **Conclusion:** In conclusion, carica leaf ethanol extract positively influences re-epithelialization and wound size reduction in gingival incision wound healing.

Keyword: *Carica pubescens*, Incision wound, Re-epithelialization, Wound healing, Wound size

PENDAHULUAN

Luka adalah kondisi terputusnya kontinuitas normal suatu struktur jaringan yang dapat disebabkan oleh berbagai faktor, salah satunya faktor mekanik. Luka akibat faktor mekanik terbagi menjadi luka abrasi, laserasi, memar, dan luka insisi [1,2]. Laporan nasional riset kesehatan dasar (Riskesmas) tahun 2018 menyatakan bahwa prevalensi luka insisi di Indonesia mencapai 20,1% terbanyak ketiga setelah luka memar dan terkilir. Luka insisi adalah luka yang disebabkan oleh benda tajam dan ditandai dengan terputusnya pembuluh darah kapiler pada jaringan [3].

Penyembuhan luka merupakan proses kompleks sebagai respons seluler dan biokimia untuk memulihkan integritas dan kapasitas fungsional jaringan pasca cedera. Proses penyembuhan luka terdiri dari tiga fase utama, yaitu fase inflamasi, proliferasi, dan *remodelling*. Fase inflamasi dimulai sesaat setelah cedera dan berlangsung selama tiga sampai lima hari pasca cedera. Fase proliferasi berlangsung sejak hari ketiga hingga minggu ketiga pasca cedera. Fase proliferasi mencakup adanya angiogenesis, pembentukan jaringan granulasi, sintesis kolagen, dan re-epitelisasi. Fase *remodelling* berlangsung mulai minggu ketiga hingga satu tahun pasca cedera [4,5].

Regenerasi jaringan epitel (re-epitelisasi) pada fase proliferasi menjadi salah satu ciri penting keberhasilan proses penyembuhan luka. Proses re-epitelisasi berlangsung pada hari ke-3 pasca cedera, diawali dengan adanya migrasi dan proliferasi sel epitel bersamaan dengan fibroblas dari tepi luka ke area luka. Sel epitel yang bertemu di area luka menimbulkan adanya kontak inhibisi dan membentuk lapisan epitel tipis yang kontinyu hingga terbentuk kembali lapisan epitel normal. Fibroblas dalam waktu yang bersamaan mulai mensintesis kolagen dan berdiferensiasi menjadi myofibroblas yang berperan sebagai mediator penghubung kedua tepi luka sehingga terjadi penurunan ukuran luka. Penyembuhan luka dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor penting, yaitu jenis, volume, dan lokasi cedera serta dapat terganggu oleh berbagai kondisi, terutama infeksi [2,4].

Pengobatan luka diperlukan guna mengoptimalkan reaksi penyembuhan luka. Medikasi yang sering digunakan dalam bidang kedokteran gigi salah satunya adalah *Aloclair® Plus Gel*. Kandungan bahan alam ekstrak lidah buaya dalam *Aloclair® Plus Gel* bertindak sebagai anti inflamasi serta mencegah infeksi pada proses penyembuhan luka [6]. Penggunaan bahan alam dipercaya memiliki efek samping minimal dan biaya yang lebih terjangkau sehingga potensi tanaman sebagai pengobatan tradisional terus dikembangkan. Penelitian sebelumnya telah banyak melaporkan bahwa beberapa bahan alam terbukti secara empiris dapat digunakan untuk mengobati luka [7].

Tanaman yang dapat digunakan sebagai bahan alternatif penyembuhan luka salah satunya adalah tanaman carica (*Carica pubescens*). *Carica pubescens* merupakan jenis tanaman buah-buahan yang banyak dibudidayakan dan beradaptasi di dataran tinggi, seperti dataran tinggi Cagar, Bromo, dan Dieng, Jawa Tengah [8]. Bagian daun dari tanaman carica memiliki sejumlah kandungan senyawa, yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, dan tanin yang memiliki peran dalam proses penyembuhan luka [9].

Penelitian lain sebelumnya menggunakan ekstrak etanol (96%) daun carica konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50% menunjukkan kandungan senyawa flavonoid khususnya kaempferol pada ekstrak daun *Carica pubescens* dapat bertindak sebagai mediator peningkatan kadar IL-10 yang merupakan senyawa antiinflamasi sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan luka insisi gingiva [10]. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *Carica pubescens* dengan konsentrasi 12,5% dinilai menunjukkan hasil paling efektif dalam meningkatkan kadar IL-10 dalam fase inflamasi penyembuhan luka dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak 25% dan 50%.

Penelitian lebih lanjut terkait khasiat ekstrak daun carica terhadap re-epitelisasi dan penurunan ukuran luka pada proses penyembuhan luka insisi gingiva sampai saat ini belum pernah dilakukan, sehingga peneliti tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut terkait potensi gel ekstrak daun carica (*Carica pubescens*) terhadap penyembuhan luka insisi gingiva dengan konsentrasi yang lebih rendah dari konsentrasi efektif (12,5%) pada penelitian sebelumnya menjadi konsentrasi 3%, 6%, dan 12%.

METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *true experimental* laboratoris secara *in vivo* dengan rancangan penelitian berupa *posttest-only with control group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Lingkungan Fakultas Biologi, Laboratorium Biologi Farmasi dan Farmasetika Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan, Laboratorium Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran, Laboratorium Biomedis, Jurusan Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan (FK-KMK) Universitas Gadjah Mada. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus galur Wistar sebanyak 60 tikus, yang dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan ekstrak etanol daun carica konsentrasi 3%, 6%, dan 12% serta 2 kelompok kontrol yang terdiri dari kelompok kontrol positif berupa *Aloclair® Plus Gel* dan kelompok kontrol negatif berupa gel tanpa kandungan ekstrak dengan pengulangan sebanyak 3 kali pada masing-masing kelompok. Penelitian ini dilakukan setelah mendapatkan keterangan lolos persetujuan etik (*ethical approval*) dari Komite Etik Kedokteran FK Unsoed dengan nomor 015/KEPK/PE/2024.

Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus galur Wistar jantan dengan bobot 150 - 200 gram berumur 2-3 bulan dalam keadaan sehat. Tikus galur Wistar diadaptasikan selama tujuh hari. Tikus diberikan pakan tikus AD II standar laboratorium pada waktu pagi, siang dan malam hari dan minum akuades secara *ad libitum*.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Carica

Daun *Carica pubescens* dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50° C hingga menghasilkan daun kering. Daun kering dipisahkan dari tulang daun lalu dihaluskan dengan *blender* dan diayak menggunakan mesh no. 40 hingga didapatkan serbuk simplisia yang halus. Serbuk simplisia daun carica dimaserasi menggunakan pelarut alkohol 96% selama 1×24 jam dengan diiringi pengadukan sesekali. Tahap berikutnya dilakukan penyaringan hingga didapatkan filtrat dan ampas. Maserasi dilakukan kembali (remaserasi) selama 2×24 jam. Penyaringan dilakukan hingga didapatkan filtrat hasil saringan mendekati jernih. Hasil filtrat dicampurkan, kemudian dikentalkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 70° C untuk memisahkan pelarut dari filtrat serta didapatkan ekstrak *Carica pubescens* yang kental [11]. Ekstrak etanol daun carica kemudian dilakukan skrining fitokimia meliputi uji flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid, dan alkaloid.

Pembuatan Gel Ekstrak Etanol Daun Carica

Sediaan gel ekstrak etanol daun carica dibuat dengan tiga variasi konsentrasi, yaitu 3%, 6%, dan 12%. Pembuatan gel diawali dengan membuat basis gel menggunakan 5g serbuk CMC-Na yang ditambahkan akuades dan didiamkan selama 24 jam kemudian diaduk hingga homogen. Basis gel yang sudah terbentuk kemudian ditambahkan dengan campuran 10g gliserin, 0,18g metil paraben, 0,02g propil paraben dan 100mL akuades. Campuran tersebut diaduk hingga homogen, setelah homogen kemudian ditambahkan ekstrak etanol daun carica sesuai dengan variasi konsentrasi dan diaduk kembali hingga terbentuk massa gel [12]. Gel yang telah dibuat kemudian dilakukan evaluasi fisik sediaan gel yang meliputi uji organoleptik, homogenitas, pH, daya sebar, daya lekat, dan viskositas.

Pembuatan Luka Insisi Gingiva

Pembuatan luka insisi diawali tindakan aseptis menggunakan alkohol 70% dan anastesi menggunakan *ketamine* dengan dosis 10 mg/kgBB secara intramuskular. Insisi dibuat menggunakan *scalpel* dan *blade* no.11 pada gingiva labial di bawah pertengahan gigi insisivus sentralis mandibula sepanjang ±5 mm secara vertikal ke arah apikal dengan kedalaman ±2 mm [13].

Perlakuan Hewan Coba

Penelitian terbagi menjadi 5 kelompok perlakuan, yaitu kelompok gel ekstrak etanol daun carica 3%, 6%, 12%, kontrol positif, dan kontrol negatif. Masing-masing kelompok diberikan perlakuan sebanyak 0,2mL menggunakan *syringe* pada pagi dan sore hari selama 14 hari.

Pengukuran Ukuran Luka

Pengamatan penurunan ukuran luka dilakukan dengan cara mengukur panjang luka dengan acuan titik terjauh dari setiap sisi perlukaan menggunakan jangka sorong (*sliding caliper*) skala nonius 0,05 mm setiap hari selama 14 hari.

Pengambilan Sampel Jaringan

Tikus diterminasi pada hari ke-4, 8, dan 15 dengan metode dislokasi servikal (*cervical dislocation*). Pengambilan sampel jaringan dilakukan pada hari ke-4, 8, dan 15 melalui pembedahan seluruh tulang mandibula dan jaringan yang melekat pada tulang mandibula. Sampel jaringan selanjutnya dicuci menggunakan larutan NaCl fisiologis 0,9% untuk membersihkan jaringan dari sisa darah. Jaringan difiksasi dengan larutan *formalin buffer* 10% yang dimasukkan ke dalam pot untuk selanjutnya dibuat preparat histologi [14][15]. Pembuatan preparat dilakukan menggunakan potongan jaringan yang meliputi area luka insisi dan sedikit jaringan normal di sekitarnya.

Pembuatan Preparat dan Pewarnaan Histologi Jaringan Luka Gingiva

Tahap awal pembuatan preparat adalah dehidrasi bertingkat dengan alkohol 70%, 80%, dan 90% selama satu jam dilanjutkan dengan alkohol absolut dengan tiga kali pergantian masing-masing satu jam untuk menghilangkan residu bahan fiksasi [16]. Tahap selanjutnya adalah penjernihan (*clearing*) menggunakan *xylol* I dan *xylol* II masing-masing selama satu menit [17]. Proses selanjutnya ialah pencetakan dengan menuangkan parafin cair ke cetakan blok parafin kemudian sampel jaringan dimasukkan dengan pinset dan parafin cair dituang kembali sehingga tercetak pada blok-blok parafin. Hasil cetakan disimpan ke dalam lemari es atau *freezer* [16]. Blok-blok parafin dipotong setebal 5 mikron menggunakan mikrotom. Lembaran tersebut diapungkan di atas permukaan air hangat ±50° C pada *waterbath* agar jaringan tidak berlipat

dan diambil menggunakan *object glass* [17]. Preparat yang telah menempel pada *object glass* kemudian diberi pewarnaan jaringan menggunakan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE).

Pewarnaan preparat diawali dengan memasukkan preparat ke dalam larutan *xylol* I dan II masing-masing selama 5 menit untuk melarutkan parafin pada preparat (deparafinasi). Tahap selanjutnya dilakukan perendaman dengan alkohol gradasi menurun (alkohol absolut, 90%, 80%, 70%) selama tiga menit pada masing-masing alkohol [17]. Selanjutnya preparat dicuci dengan air mengalir selama satu menit, kemudian diberikan pewarnaan hematoksin selama 6-7 menit dan dibilas kembali dengan air mengalir. Proses selanjutnya dilakukan pewarnaan eosin selama 30 detik, kemudian preparat dicelupkan dalam larutan alkohol gradasi bertingkat (70%, 80%, 90%, alkohol absolut) sebanyak tiga kali pencelupan. Proses pewarnaan diakhiri dengan perendaman kembali dengan *xylol* I dan *xylol* II selama dua menit pada masing-masing larutan dan dilakukan *mounting* dengan pemberian tetesan Entelan kemudian penempelan kaca penutup (*cover glass*) dan preparat diberi label [19].

Pengamatan Re-epitelisasi

Re-epitelisasi diamati melalui ketebalan epitel pada sediaan jaringan histologis dari masing-masing hewan coba yang dieutanasi pada hari ke-4, 8, dan 15. Pengamatan dilakukan pada sediaan preparat histologis dengan pewarnaan HE menggunakan mikroskop cahaya dan *software Optilab Viewer 2.1* dengan pembesaran 400x pada 3 lapang pandang oleh 2 orang pengamat. Ketebalan epitel diukur secara tegak lurus mulai dari stratum basalis hingga stratum korneum menggunakan *software Image Raster* yang telah terkalibrasi dengan satuan mikrometer (μm). Setiap lapang pandang diamati ketebalan epitel pada area dengan epitel paling tebal dan paling tipis dari setiap lapang pandang untuk dilakukan pengukuran. Hasil pengukuran dari kedua area tersebut kemudian diambil nilai rata-rata [20].

Data analysis

Data dari hasil skrining fitokimia ekstrak daun carica dan evaluasi fisik sediaan gel ekstrak daun carica dianalisis secara kualitatif. Data hasil pengukuran ketebalan epitel dan penurunan ukuran luka masing-masing dilakukan analisis kuantitatif menggunakan SPSS (*Statistical Package Social Science*) versi 26. Analisis data diawali dengan uji normalitas *Sapiro-Wilk* (sampel ≤ 50) dan uji homogenitas *Levene's test*. Data yang telah diuji tersebut diketahui terdistribusi normal dan homogen sehingga selanjutnya dapat dilakukan uji parametrik berupa uji *Two-way ANOVA* dengan signifikansi $p \leq 0,05$ pada variabel re-epitelisasi untuk mengetahui perbedaan pengaruh bahan uji dan waktu pemberian terhadap ketebalan epitel pada tiap kelompok dan uji *One-way ANOVA* $p \leq 0,05$ pada variabel penurunan ukuran luka untuk mengetahui perbedaan pengaruh pemberian perlakuan pada tiap kelompok. Analisis data dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc* LSD dengan tingkat kepercayaan 95% untuk melihat perbedaan pengaruh pemberian perlakuan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

HASIL

Skrining fitokimia ekstrak etanol daun carica dilakukan secara kualitatif dengan mengamati perubahan warna maupun reaksi yang timbul akibat penambahan pereaksi uji. Uji fitokimia pada penelitian ini meliputi uji flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid, dan alkaloid. Hasil skrining fitokimia dalam ekstrak etanol daun carica dan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Senyawa Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Carica

No	Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil
1	Flavonoid	HCL pekat + serbuk Mg	(+) Terbentuk warna kuning hingga jingga
2	Saponin	HCL 2N	(+) Terbentuk buih $\pm 1,5$ cm dan bertahan selama ± 5 menit
3	Tanin	F ₆ CL ₃	(+) Terbentuk warna hijau kehitaman
4	Triterpenoid	Asam anhidrida + H ₂ SO ₄	(+) Terbentuk cincin kecoklatan
5	Alkaloid	<i>Mayer Dragendorf Wagner</i>	(-) Tidak terbentuk endapan

Keterangan; (+) hasil positif; (-) hasil negatif

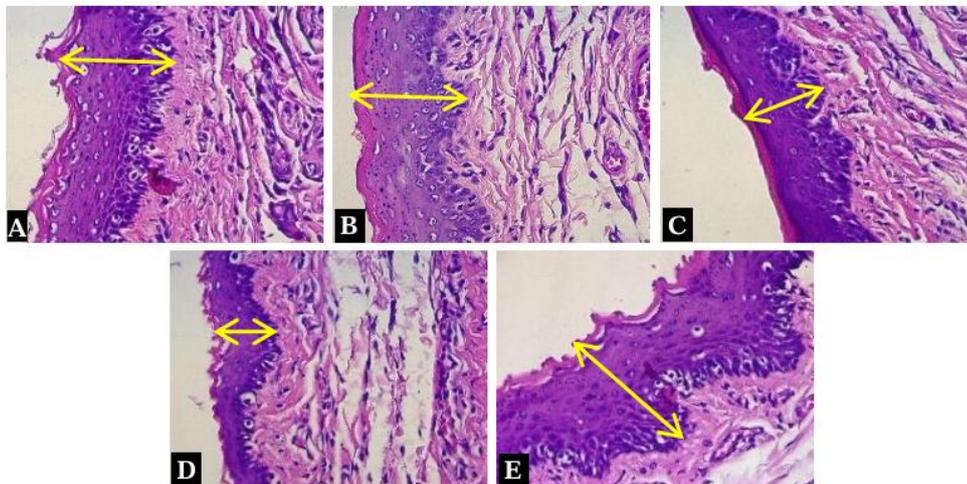
Ekstrak etanol daun carica dibuat sediaan gel dengan tiga variasi konsentrasi yaitu 3%, 6%, dan 12%. Gel ekstrak etanol daun carica dilakukan evaluasi fisik sediaan meliputi uji organoleptik, homogenitas, pH, daya sebar, daya lekat, dan viskositas. Hasil uji stabilitas fisik sediaan gel ekstrak etanol daun carica dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Evaluasi Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Carica

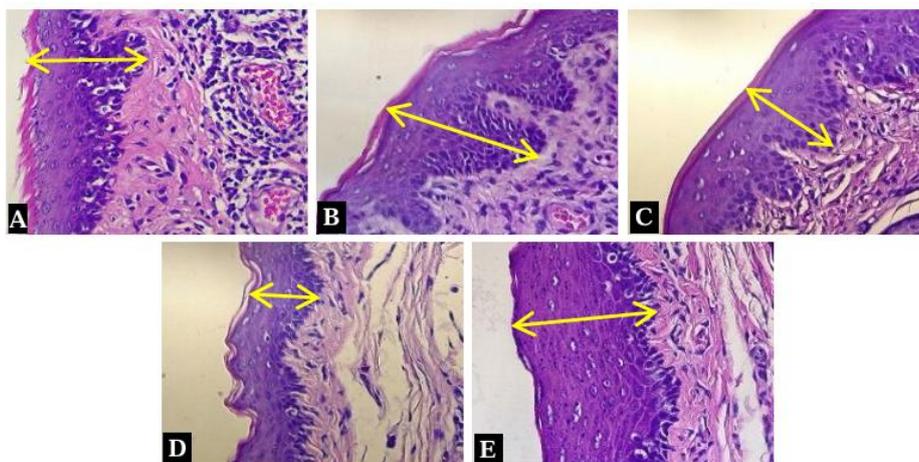
No.	Evaluasi Fisik Gel	Formulasi		
		F1	F2	F3
1.	Organoleptik			
	- Konsistensi	Kental	Kental	Kental
	- Warna	Hijau	Hijau kehitaman	Hitam pekat
	- Bau	Khas daun carica	Khas daun carica	Khas daun carica
2.	Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen
3.	Nilai pH	7,07	6,82	6,59
4.	Daya sebar (cm)	3,1	3,2	3,5
5.	Daya lekat (detik)	5,38	5,15	5
6.	Viskositas (cps)	2109	2103	2101

Keterangan : F1: Formulasi gel ekstrak daun carica 3%; F2: Formulasi gel ekstrak daun carica 6%; F3: Formulasi gel ekstrak daun carica 12%

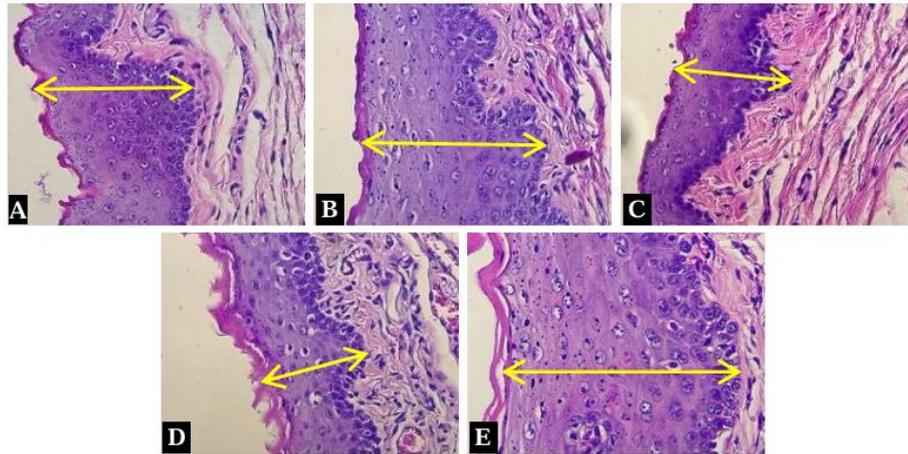
Pengamatan re-epitelisasi dilakukan dengan cara mengukur ketebalan epitel pada preparat histologi masing-masing hari pengamatan (hari ke-3, 7 dan 14) menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x dan optilab.



Gambar 1. Gambaran Histologi Fibroblas Jaringan Gingiva Tikus Hari Ke-3. (A) Kelompok P1 (B) Kelompok P2 (C) Kelompok P3 (D) Kelompok KN (E) Kelompok KP. Ketebalan Epitel Ditandai dengan Panah Kuning

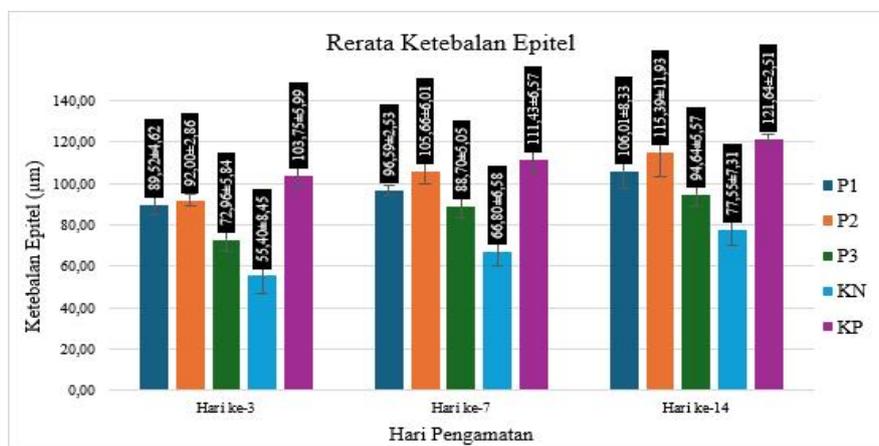


Gambar 2. Gambaran Histologi Fibroblas Jaringan Gingiva Tikus Hari Ke-7. (A) Kelompok P1 (B) Kelompok P2 (C) Kelompok P3 (D) Kelompok KN (E) Kelompok KP. Ketebalan Epitel Ditandai dengan Panah Kuning



Gambar 3. Gambaran Histologi Fibroblas Jaringan Gingiva Tikus Hari Ke-14. (A) Kelompok P1 (B) Kelompok P2 (C) Kelompok P3 (D) Kelompok KN (E) Kelompok KP. Ketebalan Epitel Ditandai dengan Panah Kuning

Data rerata ketebalan epitel setiap kelompok pada masing-masing hari pengamatan dapat dilihat pada Gambar 4 berikut.



Keterangan:

P1 : Perlakuan ekstrak daun carica 3%

P2 : Perlakuan ekstrak daun carica 6%

P3 : Perlakuan ekstrak daun carica 12%

KN : Kontrol negatif gel tanpa ekstrak

KP : Kontrol positif *Alocclair® Plus Gel*

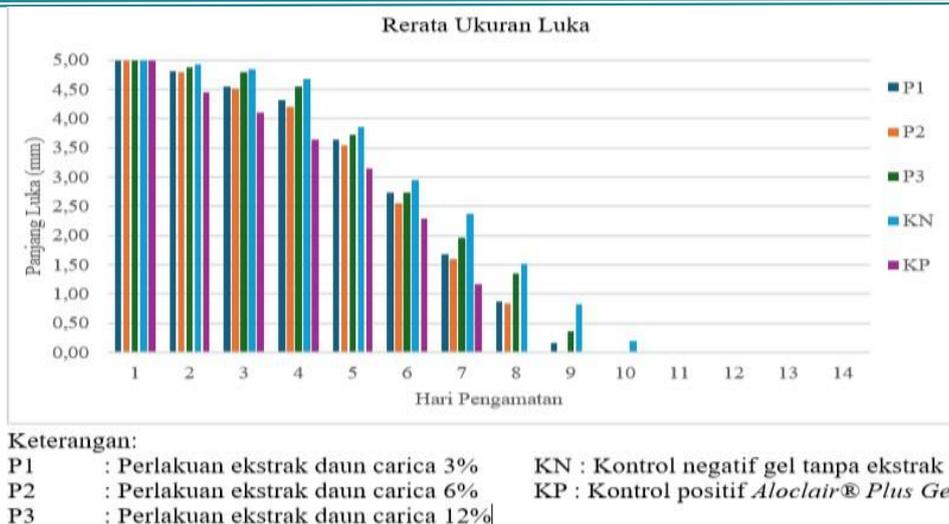
Gambar 4. Rerata Ketebalan Epitel Tiap Kelompok Perlakuan pada Hari ke-3, 7 dan 14

Berdasarkan Gambar 4 diketahui bahwa tiap kelompok perlakuan menunjukkan adanya peningkatan ketebalan epitel pada masing-masing hari pengamatan. Data ketebalan epitel kemudian dianalisis secara statistik menggunakan uji parametrik *Two-way ANOVA* dan didapatkan nilai $p=0,000$ ($p \leq 0,05$) pada kelompok perlakuan dan hari pengamatan yang berarti terdapat perbedaan peningkatan ketebalan epitel yang signifikan antara seluruh kelompok perlakuan dan antar hari pengamatan. Interaksi antara kelompok perlakuan dan hari pengamatan tidak menunjukkan adanya perbedaan signifikan. Uji lanjutan *Post-Hoc LSD* kemudian dilakukan untuk mengetahui perbedaan signifikan antar kelompok.

Hasil uji *Post-Hoc LSD* menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$) antara seluruh kelompok perlakuan ekstrak daun carica dan kontrol positif dengan kelompok KN. Kelompok P2 tidak berbeda signifikan ($p \geq 0,05$) dengan kelompok KP pada tiap hari pengamatan, sementara kelompok KP dengan P3 terdapat perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$) pada tiap hari pengamatan.

Pengamatan penurunan ukuran luka luka dilakukan setiap hari dari awal pembuatan luka insisi dengan panjang ± 5 mm hingga luka tertutup sempurna menggunakan jangka sorong skala nonius 0,05. Data rerata ukuran luka tiap kelompok perlakuan dapat dilihat pada Gambar 5.

Gambar 5. menunjukkan bawa ukuran luka setiap kelompok mulai terjadi penurunan ukuran luka pada hari ke-2. Kelompok P2 menunjukkan penurunan ukuran luka yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok P1 dan P3. Kelompok KP menunjukkan penyembuhan luka yang signifikan dengan luka tertutup sempurna pada hari ke-8. Kelompok KN menunjukkan efek penyembuhan luka yang paling rendah dengan luka tertutup sempurna pada hari ke-11.



Gambar 5. Rerata Ukuran Luka Hari ke-1 Hingga Hari ke-14 Tiap Kelompok Perlakuan

Data ukuran luka kemudian dianalisis statistik menggunakan uji parametrik *One-way ANOVA* dan didapatkan nilai $p=0,000$ ($p \leq 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan ukuran luka yang signifikan antara seluruh kelompok perlakuan. Uji lanjutan *Post-Hoc LSD* kemudian dilakukan untuk mengetahui perbedaan signifikan antar kelompok.

Hasil uji *Post-Hoc LSD* menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara seluruh kelompok perlakuan ekstrak daun carica dengan kontrol negatif. Kelompok perlakuan ekstrak daun carica 6% tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif. Data dari kedua variabel menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol negatif. Analisis data dilanjutkan dengan uji korelasi *Pearson* untuk mengetahui hubungan antara ketebalan epitel dan penurunan ukuran luka. Hasil uji korelasi *Pearson* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Korelasi *Pearson* antara Re-epitelisasi dan Penurunan Ukuran Luka

Rerata Ketebalan Epitel	Rerata Penurunan Ukuran Luka	
	<i>p-value</i>	<i>Coefficient Contingency</i>
	0,028	0,564

DISKUSI

Hasil skrining fitokimia penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun carica yang digunakan positif mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid. Hasil uji alkaloid menunjukkan perbedaan dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan ekstrak daun carica positif mengandung alkaloid. Perbedaan tersebut dapat dipengaruhi oleh faktor internal genetik maupun eksternal seperti habitat tanaman, jenis pelarut, dan metode ekstraksi [21]. Salah satu faktor yang mempengaruhi perbedaan hasil fitokimia pada penelitian ini adalah perbedaan lingkungan tumbuh tanaman carica yang digunakan. Perbedaan hasil uji alkaloid dapat terjadi akibat adanya perbedaan habitat tanaman yang berperan dalam proses metabolisme tanaman sehingga dapat mempengaruhi biosintesis senyawa pada tanaman [22].

Evaluasi fisik sediaan gel ekstrak etanol daun carica pada penelitian ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak memberikan perbedaan pada sifat fisik gel. Peningkatan konsentrasi ekstrak daun carica dapat menurunkan nilai pH, daya lekat dan viskositas sediaan gel. Penurunan nilai pH seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak kemungkinan terjadi karena gel ekstrak daun carica memiliki sifat asam, sehingga semakin tinggi konsentrasi ekstrak dalam sediaan gel maka nilai pH akan semakin rendah [23]. Hasil evaluasi sediaan gel juga menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun carica maka daya sebar semakin tinggi namun daya lekat makin rendah. Daya sebar sediaan dipengaruhi oleh viskositas, semakin tinggi viskositas maka daya sebar semakin rendah dan sebaliknya [19]. Hasil penelitian menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun carica maka nilai viskositas semakin rendah namun tidak berbeda signifikan yang masih berada pada rentang 2.000-50.000 cps [24].

Sifat fisik sediaan gel dapat mempengaruhi efektivitas sediaan terhadap proses penyembuhan luka. Sediaan gel dengan viskositas rendah akan meningkatkan daya sebar sediaan. Sediaan gel yang terlalu menyebar akan mengurangi efektivitas karena berkurangnya daya lekat sediaan sehingga waktu kontak zat aktif dengan perlukaan berkurang. Semakin lama waktu sediaan melekat pada tempat aplikasinya, maka waktu kontak zat aktif dengan perlukaan akan semakin lama sehingga efek penyembuhan luka akan lebih optimal [25].

Hasil penelitian ini menunjukkan proses re-epitelisasi pada setiap kelompok perlakuan telah dapat diamati melalui peningkatan ketebalan epitel mulai hari ke-3 pasca perlukaan insisi gingiva pada tikus. Ketebalan epitel yang terus meningkat terjadi karena proses re-epitelisasi yang diawali dengan migrasi sel-sel epitel dari tepi jaringan bebas menuju area luka. Sel-sel epitel selanjutnya berproliferasi dan berkumpul di area luka sehingga terjadi kontak inhibisi antar sel epitel yang menghasilkan pembentukan kembali jaringan epitel [26]. Re-epitelisasi dapat berlangsung hingga minggu kedua pasca perlukaan [4]. Kelompok perlakuan gel ekstrak etanol daun carica menunjukkan peningkatan ketebalan yang

signifikan dibandingkan kelompok gel tanpa ekstrak (kontrol negatif). Temuan tersebut membuktikan ekstrak etanol daun carica dengan kandungan senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid mampu memberikan pengaruh dalam mempercepat re-epitelisasi pada proses penyembuhan luka.

Mekanisme kerja flavonoid dalam penyembuhan luka berperan langsung dalam mempengaruhi jalur pensinyalan TGF- β yang mengontrol pembelahan sel, migrasi sel, dan proliferasi sel. Flavonoid akan merangsang produksi faktor pertumbuhan terutama TGF- β yang akan meregulasi ekspresi matriks ekstraseluler (ECM) yang berperan dalam proses migrasi sel epitel untuk menutupi area luka [27][28].

Senyawa lain seperti saponin memiliki kemampuan dalam merangsang sintesis fibronectin dari fibroblas dan memodifikasi ekspresi reseptor TGF- β pada proses penyembuhan luka. Peningkatan fibronectin berperan dalam meningkatkan epitelisasi jaringan dengan membentuk gumpalan fibrin yang akan menjadi matriks sementara untuk migrasi sel-sel epitel serta membantu perlekatan sel sehingga proses re-epitelisasi dapat berlangsung lebih cepat. Saponin mampu mengaktifkan jalur TGF- β yang memiliki berbagai fungsi seperti sintesis matriks ekstraseluler, pengambatan pertumbuhan sel, migrasi sel, diferensiasi dan immunosupresi [27].

Kandungan tanin berperan sebagai astrigen yang dapat menyebabkan berkurangnya permeabilitas mukosa dan memperkuat ikatan antar mukosa sehingga menghentikan perdarahan, meningkatkan kontraksi luka serta mencegah terjadinya infeksi [29]. Tanin juga memiliki aktivitas antiinflamasi, antioksidan, serta antibakteri yang dapat mencegah terjadinya infeksi pada luka sehingga mempercepat penyembuhan luka [30]. Triterpenoid memiliki mekanisme kerja meningkatkan sintesis kolagen tipe I dan III dengan menstimulasi reseptor TGF- β yang akan menginisiasi pembentukan jaringan baru (re-epitelisasi) sehingga menstimulasi pertautan antar tepi luka sehingga terjadi penutupan luka [31].

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak daun carica 6% paling efektif meningkatkan ketebalan epitel dan penurunan ukuran luka serta memiliki kemampuan yang setara dengan kontrol positif *Aloclair® Plus Gel*. Hasil ini menunjukkan bahwa efek konsentrasi ekstrak terhadap penyembuhan luka insisi gingiva mengikuti pola non-linear dimana konsentrasi ekstrak 6% mampu memberikan efek terbaik dibanding konsentrasi 3% (terlalu rendah) dan 12% (terlalu tinggi) serupa dengan penelitian sebelumnya menggunakan ekstrak daun kopasanda. Temuan tersebut kemungkinan disebabkan oleh perbedaan sifat fisik sediaan gel. Penelitian ini menunjukkan adanya penurunan daya lekat seiring dengan peningkatan konsentrasi yang memungkinkan terjadinya penurunan efektivitas akibat waktu kontak antara zat aktif dengan area luka berkurang [32]. Sediaan gel yang sulit menyebar atau terlalu menyebar dapat mengurangi efektivitas penggunaan sediaan, sedangkan daya lekat yang rendah dapat mempengaruhi jumlah zat aktif yang terserap [33].

Peningkatan konsentrasi umumnya akan meningkatkan aktivitas respon penyembuhan luka yang sebanding, namun respon akhirnya akan menurun karena tercapainya konsentrasi yang tidak dapat meningkatkan respon lagi. Ekstrak bahan alam mengandung berbagai senyawa aktif yang saling bekerja sama dalam menimbulkan efek terhadap proses penyembuhan luka. Kadar senyawa aktif yang terlalu tinggi dalam tanaman hampir selalu bersifat toksik, sehingga peningkatan konsentrasi memungkinkan tercapainya toksisitas senyawa yang akan menyebabkan penurunan efek terhadap penyembuhan luka [34].

Senyawa saponin dalam ekstrak etanol daun carica berperan dalam merangsang sintesis fibronectin serta mengaktifkan jalur TGF- β yang akan mensintesis matrix ekstraseluler sebagai perlekatan sel-sel epitel. Meningkatnya produksi matriks ekstraseluler akan mempercepat proses migrasi sel-sel epitel dan keratinosit sehingga dapat menstimulasi proses re-epitelisasi lebih cepat dan menyebabkan terjadinya penurunan ukuran luka [26][35]. Senyawa lain berupa flavonoid juga mampu merangsang produksi TGF- β serta meningkatkan VEGF yang berperan dalam proses angiogenesis. Angiogenesis berperan dalam menyediakan oksigen dan nutrisi yang dibutuhkan untuk migrasi dan proliferasi sel serta sintesis senyawa matriks ekstraseluler [36]. Vaskularisasi yang tidak memadai selama proses penyembuhan luka berdampak pada re-epitelisasi yang kurang optimal sehingga penutupan luka tertunda [37].

Penyembuhan luka sangat dipengaruhi oleh proses re-epitelisasi, semakin cepat proses re-epitelisasi maka akan semakin cepat terjadi penutupan luka yang sempurna [38]. Hasil penelitian ini menunjukkan adanya hubungan antara peningkatan ketebalan epitel pada proses re-epitelisasi dengan penurunan ukuran luka. Hasil tersebut dibuktikan dengan nilai *Pearson Correlation* yang didapatkan yaitu, 0,564 yang berarti kekuatan hubungan antara ketebalan epitel dan penurunan ukuran luka cukup kuat. Hasil analisis data juga menunjukkan nilai positif yang berarti arah hubungan antar kedua variabel positif. Oleh karena itu, dapat diartikan bahwa peningkatan ketebalan epitel pada proses re-epitelisasi diikuti dengan bertambahnya penurunan ukuran luka pada tiap kelompok perlakuan.

Keterbatasan penelitian ini antara lain, pengamatan penurunan ukuran luka hanya menggunakan jangka sorong dengan skala nonius 0,05 mm yang kurang akurat dibandingkan dengan jangka sorong skala nonius 0,01 serta pengamatan re-epitelisasi yang hanya dilakukan secara histopatologis, tidak melihat kadar faktor pertumbuhan secara molekuler.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka kesimpulan yang dapat diambil adalah terdapat pengaruh pemberian gel ekstrak etanol daun carica (*Carica pubescens*) konsentrasi 3%, 6% dan 12% terhadap peningkatan re-epitelisasi dan penurunan ukuran luka pada proses penyembuhan luka insisi gingiva tikus Galur Wistar. Gel ekstrak etanol daun carica 6% memiliki kemampuan yang paling mendekati kontrol positif *Aloclair® Plus Gel* dalam meningkatkan ketebalan epitel dan penurunan ukuran luka. Terdapat hubungan dengan arah positif antara re-epitelisasi dan penurunan ukuran luka pada proses penyembuhan luka insisi.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa tidak ada conflict of interest pada penulisan artikel ini.

REFERENSI

- [1] Dorland, W., A., N. *Dorland's Illustrated Medical Dictionary*. 31st ed. Elsevier: Singapore, 2012
- [2] Kumar, V., Abbas, A., K., dan Aster, J., C. *Robins Basic Pathologi*. 10th ed. Elsevier: Philadelphia, 2018
- [3] Riset Kesehatan Dasar. 2019. *Laporan Nasional RISKESDAS 2018*. Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Author. Jakarta. pp. 254-255.
- [4] Miloro, M., Ghali, G., E., Larsen, P., E., dan Wite, P., D. *Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery*. 3rd ed. People's Medical Publishing House: USA, 2011
- [5] Kordestani, S., S. *Atlas of Wound Healing: A Tissue Regeneration Approach*. Elsevier: St. Louis, 2019
- [6] Ruslijanto, H., Amtha, R., Melyanti., Marwati, E., dan Febrina, S.. *Obat Topikal untuk Lesi Mulut: Pemilihan dan Cara Aplikasi*. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta, 2019
- [7] Oktaviani, D.J., Widiyastuti, S., Maharani, D.A., Amalia, A.N., Ishak, A.M., Zuhrotun, A. Review: Bahan alami penyembuh luka. *Farmasetika.com (Online)*. 2019; 4(3): 44. DOI: [10.24198/farmasetika.v4i3.22939](https://doi.org/10.24198/farmasetika.v4i3.22939).
- [8] Savita, D.R.A., Widodo. 2022. Karakter morfologi *Carica pubescens* dari dataran tinggi Dieng. *Jurnal Tropika Mozaika*. 2(1): 47–53.
- [9] Indranila, I., dan Ulfah, M. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun karika (*Carica pubescens*) dengan metode dpph beserta identifikasi senyawa alkaloid, fenol, dan flavonoid. *Prosiding Seminar Nasional Peluang Herbal Sebagai Alternatif Medicine Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim*. 2015; 105–111. DOI: [10.31942/jiffk.v0i0.1352](https://doi.org/10.31942/jiffk.v0i0.1352).
- [10] Aini, S.N. 2021. Pengaruh Pemberian Topikal Gel Ekstrak Etanol Daun Carica (*Carica pubescens*) terhadap Kadar IL-10 pada Proses Penyembuhan Luka Insisi Gingiva (Studi In vivo pada Tikus Galur Wistar). *Skripsi. Jurusan Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto*. (Tidak dipublikasikan).
- [11] Stiani, S.N., Sari, S.P., Kuncoro, B. Formulasi dan evaluasi sediaan gel ekstrak etanol 96% daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) sebagai sediaan antinyamuk *Aedes aegypti*. *Farmagazine*. 2018; 5(2): 39–46. DOI: [10.47653/farm.v5i2.93](https://doi.org/10.47653/farm.v5i2.93).
- [12] Rizkia, A.D., Syaputri, F.N., Tugon, T.D.A. Pengaruh variasi konsentrasi na-cmc sebagai gelling agent terhadap stabilitas fisik dan kimia sediaan gel ekstrak daun serai wangi (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle). *FARMASIS: Jurnal Sains Farmasi*. 2022; 3(1): 11. DOI: [10.36456/farmasis.v3i1.5295](https://doi.org/10.36456/farmasis.v3i1.5295).
- [13] Hakim, R.F., Fakhurrhazi, F., Zamzami, F.S. Comparison of the effect of guava leaf extract (*Psidium guajava* L.) with polyvinylpyrrolidone 97 sodium hyaluronate on the number of fibroblasts (study on white rats [*Rattus norvegicus*]). *Dental Journal*. 2023; 10(1): 61.
- [14] Alhasyimi, A.A. Induksi re-epitelisasi pada proses penyembuhan luka gingiva oleh aplikasi topikal ekstrak daun sage (*Salvia officinalis* L.) konsentrasi 50% (kajian *in vivo* pada tikus *Sprague dawley*). *Jurnal B-Dent*. 2016; 3(1): 31–38. DOI: [10.33854/JBDjbd.35](https://doi.org/10.33854/JBDjbd.35).
- [15] Sardi, N.W.A., Adnyasari, N.L.P.S.M., Ekasari, N.P.R.B. Gel extraction of earthworms (*Lumbricus rubellus*) to the number of fibroblast cells in male wistar rats (*Rattus norvegicus*) gingival wound healing. *Interdental Jurnal Kedokteran Gigi (IJKG)*. 2023; 19(1): 34–42. DOI: [10.46862/interdental.v19i1.6096](https://doi.org/10.46862/interdental.v19i1.6096).
- [16] Dwita, L.P., Ladeska, V., Ramadhani, A., Augusta, D.R., Saufia, R.T. Manfaat ekstrak etanol daun remek daging (*Hemigraphis colorata* W.Bull) terhadap luka bakar pada tikus. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*. 2020; 13(1): 32–40.
- [17] Cahaya, N., Erfenna, E., Program, D.R., Farmasi, S., Matematika, F., Ilmu, D., Universitas, P., Mangkurat, L. 2018. Pengaruh pemberian gel kuersetin terhadap jumlah fibroblas dan re-epitelisasi dalam proses penyembuhan luka bakar derajat iia pada tikus jantan. *Journal of Current Pharmaceutical Science*. 2(1): 89–96.
- [18] Purnama, M.T.E., Fikri, F., Purnomo, A. Sediaan topikal ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) terhadap kepadatan kolagen tikus albino dengan luka insisi. *Acta Veterinaria Indonesiana*. 2021; 9(3): 195–200.
- [19] Katuuk, R.H.H., Wanget, S.A., Tumewu, P. Pengaruh perbedaan ketinggian tempat terhadap kandungan metabolit sekunder pada gulma babadotan (*Ageratum conyzoides* L.). *COCOS*. 2018; 10(6): 1-6. DOI: [10.35791/cocos.v1i4.24162](https://doi.org/10.35791/cocos.v1i4.24162)
- [20] Mustikasari, S.Y., Wirandoko, I.H., Komala, I. Efektivitas ekstrak daun afrika (*Vernonia anygdalina*) terhadap ketebalan epitelisasi pada luka insisi mencit. *Tunas Medika Jurnal Kedokteran & Kesehatan*. 2020; 6(1): 12-18.