Kombinasi Gel Ekstrak Etanol *A. Conyzoides*, *C. Asiatica*, *C. Ternatea*, dan *Astaxanthin* Efektif Untuk Penyembuhan Luka Diabetes: Model Hewan

Nidi Halipah¹, Ira Rahmiyan², Yedy Purwandi Sukmawan^{1*}

¹Departemen Farmasi Klinik dan Farmakologi, Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada Tasikmalaya, Tasikmalaya, Jawa Barat, Indonesia.

² Departemen Bahan Alam Farmasi, Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada Tasikmalaya, Tasikmalaya, Jawa Barat, Indonesia.

*Email : yedipur@gmail.com

(Submit 19/12/2021, Revisi 20/12/2021, Diterima 30/12/2021, Terbit 31/12/2021)

Abstrak

Ulkus diabetik merupakan salah satu komplikasi diabetes yang sulit untuk disembuhkan dan dapat berakhir pada amputasi organ yang terkait pada luka tersebut. Prevalensi kejadian ulkus diabetik menunjukkan kecenderungan peningkatan setiap tahun. Akan tetapi, sampai saat ini sediaan topikal untuk penyembuhan luka diabetes masih sangat terbatas. Pada dua penelitian kami sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak *C. ternatea* dan gel kombinasi *A. conyzoides*, *C. asiatica*, dan *Astaxanthin* memberikan efektifitas penyembuhan luka diabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas kombinasi gel ekstrak etanol *A. conyzoides*, *C. asiatica*, *C. ternatea* dan *Astaxanthin* dalam penyembuhan luka diabetes pada model hewan. Penelitian ini dilakukan terhadap 3 kelompok yaitu kelompok negatif (Basis Gel), kelompok positif (Oxoferin) dan kelompok uji (*A. conyzoides* 10%, *C. asiatica* 5%, *C. ternatea* 5% dan *Astaxanthin* 0,1%). Masing-masing kelompok terdiri dari 4 tikus. Tikus diinduksi menggunakan aloksan 200 mg/Kg BB secara intraperitoneal, dan dinyatakan diabetes bila kadar gula darah >200 mg/dL. Setelah itu dilanjutkan dengan pembuatan luka sayat pada daerah punggung dengan panjang 1,5 cm dan dilakukan pemantauan penyembuhan luka selama 14 hari dilihat dari penutupan lukanya. Hasil penelitian menunjukan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok negatif, positif dan kelompok uji ($p < 0.05$). Hasil persentase penyembuhan luka yaitu 41,65 %, 51,77%, 70,79% untuk kelompok negatif, positif dan uji. Gel kombinasi *A. conyzoides* 10%, *C. asiatica* 5%, *C. ternatea* 5% dan *Astaxanthin* 0,1% efektif dalam meningkatkan kecepatan penyembuhan luka diabetes.

Kata kunci: *A.conyzoides*, *C.asiatica*, *C. ternatea*, *Astaxanthin*, *Wound Healing*

Pendahuluan

Prevalensi Diabetes Mellitus di dunia pada tahun 2019 mencapai 430 juta penderita dan diperkirakan meningkat pada tahun 2030 menjadi 578 juta penderita(1). Di Indonesia, prevalensi diabetes juga mengalami peningkatan pada tahun 2018 menjadi 2% dari yang sebelumnya 1,5% pada tahun 2013 (2,3). Selain itu, diabetes juga menjadi nomor 3 terbesar penyakit yang diderita di Indonesia yang menyebabkan kematian(4).

Luka ulkus merupakan salah satu komplikasi serius yang terjadi pada 5-10% populasi penderita diabetes(5,6). Prevalensi lima tahun kematian untuk ulkus neuropatik diabetik, ulkus neuroiskemik diabetik, dan ulkus iskemik diabetik sebesar 45%, 18% dan 55%(6). Akan tetapi sampai saat ini sediaan topikal yang tersedia masih terbatas (5).

Pada penelitian kami sebelumnya menunjukkan bahwa gel *C. ternatea* 5% serta gel kombinasi *A.conyzoides* 10%, *C. asiatica* 5%, *astaxanthin* 0,1% efektif dalam menyembuhkan luka sayat pada hewan diabetes secara berturut-turut dengan persentase penyembuhan luka sebesar 59% dan 62,74% (7,8). Berdasarkan hal tersebut maka kami melakukan penelitian untuk menguji efektifitas gel kombinasi ekstrak etanol *C. ternatea* 5%, *A.conyzoides* 10%, *C. asiatica* 5%, *astaxanthin* 0,1% pada hewan model diabetes.

Metode

Ethical Clearance

Seluruh pengujian yang dilakukan terhadap hewan pada penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada dengan nomor 028/kepk-bth/IV/2021.

Preparasi Tanaman

Daun Pegagan (*C. asiatica*) dan Daun Bandotan (*A.conyzoides*) diperoleh di Galunggung, Kabupaten Tasikmalaya. Sedangkan Bunga Telang (*C. ternatea*) diperoleh dari Kacang Barat, Kecamatan Pondok Aren, Tangerang Selatan. Tanaman ini dilakukan determinasi di Herbarium Universitas Padjadjaran Bandung dengan nomor *voucher* spesimen 19/HB/12/2020, 20/HB/12/2020, dan 19/HB/12/2020.

Seluruh tanaman ini dilakukan preparasi yang dimulai dengan pencucian dengan air mengalir, perajangan, pengeringan dan penggilingan untuk dibuat dalam bentuk serbuk yang dilanjutkan dengan penyaringan menggunakan mesh 60. Bahan ini dimasukkan ke dalam wadah kedap udaranya masing-masing yang didalamnya diberikan *silica gel* dan disimpan di ruangan dengan suhu 25°C sampai digunakan untuk pembuatan ekstrak.

Pembuatan Ekstrak

Sediaan serbuk dari daun Bandotan, daun Pegagan dan bunga Telang dilakukan maserasi menggunakan pelarut etanol 96% (PT. Brataco). Perendaman dilakukan dalam 24 jam dengan sesekali dilakukan pengadukan. Perlakuan ini dilakukan pengulangan sampai tiga kali pada masing-masing sediaan. Hasil maserasi dilakukan evaporasi pada suhu 60°C menggunakan *rotary evaporator* (IKA RV 10). Hasil evaporasi kemudian dikentalkan menggunakan *waterbath*. Ekstrak kental yang dihasilkan digunakan untuk sediaan uji dan pembuatan sediaan gel.

Preparasi Hewan

Preparasi hewan dilakukan menurut *guide for the care and use of laboratory animals 8th edition* (9). Hewan yang digunakan adalah tikus galur wistar jantan serta berat badan 200-250 gram. Hewan dilakukan aklimatisasi selama 5 hari. Hewan ditempatkan di dalam ruangan pada suhu 25°C dengan kelembaban 50-70%. Selain itu, hewan uji diberi makan dan minuman secara *ad libitum* dan pembersihan sekam setiap 3 hari.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia yang dilakukan meliputi pengujian senyawa metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, saponin, polifenol, steroid-triterpenoid, tanin dan kuinon (10,11).

Pembuatan Sediaan Gel

Pembuatan sediaan gel *A. conyzoides* 10%, *C. asiatica* 5%, *C. ternatea* 5% dan *Astaxanthin* 0,1% menggunakan formula dari penelitian yang sebelumnya (**Tabel 1**) (7). *Astaxanthin* yang digunakan dalam bentuk *Self Nanoemulsion* (SNE). Pembuatan nanoemulsi astaxanthin dilakukan dengan cara mencampurkan fase minyak yang terpilih, surfaktan dan kosurfaktan yaitu minyak bunga matahari, Tween 80, dan Propilenglikol. Setelah itu timbang astaxanthin dan masuk ke dalam *Self Nanoemulsion* dan diaduk menggunakan pengaduk *magnetic stirrer* selama 30 menit, kemudian diisonikasi selama 1 jam. Setelah self nano emulsion yang telah mengandung astaxanthin ditambahkan dengan *aqua deion* sebagai fase luar dan diaduk ringan hingga terbentuk nano emulsi (12).

Tabel 1 Formula Gel⁽⁷⁾

Bahan	Formula (%)
Ekstrak <i>A. conyzoides</i> L	10
Ekstrak <i>C. asiatica</i> (L.)	5
Ekstrak <i>C. ternatea</i>	5
<i>Astaxanthin</i> (SNE) (97%, Sigma Aldrich)	0.1
<i>Carbopol 934</i> (PT. DPH)	2
Propilenglikol (PT. DPH)	2
<i>DMDM Hydantion</i> (PT. DPH)	0,5
<i>Thriethanolamine</i> (PT. DPH)	q.s
<i>Aquadest</i>	Ad 15 g

DPH: Dipa Prasada Husada

Evaluasi Sediaan Gel

Evaluasi sediaan gel yang dilakukan meliputi uji organoleptik, uji homogenitas, uji pH, dan uji daya sebar (13,14).

Uji Penyembuhan Luka Diabetes

Hewan uji dipuasakan terlebih dahulu selama 8-12 jam. Setelah itu hewan uji diinduksi menggunakan *alloxan* (*Sigma-Aldrich* 98%) dengan dosis 200 mg/Kg BB⁽⁸⁾. Pada hari ke-4 setelah induksi hewan dilakukan pengujian untuk mengetahui kadar gula darahnya menggunakan *Accu-chek* (Instant) dan dinyatakan mengalami diabetes bila konsentrasi gula darah > 200 mg/dL. Hewan yang mengalami diabetes kemudian dilakukan pencukuran pada bulunya dan dioleskan lidokain krim (2%), dan kemudian dilakukan pembuatan luka sayat sepanjang ada kelompoknya masing-masing yaitu kelompok negatif diberikan basis gel, kelompok positif diberikan oxoferin (*tetrachlorodecaoxide*), dan kelompok uji diberikan sediaan uji (gel kombinasi *A. conyzoides* 10%, *C. asiatica* 5%, *C. ternatea* 5% dan *Astaxanthin* 0,1%). Evaluasi penyembuhan luka dilakukan selama 14 hari dengan mengukur penutupan luka sayat menggunakan jangka sorong.

Analisis Data

Data dianalisis menggunakan SPSS 16.00 dengan metode ANOVA dan dilanjutkan uji *Post-hoc Least Significant Difference* (LSD) dengan tingkat kepercayaan 95%.

Hasil

Rendemen dan Skrining Fitokimia

Pada pengujian rendemen diperoleh rendemen sebesar 41,67%, 79,99%, 36,54% untuk *A.conyzoides*, *C.asiatica*, dan *C. ternatea* (**Tabel 2**). Sedangkan hasil skrining fitokimia menunjukkan ekstrak *A.conyzoides*, *C.asiatica*, dan *C. ternatea* mengandung senyawa sekunder flavonoid, alkaloid, saponin, polifenol, steroid-triterpenoid dan kuinon (**Tabel 3**).

Tabel 2 Hasil Skrining Fitokimia

Metabolit Sekunder	<i>A.conyzoides</i> L.		<i>C.asiatic</i> a L. Urban		<i>C.ternate</i> a	
	S	E	S	E	S	E
Flavonoid	+	+	+	+	+	+
Alkaloid	+	+	+	+	+	+
Saponin	+	+	+	+	+	+
Polifenol	+	+	+	+	+	+
Tanin	-	-	-	-	-	-
Steroid/Triterpenoid	+	+	+	+	+	+
Kuinon	+	+	+	+	+	+

Tabel 3 Hasil Rendemen

Rendemen	Hasil (%)
<i>A. conyzoides</i>	41,67
<i>C. asiatica</i>	79,99
<i>C. ternatea</i>	36,54

Evaluasi Sediaan Gel

Pada evaluasi sediaan gel menunjukkan bahwa seluruh parameter yang diujikan telah memenuhi ketentuan yang dipersyaratkan (**Tabel 4**) (13-14).

Tabel 4 Hasil Evaluasi Gel

Parameter	Basis Gel	Hasil Sediaan Uji	Rujukan
Organoleptik	Bening, kental, transparan	Berwarna hijau, agak kental	Kental
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen
pH	5	5	4 - 6,5
Daya Sebar	5,4	5,3	5 - 7

Hasil Uji Penyembuhan Luka

Hasil pengujian menunjukkan rata-rata persentase penyembuhan luka pada kelompok negatif, positif, dan uji secara berturut-turut sebesar 41,65%, 51,77% dan 70,79%. (**Tabel 5**). Aktivitas penyembuhan luka pada kelompok uji (gel kombinasi *A. conyzoides* 10%, *C. asiatica* 5%, *C. ternatea* 5% dan *Astaxanthin* 0,1%) memberikan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) dalam kecepatan penyembuhan luka dibandingkan terhadap kelompok negatif dan kelompok positif. Penutupan luka secara sempurna (*complete healing* 100%) terjadi pada hari ke-13 untuk kelompok negatif, hari ke-11 untuk kelompok positif dan hari ke-10 untuk kelompok uji (**Gambar 1**).

Pembahasan

Hasil uji penyembuhan luka pada sediaan uji yang mengandung *A. conyzoides* 10%, *C. asiatica* 5%, *C. ternatea* 5% dan *Astaxanthin* 0,1% memberikan rata-rata persentase penyembuhan luka pada model hewan diabetes yang lebih besar dibandingkan dengan riset kami sebelumnya yang hanya menghasilkan persentase penyembuhan luka sebesar 59% untuk sediaan gel yang mengandung *C. ternatea* (8) dan sebesar 62,74% untuk sediaan gel yang mengandung *A. conyzoides* 10%, *C. asiatica* 5%, dan *Astaxanthin* 0,1% (7). Hasil ini menunjukkan bahwa penambahan *C. ternatea* pada gel kombinasi yang mengandung *A. conyzoides*, *C. asiatica*, dan *Astaxanthin* memberikan efek sinergis

Efektifitas penyembuhan luka yang dihasilkan dari kelompok uji dapat dihubungkan dengan kandungan senyawa pada kombinasi ekstrak dan astaxanthin. Telah diketahui bahwa kandungan dari alkaloid, flavonoid dan saponin *A.conyzoides* memiliki khasiat antimikroba, antioksidan, proliferasi sel, dan sintesis kolagen (15). Selain itu, kandungan minyak atsirinya memberikan efek analgesik yang melibatkan sistem syaraf pusat (16). Sedangkan pada *C.asiatica* diketahui bahwa asiatikosid yang terkandung dapat membantu proliferasi fibroblas dan matriks ekstraseluler yang berperan penting dalam proses penyembuhan luka pada fase *remodelling*, asiatikosid akan memfasilitasi proses penyembuhan luka dengan meningkatkan komponen *peptic hydroxyproline*, sintesis kolagen, angiogenesis dan epitelisasi yang dapat membantu dari proses penyembuhan luka (17). Pada *C. ternatea* dan astaxanthin diketahui berfungsi sebagai anti-oksidan yang dapat menurunkan radikal bebas yang terbentuk dari reaksi inflamasi pada luka, yang berimplikasi pada percepatan penyembuhan luka (18).

Tabel 5 Hasil Uji Penyembuhan Luka

Kelompok Perlakuan	Rataan Penyembuhan Luka (%)
Kelompok negatif	41.65 ± 1.117
Kelompok positif	51.77 ± 1.303*
Kelompok uji	70.79 ± 0.594 [#]

*menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0.05$) dibandingkan kelompok kontrol negatif

[#] menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0.05$) dibandingkan kelompok kontrol negatif dan kelompok positif

Gambar 1 Perkembangan Penyembuhan Luka

Kesimpulan

Gel kombinasi *A. conyzoides* 10%, *C. asiatica* 5%, *C. ternatea* 5% dan *Astaxanthin* 0,1% efektif dalam meningkatkan kecepatan penyembuhan luka diabetes dalam model hewan serta berpotensi untuk dijadikan produk komersial.

Daftar Pustaka

1. Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, Malanda B, Karuranga S, Unwin N, dkk. Global and Regional Diabetes Prevalence Estimates for 2019 and Projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes research and Clinical Practice*. 2019; 157: 107843.
2. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Riset Kesehatan Dasar. (RISKESDAS) 2013. Laporan Nasional 2013, 1–384.
3. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Riset Kesehatan Dasar. (RISKESDAS) 2013. Laporan Nasional 2013, 1–571.
4. Center for Disease Control and Prevention. Global Health- Indonesia. [Diunduh pada tanggal 1 Agustus 2021]. Tersedia di <https://www.cdc.gov/globalhealth/countries/indonesia/default.htm>.
5. Everett E, Mathioudakis N. Update on management of diabetic foot ulcers. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2018; 1411(1): 153-65.
6. Moulik PK, Mtonga R, Gill GV. Amputation and Mortality in New-Onset Diabetic Foot Ulcers Stratified by Etiology. *Diabetes care*. 2003; 26(2): 491-4.
7. Sukmawan YP, Alifiar I, Nurdianti L, Ningsih WR. Wound Healing Effectivity of The Ethanolic Extract of *Ageratum conyzoides* L Leaf (White And Purple Flower Type), Ethanolic Extract of *Centella asiatica* And Astaxanthin Combination Gel Preparation In Animal Model. *Turk J Pharm Sci*.
8. Pakpahan, F.D., Sukmawan, Y.P., Rahmiyani, I., Wound Healing Activity of the *Clitorea ternatea* L. Flower Ethanolic Extract Gel Preparation in Diabetic Animal Model. Submitted in Research Journal of Pharmacy and Technology.
9. National Research Council (US) Committee. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th edition. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011.
10. Farnsworth, NR., 1996. Biological and Pytochemical Screening of Plants. *Journal Of Pharmaceutical Sciences*. 1996; 55(3): 225-76.
11. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Herbal Indonesia. Edisi I. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2008.
12. Nurdianti L, Aryani R, Indra I. Formulasi Dan Karakterisasi Sne (Self Nanoemulsion) Astaxanthin Dari Haematococcus Pluvialis Sebagai Super Antioksidan Alami. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. 2017; 4(1): 36.

13. Cahyaningsih. Formulasi Dan Evaluasi Sediaan Gel Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* Dc.) dengan Basis HPMC sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus Aureus* (Skripsi). Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta; 2018.
14. Garg A, Aggarwal D, Garg S, Singla AK 2002. Spreading Of Semisolid Formulations: An Update. *Pharmaceutical Technology North America*. 2002; 26(9): 84-105.
15. Safani EE, Kunharjito WAC, Lestari A, Purnama ER. Potensi Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) Sebagai Spray Untuk Pemulihan Luka Mencit Diabetik Yang Terinfeksi *Staphylococcus Aureus*. *Biotropic : The Journal Of Tropical Biology*. 2019; 3(1): 68-78.
16. Sukmawan YP, Anggadiredja K, Adnyana IK. 2021. Anti-Neuropathic Pain Activity of *Ageratum conyzoides* L due to the Essential Oil Components. *CNS & Neurological Disorders Drug Targets*. 2021; 20(2): 181-9.
17. Sabila FC dan Mihartono M. Efektivitas Pemberian Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) Terhadap Penyembuhan Luka. *Jurnal Kesehatan dan Agromedicine*. 2020; 7(1): 23-9.
18. Cahyaningsih E dan Putu Era Sandhi KPS. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Ilmiah Medicamento*. 2019; 5(1): 51–7.