

Uji Aktivitas Wound Healing Ekstrak Etanol Buah *Averrhoa bilimbi* L. (Belimbing Wuluh) Pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*)

Wound Healing Activity Test *Averrhoa bilimbi* L. Fruit Ethanol Extract in Male White Mice (*Mus musculus*)

Rahmayati Rusnedi^{1*}, Mira Febrina¹, Cindy Patika Sari¹

¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau, Pekanbaru, Indonesia

*E-mail: rahmayatirusnedi@stifar-riau.ac.id

Received: 29 Mei 2023; Accepted: 27 Juni 2023; Published: 30 Juni 2023

Abstrak

Penyembuhan luka adalah proses yang kompleks, keterlambatan penyembuhan luka meningkatkan terjadinya infeksi, dan terbentuknya bekas luka yang tidak menyenangkan. Tujuan penelitian ini untuk menggali potensi senyawa aktif dari Buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang dapat dikembangkan sebagai sediaan obat untuk penyembuhan luka. Metode yang digunakan dengan membuat luka sayatan pada kulit area punggung mencit yang terlebih dahulu dibersihkan dan dicukur bulunya, kemudian dianestesi lokal dengan menggunakan cream lidocaine dan prilocaine (Emla®). Luka sayatan linear-paravertebral sepanjang 1 cm dibuat dengan pisau bedah steril melalui ketebalan ke dalam lapisan kulit 0,3 cm di sisi punggung hewan uji. Sediaan uji ekstrak etanol buah belimbing wuluh (EBW) dengan konsentrasi 2,5%, 5% dan 10% diberikan sesuai pengelompokkan hewan uji. Pengamatan panjang luka sayat pada setiap kelompok perlakuan dilakukan setiap hari selama 12 hari dengan menggunakan jangka sorong. Aktivitas penyembuhan luka (*wound healing*) yang signifikan diamati dari pemberian EBW dengan konsentrasi 10% yang memiliki kandungan kimia berupa flavonoid, saponin, tanin dan triterpenoid serta mineral, salah satunya yakni *zinc* (seng) dan juga vitamin c terbukti dapat membantu mempercepat proses penyembuhan luka sayatan dengan persentase penyembuhan luka pada hari ke 12 yaitu 100%, nilai persentase yang sama dengan kelompok hewan uji yang diberikan *povidone iodine* 10% (Betadine®) sebagai obat pembanding. Penelitian ini menunjukkan manfaat pemberian EBW konsentrasi 10% yang berpotensi dikembangkan sebagai sediaan obat topikal untuk penyembuhan luka.

Kata Kunci: Ekstrak etanol buah *Averrhoa bilimbi* L., Flavonoid, Saponin, Tanin, Triterpenoid, Zinc, Vitamin C, Luka sayat (*wound healing*)

Abstract

Wound healing is a complex process, delays in wound healing increase the risk of infection, and the formation of unpleasant scars. The purpose of this study was to explore the potential of active compounds from star fruit (*Averrhoa bilimbi* L.) which can be developed as medicinal preparations for wound healing. The method used is to make an incision in the skin of the back area of the mice which is cleaned and shaved first, then local anesthetic is used using lidocaine and prilocaine cream (Emla®). A 1 cm long linear-paravertebral incision was made with a sterile scalpel through a 0.3 cm thickness of the skin on the dorsal side of the animal. Test preparations of ethanol extract of star fruit with concentrations of 2.5%, 5% and 10% were given according to the grouping of the test animals. Observation of the length of the incision in each treatment group was carried out every day for 12 days using a caliper. Significant wound healing activity was observed from the administration of 10% ethanol extract which contains chemicals in the form of flavonoids, saponins, tannins and triterpenoids as well as minerals, one of which is zinc and vitamin C which has been shown to help speed up the healing process. incision wounds with the percentage of wound healing on day 12, namely 100%, the same percentage value as the group of test animals given Povidone iodine 10% (Betadine®) as a comparison drug. This study shows the benefits of administering a test preparation of starfruit fruit ethanol extract at a concentration of 10% which has the potential to be developed as a topical drug preparation for wound healing.

Keywords: Ethanol extract of *Averrhoa bilimbi* L., Flavonoids, Saponins, Tannin, Triterpenoid, Zinc and Vitamin, Wound healing

PENDAHULUAN

Buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). merupakan salah satu tanaman Indonesia yang dapat digunakan sebagai obat tradisional. Tanaman ini sengaja ditanam ataupun tumbuh liar pada lingkungan yang cukup lembab dan menghasilkan buah yang banyak digunakan masyarakat (Orwa *et al.*, 2009). Secara tradisional belimbing wuluh digunakan untuk pengobatan demam, rematik, kencing manis, sifilis, batuk rejan, sakit perut, maag, sariawan dan sebagai minuman penyejuk, serta digunakan untuk mengobati gangguan pada kulit seperti radang/inflamasi, jerawat, bisul, dan gatal-gatal serta infeksi (Kumar *et al.*, 2013).

Luka adalah gangguan anatomi dan fungsional kulit setelah terjadinya cedera (Sharma *et al.*, 2021). Akibat luka yang serius menjadi peradangan dan, akibatnya terjadi stres oksidatif yang dapat menyebabkan keterlambatan atau sulit sembuh, infeksi, amputasi, atau bahkan sepsis yang mematikan (Han dan Ceilley, 2017).

Luka hampir selalu dikaitkan dengan risiko infeksi yang tinggi, sehingga untuk penyembuhan luka memerlukan proses yang kompleks, adanya keterlambatan penyembuhan luka juga meningkatkan terjadinya infeksi, dan terbentuknya bekas luka yang tidak menyenangkan. Setiap perubahan yang mengganggu proses penyembuhan akan memperburuk kerusakan jaringan dan memperpanjang proses perbaikan. Karenanya, jika agen yang aktif melawan mikroorganisme penyebab infeksi digunakan dalam proses penyembuhan luka, itu akan membantu mengurangi risiko infeksi. Waktu keseluruhan untuk penyembuhan luka juga dapat dikurangi secara signifikan (Ibrahim *et al.*, 2018; Samah *et al.*, 2016).

Proses penyembuhan luka kulit mencakup kaskade peristiwa terkoordinasi setelah cedera kulit, trauma, atau laserasi, yang diikuti oleh regenerasi alami pelindung kulit. Pada luka yang kompleks, proses penyembuhan ditandai dengan fase inflamasi yang berkepanjangan dan berkelanjutan yang

mengganggu sel dermal dan epidermis untuk merespons sinyal kimia (Han dan Ceilley, 2017). Proses penyembuhan luka dengan pemberian ekstrak tanaman dari bahan alam dipromosikan melalui beberapa konstituennya yang termasuk senyawa aktif seperti flavonoid, saponin dan triterpen (Sharma *et al.*, 1990). Mineral penting terutama zinc (seng) dan vitamin C juga mempengaruhi proses perbaikan luka sebagai kofaktor atau koenzim dalam sejumlah fungsi metabolisme yang terlibat dalam penyembuhan luka (Bhar *et al.*, 2003).

Tujuan dari penelitian ini untuk menyelidiki secara ilmiah potensi senyawa aktif dari belimbing wuluh yang dapat dikembangkan sebagai sediaan obat untuk penyembuhan luka yang diujikan secara *in vivo* pada kulit mencit yang luka. Luka dibuat dengan menggunakan sayatan sepanjang 1 cm dengan kedalaman 0,3 cm secara linier sebagai model luka sayatan, yang telah banyak digunakan untuk konfirmasi aktivitas penyembuhan luka (Suntar *et al.*, 2011^b). Selain itu, adanya senyawa aktif seperti flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid (Kumar *et al.*, 2013), vitamin C dan zinc (seng) dalam ekstrak etanol buah belimbing wuluh (Yan *et al.*, 2013; Patil *et al.*, 2013; Bhaskar dan Shantaram, 2013) dieksplorasi hubungannya dengan aktivitas penyembuhan luka yang terjadi.

METODE PENELITIAN

Bahan

Sampel buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) diperoleh dari desa Lenggopan, Kecamatan Rambah, Kabupaten Rokan Hulu. Buah yang diambil adalah buah yang matang/masih hijau, segar, dan tidak busuk. Identifikasi dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Jurusan Biologi Universitas Riau dengan No. identifikasi 568/UN19.5.1.1.3-4 1/EP/2021.

Persiapan Pembuatan Ekstrak

Bahan yang digunakan adalah buah belimbing wuluh matang dengan biji dipotong

menjadi potongan-potongan kecil. Setiap 50 g bagian buah belimbing wuluh cincang dimaserasi dalam etanol 96% sebanyak 500 mL pada suhu kamar selama 5 hari. Ekstrak hasil penyaringan yang diperoleh dikentalkan menggunakan alat *vaccum rotary evaporator* yang diatur pada suhu 50° C dengan tekanan 175 mbar (0,172 atm) sehingga diperoleh ekstrak kental (Muhammad and Veronique, 2015).

Skrining Fitokimia

Analisis fitokimia dari ekstrak yang digunakan pada pengujian ini, direaksikan menggunakan metode sederhana dan reagen-reagen Untuk setiap reaksi, digunakan 100 mg EBW. Skrining fitokimia flavonoid dilakukan dengan cara beberapa tetes lapisan air dimasukkan ke dalam plat tetes, dimasukkan 2 butir logam Mg dan 2 tetes asam klorida pekat. Terbentuk warna jingga sampai merah menunjukkan adanya flavonoid. Untuk memeriksa adanya tanin, ekstrak kering dilarutkan air dan menggunakan natrium klorida 10% dan larutan gelatin 1%. Saponin diidentifikasi dengan cara lapisan air dimasukkan ke dalam tabung reaksi dikocok kuat, bila terbentuk busa yang tetap selama 5 menit menandakan adanya saponin. Skrining triterpenoid dengan cara mencampur ekstrak dengan kloroform dihangatkan ditambahkan asam sulfat pekat, terbentuknya warna merah menunjukkan adanya senyawa triterpenoid (Sakar *et al.*, 1991).

Uji Aktivitas Penyembuhan Luka

Mencit Putih (*Mus musculus*) jantan (18–20 gram) diperoleh dari Laboratorium Hewan Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau. Hewan uji diaklimatisasi selama 5 hari pada kondisi kandang yang tepat. Mencit diberikan pelet standar dan air *ad libitum* selama percobaan. Jumlah hewan yang digunakan dalam setiap kelompok 5-6 ekor. Protokol uji telah dinyatakan layak etik oleh Unit Etik penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Riau dengan

Nomor Surat
B/055/UN19.5.1.1.8/UEPKK/2022.

Persiapan untuk Pengujian

Model luka sayatan insisi digunakan untuk mengevaluasi luka melalui aktivitas penyembuhan. Pada pengujian secara *in vivo* ini, sampel uji EBW disiapkan dengan konsentrasi 2,5%, 5% dan 10%, masing-masing sebanyak 5 mL, yang sebelum ditambahkan Triethanolamine (TEA 3%) beberapa tetes mendapatkan pH sediaan uji yang sesuai dengan pH kulit normal yakni diantara 4,5-7. Sebanyak 0,2 mL sediaan uji yang telah disiapkan, dioleskan merata secara topikal pada bagian yang terluka segera setelah masing-masing luka dibuat dengan pisau bedah, seperti yang dijelaskan dalam penelitian Kupeli *et al.*, 2011. Pada kelompok kontrol negatif/-, hewan uji diperlakukan dengan pemberian basis sediaan uji topikal yang digunakan saja yakni NaCMC 4% yang dioleskan sebanyak 0,2 mL, sedangkan untuk kelompok obat pembanding (kontrol positif/+) luka sayat pada hewan uji diberi 0,2 mL *povidone iodine* 10%.

Model Luka Sayatan

Area punggung semua hewan uji dicukur bulunya terlebih dahulu dan dibersihkan dengan alkohol 70%. Hewan dianestesi lokal dengan menggunakan cream lidocaine dan prilocaine (Emla®). Sayatan linear-paravertebral sepanjang 1 cm dibuat dengan pisau bedah steril dan ketebalan ke dalam lapisan kulit 0,3 cm di sisi punggung (Ehrlich *et al.*, 1969). Hewan-hewan uji dibagi menjadi lima kelompok: kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif (diberikan *povidone iodine* 10% (Betadine®) dan kelompok yang diberikan sediaan uji sesuai konsentrasi 2,5%, 5% dan 10% pada masing-masing kelompoknya. Luka pada tiap hewan uji dioleskan sediaan sebanyak 0,2 mL secara topikal satu kali sehari selama 12 hari. Evaluasi terhadap penyembuhan luka dilakukan dengan cara mengukur panjang

luka sayatan Luka sayatan diukur dengan menggunakan jangka sorong, dan model luka sayatan memanjang digunakan untuk menilai aktivitas penyembuhan luka in vivo menentukan persentase penyembuhan luka (Cukjati *et al.*, 2001).

Analisis Statistik

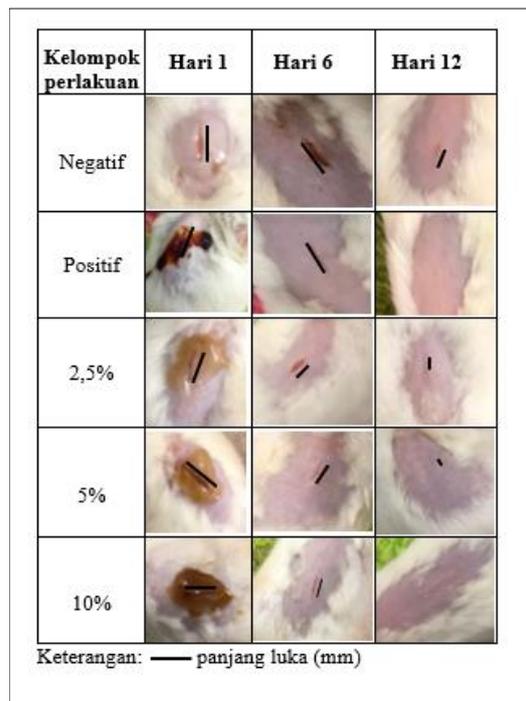
Data persentase panjang penyembuhan luka yang diperoleh dari data panjang luka awal dibagi panjang luka setelah diberikan perlakuan, lalu persentase panjang penyembuhan luka dianalisis secara statistik menggunakan *One-Way Analysis Of Variance* (ANOVA) uji Statistik *Friedman*. Ada perbedaan signifikan persentase penyembuhan luka antara hari yang dibandingkan ditandai dengan nilai signifikan <0.05

HASIL DAN PEMBAHASAN

Studi ini dilakukan untuk memperkirakan efek penyembuhan luka dari EBW secara eksperimental dengan pemberian rute topikal. Luka sayatan diukur dengan menggunakan jangka sorong, dan model luka sayatan yang memanjang digunakan untuk menilai aktivitas penyembuhan luka in vivo dari tanaman obat ini (**Gambar 1**).

Dari data makroskopik panjang luka sayatan setelah 12 hari pemberian sediaan uji, diperoleh rata-rata panjang luka untuk kelompok kontrol negatif $2,24 \text{ mm} \pm 0,041$, kelompok kontrol positif yang diberikan *povidone iodine* 10% (*Betadine*®) diperoleh panjang luka $0 \text{ mm} \pm 0,000$ sedangkan untuk kelompok uji yang diberikan EBW konsentrasi 2,5%, 5% dan 10% diperoleh rata-rata hasil berturut-turut sebagai berikut: $1,19 \text{ mm} \pm 0,188$, $0,20 \text{ mm} \pm 0,057$ dan $0,03 \text{ mm} \pm 0,067$.

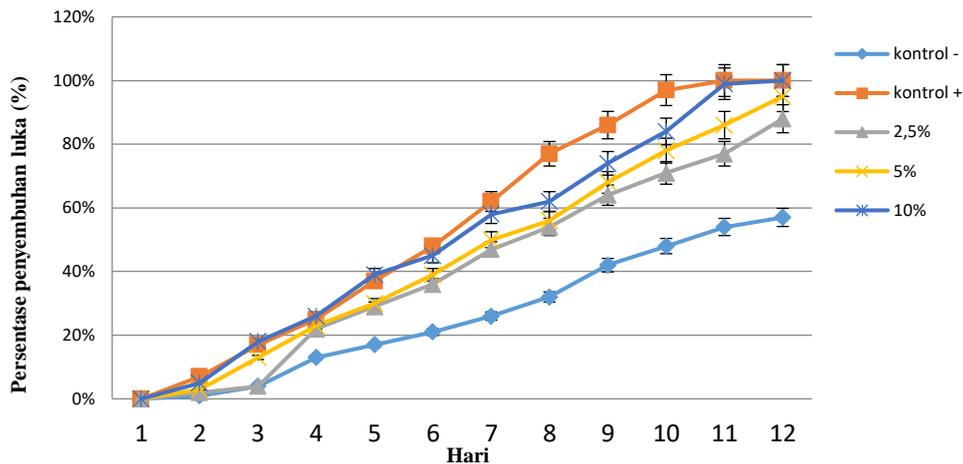
Hasil pengamatan juga menunjukkan bahwa persentase penyembuhan luka pada mencit yang diobati EBW konsentrasi 2,5% secara topikal diperoleh $36\% \pm 0,022$ pada hari ke 6 hingga $88\% \pm 0,019$ pada hari ke 12, sementara pada pemberian EBW konsentrasi 5% diperoleh persentase penyembuhan luka $39\% \pm 0,011$ pada hari ke-6 dan $95\% \pm 0,005$ pada hari ke-12. Pemberian sediaan uji EBW



Gambar 1. Gambaran panjang luka sayat pada proses penyembuhan luka hari ke-1, ke-6 dan ke-12

konsentrasi 10 % diperoleh persentase penyembuhan luka $45\% \pm 0,056$ pada hari ke 6 hingga $100\% \pm 0,000$ pada hari ke 12. Sementara itu, mencit pada kelompok kontrol positif yang diberikan *povidone iodine* 10% menunjukkan penutupan luka pada hari ke 6 dengan persentase penyembuhan luka $48\% \pm 0,008$ dan menunjukkan penutupan luka sempurna pada hari ke 12 yakni dengan persentase $100\% \pm 0,000$. Di sisi lain, terjadinya penutupan luka pada mencit kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan NaCMC 4% sebagai pembawa untuk sediaan uji ekstrak etanol ditemukan hasil pada hari ke 12 hanya memperoleh persentase penyembuhan luka 57 % (**Gambar 2**).

Dari grafik **Gambar 2** di atas terlihat % penyembuhan luka pada hari ke 12 untuk kelompok kontrol positif dan kelompok yang diberikan sediaan uji dengan konsentrasi 10% mendapatkan persentase penyembuhan luka 100%. Selain itu berdasarkan hasil uji Statistik *Friedman*, ada perbedaan signifikan persentase penyembuhan luka antara hari



Gambar 2. Persentase penyembuhan luka tiap kelompok pengujian mulai hari ke 1-12

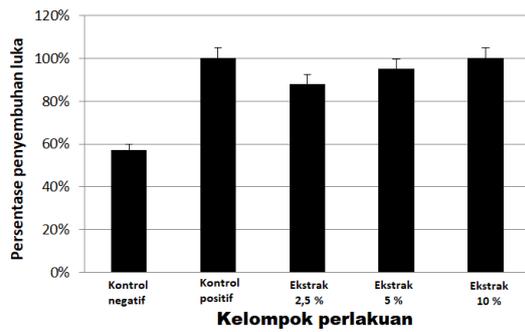
yang dibandingkan ditandai dengan hasil yang diperoleh terdapat perbedaan yang signifikan yakni $p < 0,05$. Hal ini sesuai dengan hasil pada uji yang dilakukan oleh Hartini (2012) mengenai aplikasi topikal ekstrak etanol daun belimbing wuluh yang mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, alkaloid dan antioksidan yang dapat meningkatkan jumlah fibroblas pada penyembuhan luka gingiva tikus putih jantan pada konsentrasi 10%. Hal ini mengungkapkan bahwa ekstrak etanol ini dapat meningkatkan penyembuhan luka dengan meningkatkan kekuatan tarik dan epitelisasi luka.

Aktivitas penyembuhan luka yang paling efektif biasa diamati dengan pemberian sediaan uji ekstrak etanol buah belimbing wuluh pada konsentrasi 10% pada hewan model luka yang diterapkan. Pada model luka sayatan, kelompok hewan yang diobati dengan EBW konsentrasi 10% pada hari ke-12 menunjukkan hasil persentase penyembuhan luka yang sama dengan obat yang digunakan pada kelompok kontrol positif yaitu *povidone iodine* 10% (*Betadine*®). *Povidone iodine* umum digunakan dalam terapi modern untuk sterilisasi, terutama untuk preparasi kulit dan pembalut luka. Hal ini juga dipercaya bahwa *povidone iodine* dapat mengurangi waktu

perdarahan dan edema. Selain itu, sediaan ini mempengaruhi tahap awal penyembuhan luka dengan memodifikasi sintesis prostaglandin (Teixeira *et al.*, 2019). *Povidone iodine* adalah agen antimikroba melawan infeksi lokal yang dapat menyebabkan keterlambatan perbaikan jaringan (Bigliardi *et al.*, 2017).

Demikian pula, pada kelompok uji yang diberikan EBW dengan variasi konsentrasi 2,5%, 5% dan 10% pada model luka sayatan menunjukkan peningkatan kekuatan tarik pada penutupan luka sempurna yang signifikan pada Hari ke-12 dengan persentase berturut-turut sebagai berikut: 88%, 95% dan 100% (**Gambar 3**).

Dalam penelitian ini, aktivitas penyembuhan luka yang diamati dengan pemberian EBW konsentrasi 10% pada model luka insisi/sayatan, dimana pada proses penyembuhan luka terdapat fase alami penyembuhan luka meliputi hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodeling. Setiap langkah penyembuhan luka berbeda, tumpang tindih dengan yang terjadi berikutnya dan melibatkan serangkaian interaksi antara berbagai kelas sel di dalam tubuh (Gurtner *et al.*, 2008). Keberhasilan penyembuhan luka juga tergantung pada nutrisi yang cukup yang dipasok ke lokasi luka (Guo dan Dipietro 2010).



Gambar 3. Persentase penyembuhan luka tiap kelompok uji pada hari ke-12 ($p < 0,05$) dengan kelompok kontrol negatif.

Selain itu, tujuan penyembuhan luka adalah untuk mempercepat waktu penyembuhan dengan rasa sakit yang minimal dan mencegah jaringan parut pada bagian tersebut (Meyer, 1993). Bekas luka yang fleksibel dan halus dengan kekuatan tarik tinggi diinginkan untuk penutupan luka yang sempurna (Suntar *et al.*, 2011^b).

Fitokimia yang diperoleh dari EBW meliputi komponen diantaranya adalah flavonoid, saponin, tanin dan triterpenoid. Selain itu telah diperoleh data dari penelitian Bhaskar dan Shantaram (2013), buah Belimbing wuluh mengandung mineral zinc (seng) dan kaya akan vitamin C (Tabel 1).

Tabel 1. Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Komponen metabolit sekunder	Keterangan
Flavonoid	+
Saponin	+
Tannin	+
Triterpenoid	+
Zinc*	+
Vitamin C*	+

* Bhaskar B dan Shantaram M., 2013

Flavonoid dinyatakan sebagai zat yang meningkatkan kesehatan yang memiliki sifat antiinflamasi, antimikroba dan antioksidan memiliki peran penting dalam penyembuhan luka (Gomathi *et al.*, 2003). Flavonoid dan turunannya diketahui dapat menurunkan peroksidasi lipid dengan meningkatkan

vaskularisasi dan mencegah atau memperlambat perkembangan nekrosis sel. Oleh karena itu, setiap obat yang menghambat peroksidasi lipid seharusnya meningkatkan viabilitas fibril kolagen dengan meningkatkan sirkulasi dan kekuatan serat kolagen, mendorong sintesis DNA dan mencegah kerusakan sel (Getie *et al.*, 2002; Shetty *et al.*, 2008). Flavonoid juga diketahui mendukung proses penyembuhan luka terutama karena sifat antimikroba dan juga sifat astringennya, yang bertanggung jawab untuk kontraksi luka dan peningkatan laju epitelisasi (Suntar *et al.*, 2011^a).

Saponin bertindak sebagai antibakteri dan tanin bertindak sebagai astringen luka. Senyawa-senyawa tersebut memiliki peran penting dalam proses penyembuhan luka (Su *et al.*, 2017; Men *et al.*, 2020). Saponin memiliki beberapa manfaat seperti hemolitik, antibakteri, anti virus, fungsi anti oksidatif, aktivitas anti inflamasi yang mengurangi edema dan peradangan kulit (Just *et al.*, 1998, Kim *et al.*, 2011, Navarro *et al.*, 2001). Faktanya, saponin membantu mempercepat neovaskularisasi pada area luka pada kulit tikus. Selanjutnya, saponin juga berhubungan dengan faktor pertumbuhan endotel vaskular dan interleukin (IL)-1 β , keduanya berada dikelompok sitokin inflamasi yang memicu akumulasi makrofag pada area luka kulit, meningkatkan penyembuhan luka (Kimura *et al.*, 2006).

Analisis yang dilakukan oleh Ansari *et al.*, (2004). menunjukkan bahwa EBW memiliki kandungan zinc (seng) yang tinggi daripada kebanyakan tanaman obat yang lain. Zinc adalah salah satu elemen penting, dan berfungsi sebagai co-faktor dalam berbagai sistem enzim, termasuk matriks metaloproteinase yang bergantung pada seng, yang meningkatkan autodebridement dan migrasi keratinosit selama proses perbaikan luka. Ini juga memberikan resistensi terhadap apoptosis epitel melalui sitoproteksi, mungkin melalui aktivitas antioksidan dari metallothionein kaya sistein, terhadap spesies oksigen reaktif dan racun bakteri.

Kekurangan seng dalam tubuh, baik secara turun temurun maupun dari makanan, dapat menyebabkan tertundanya penyembuhan luka.

Penelitian lain juga telah menunjukkan bahwa pemberian zinc (seng) secara topikal lebih unggul daripada pemberian oral karena efeknya dalam mengurangi superinfeksi dan nekrosis melalui peningkatan sistem pertahanan lokal dan pelepasan ion seng yang berkelanjutan, yang merangsang re-epitelisasi luka. Seng diangkut melalui kulit dari sediaan topikal yang melindungi dan menenangkan kulit yang meradang dan mengalami ulserasi (Lansdown *et al.*, 2007).

Oleh karena itu, kandungan seng dari ekstrak yang digunakan untuk tujuan penyembuhan luka mungkin memiliki kontribusi yang besar dalam proses penyembuhan luka, dimana seng adalah kofaktor kolagenase, anggota kelompok metaloproteinase yang membantu menghilangkan fibrinogen pada awal prosedur penyembuhan dalam fase inflamasi (MacKay dan Miller, 2003). Seng juga berkontribusi dalam sintesis DNA, pembelahan sel dan sintesis protein, yang terjadi pada fase proliferasi sel (Suntar *et al.*, 2011^b).

Kandungan vitamin C ekstrak etanol buah belimbing wuluh dinilai memiliki peran sebagai antioksidan, meningkatkan migrasi neutrofil dan transformasi limfosit bersama dengan sintesis kolagen pada kulit (Suntar *et al.*, 2011^b). Selain itu, vitamin C yang penting untuk konversi prolin menjadi hidrosiprolin, penanda spesifik dan komponen jaringan granulasi matriks ekstraseluler pada luka (Santana *et al.*, 2019; Anyakudo dan Erinfolami 2015).

Triterpenoid yang terkandung dalam sediaan uji ekstrak berperan dalam proses penyembuhan luka, menunjukkan hasil bahwa senyawa ini mampu mempercepat proses penyembuhan dengan mempercepat epitelisasi dan produksi kolagen serta deposisi, terlepas dari jenis lukanya; selain itu, penggabungan triterpenoid dalam

berbagai formulasi obat adalah pilihan yang berharga dalam pengelolaan luka karena pengiriman *phyto compound* aktif triterpenoid dalam jangka panjang dianggap sebagai kelas terapi yang tepat dalam pengobatan dan pengelolaan luka (Agra *et al.*, 2015). Selain itu, triterpenoid dilaporkan terbukti efektif untuk mempercepat re-epitelisasi luka dan diketahui memperbaiki pembentukan parut untuk lesi superfisial (Metelmann *et al.*, 2015; Metelmann *et al.*, 2012).

Tanin yang juga terkandung dalam ekstrak ini terlibat dalam penyembuhan luka. Tanin adalah turunan fenol tanaman dari berbagai berat molekul yang secara alami disintesis oleh tanaman sebagai produk metabolisme (Haslam., 1996; Akiyama *et al.*, 2001; Bakondi *et al.*, 2004). Asam tanat (TA, penta-m-digalloyl glukosa) adalah tanin terhidrolisis paling sederhana dan utama yang memiliki astringen, antioksidan, antimikroba, antivirus, dan antiinflamasi (Buzzini *et al.*, 2008). Meskipun ekstrak tanin telah digunakan untuk meningkatkan proses penyembuhan luka selama bertahun-tahun, mekanisme yang tepat dari tindakan belum sepenuhnya dijelaskan sampai saat ini. Tanin dipercaya dapat mempercepat penyembuhan luka melalui beberapa mekanisme: 1) menghilangkan radikal bebas dan spesies oksigen reaktif (ROS), 2) mendorong kontraksi luka, dan 3) meningkatkan pembentukan pembuluh kapiler dan proliferasi fibroblas (Akiyama *et al.*, 2001). Asam tanat (TA, penta-m-digalloyl glukosa) adalah tanin terhidrolisis paling sederhana dan utama yang memiliki astringen, antioksidan, antimikroba, antivirus, dan anti-sifat inflamasi (Buzzini *et al.*, 2008). Meskipun tanin telah digunakan untuk meningkatkan proses penyembuhan luka selama bertahun-tahun, mekanisme yang tepat dari tindakan belum sepenuhnya dijelaskan sampai saat ini.

Tanin dapat mempercepat penyembuhan luka melalui beberapa mekanisme: 1) menghilangkan radikal bebas dan spesies oksigen reaktif (ROS), 2) mendorong

kontraksi luka, dan 3) meningkatkan pembentukan pembuluh kapiler dan proliferasi fibroblas (Akiyama *et al.*, 2001). TA dapat mempercepat penyembuhan luka, re-epitelisasi, dan pertumbuhan folikel rambut pada model tikus dengan meningkatkan ekspresi faktor pertumbuhan termasuk faktor pertumbuhan fibroblast dasar (bFGF), mengubah faktor pertumbuhan-beta (TGF- β), dan VEGF; menurunkan sitokin inflamasi seperti IL-1 dan IL-6; dan mengaktifkan jalur ERK 1/2 (Chen *et al.*, 2019). Telah dilaporkan bahwa hidrogel komposit agarosa TA-karboksilasi pH yang sensitif menunjukkan aktivitas anti-inflamasi yang efektif dengan menekan produksi NO dengan cara yang bergantung pada konsentrasi dalam makrofag manusia yang terstimulasi (Ninan *et al.*, 2016). Penelitian terhadap potensi terapeutik dan penyembuhan luka cross-linked collagen scaffolds (TCCs) dalam model tikus luka eksisi, yang disiapkan melalui teknik pengecoran menggunakan TA sebagai pengikat silang. Hasilnya menunjukkan bahwa TCC memiliki efek yang signifikan pada penutupan luka dan meningkatkan tingkat penyembuhan luka

secara signifikan lebih dari perancah kolagen asli (Natarajan *et al.*, 2013).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh, ekstrak etanol buah Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan konsentrasi 10% memiliki aktivitas penyembuhan luka yang lebih baik, dengan persentase penyembuhan luka pada hari ke 12 yaitu 100% yakni nilai persentase yang sama dengan kelompok hewan uji yang diberikan *Povidone iodine* 10% (Betadine®) sebagai obat pembanding. Adanya flavonoid, tanin, saponin dan triterpenoid dari ekstrak inilah yang berkontribusi pada proses penyembuhan luka kulit pada hewan uji. Manfaat pemberian EBW konsentrasi 10% berpotensi dikembangkan sebagai sediaan obat topikal untuk penyembuhan luka.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau yang telah memberikan kesempatan kepada tim peneliti untuk melaksanakan semua rangkaian penelitian

Daftar Pustaka

- Agra L.C., Ferro J.N.S., Barbosa F.T., Barreto E., 2015. Triterpenes with healing activity: A systematic review. *J. Dermatol. Treat.* 26, pp.465–470.
- Akiyama H, Fujii K, Yamasaki O, Oono T, Iwatsuki K., 2001. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother*, 48(4), pp.487–491.
- Ansari T. M., N. Ikram, M. Najam-ul-Haq, I. Fayyaz, Q. Fayyaz, I. Ghafoor., 2004. Essential trace metal (zinc, manganese, copper and iron) levels in plants of medicinal importance, *Journal of Biological Sciences*, 4, pp.95–99.
- Anyakudo M. M. C. and Erinfolami A. B., 2015. Glycemic and wound healing effects of aqueous mesocarp extract of unripe *Carica papaya* (Linn) in diabetic and healthy rats, *World Journal of Nutrition and Health*, 3, pp.47–52.
- Bakondi E, Bai P, Erdelyi K, Szabo C, Gergely P, Virag L., 2004, Cytoprotective effect of gallotannin in oxidatively stressed HaCaT keratinocytes: the role of poly(ADP-ribose) metabolism. *Exp Dermatol.* 13(3), pp.170–178.
- Bhar R., S. K. Maiti, T. K. Goswami, R. C. Patra, A. K. Garg, and Chhabra A. K., 2003, Effect of dietary vitamin C and zinc supplementation on wound healing, immune response and growth performance in swine, *Indian Journal of Animal Sciences*, 736, pp.674–677.

- Bigliardi P., L. Alsagoff, S.A.L., El-Kafrawi H.Y., Pyon J.K., Wa C.T.C., Villa M, A., 2017, *Povidone iodine* wound healing: A review of current concepts and practices. *Int J Surg.* 44, pp 260-268.
- Bhaskar B dan Shantaram M., 2013, Morphological and biochemical characteristics of *Averrhoa fruits*. *International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, 3(3), pp.924-928.
- Buzzini P, Arapitsas P, Goretti M., 2008, Antimicrobial and antiviral activity of hydrolysable tannins. *Mini Rev Med Chem.* 12, pp.1179–1187.
- Chen Y., L. Tian, F. Yang, W. Tong, R. Jia, Y. Zou, L. Yin, L. Li, C. He, X. Liang, G. Ye, C. Lv, X. Song, Z. Yin., 2019, Tannic acid accelerates cutaneous wound healing in rats via activation of the ERK 1/2 signaling pathways. *Adv. Wound Care*, 8, pp.341-354.
- Cukjati, D., Rebersek, S. and Miklavcic, D., 2001, A reliable method of determining wound healing rate. *Med. Biol. Eng. Comput.* 39, pp.263–271.
- Ehrlich H. P. and T. K. Hunt, 1969, The effects of cortisone and anabolic steroids on the tensile strength of healing wounds, *Annals of Surgery*, 170(2), pp.203–206.
- Getie M., M. T. Gebre, R. Reitz, and R. H. Neubert, 2002, Evaluation of the release profiles of flavonoids from topical formulations of the crude extract of the leaves of *Dodonea viscosa* (Sapindaceae), *Pharmazie*, 57, pp.320–322.
- Gomathi K, Gopinath D, Ahmed MR, Jayakumar R., 2003, Quercetin incorporated collagen matrices for dermal wound healing processes in rat. *Biomaterials*, 24, pp.2767-2772.
- Guo S., Dipietro L.A., 2010, Factors affecting wound healing. *J Dent Res.* 89(3), pp.219-29.
- Gurtner G.C., Werner S., Barrandon Y., Longaker M.T., 2008, Wound repair and regeneration. *Nature*, 453, pp.314–321.
- Han G, dan Ceilley, R., 2017, Chronic Wound Healing: A review of current management and treatments. *Adv. Ther.* 34, pp.599–610.
- Hartini IGAA., 2012, Topical application of ethanol extract of starfruit leaves (*Averrhoa bilimbi* L.) increases fibroblasts in gingival wounds healing of white male rats, *Indonesia Journal of Biomedical Science*, 6(1), pp.35-39.
- Haslam E., 1996, Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *J Nat Prod.* 59(2), pp205–215.
- Ibrahim N. I., Sok K.W., Isa N.M., Norazlina M., Kok-Yong C., Soelaiman I-N., dan Ahmad N. S., 2018, Wound healing properties of selected natural products. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 15, 2360.
- Just MJ, Recio MC, Giner RM, Cuéllar MJ, Máñez S, Bilia AR, Ríos J-L., 1998, Anti-inflammatory activity of unusual lupane saponins from *Bupleurum fruticosum*. *Planta medica*, 64, pp.404-407.
- Kim YS, Cho I-H, Jeong M-J, Jeong S-J, Nah SY, Cho Y-S, Kim SH, Go A, Kim SE, Kang SS, Moon CJ, Kim JC, Kim SH, Bae CS., 2011, Therapeutic effect of total ginseng saponin on skin wound healing, *Journal of ginseng research*, 35, pp.360-367.

- Kimura Y, Sumiyoshi M, Kawahira K, Sakanaka M., 2006, Effects of ginseng saponins isolated from Red Ginseng roots on burn wound healing in mice. *British journal of Pharmacology*, 148, pp.860-870.
- Kumar, K.A., Gousia, S., Anupama, M. dan Latha, J.N.L., 2013, A review on phytochemical constituents and biological assays of *Averrhoa bilimbi*. *International Journal of PHarmacy and PHarmaceutical Science Research*, 3(4), pp.136-139.
- Kupeli, Akkol E., U. Koca, I. S Pesin, and D. Yilmazer, 2011, Evaluation of the wound healing potential of *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae) by *in vivo* excision and incision models, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011:474026.
- Lansdown A. B. G., U. Mirastschijski, N. Stubbs, E. Scanlon, and M. S. Agren, 2007, Zinc in wound healing: theoretical, experi-mental, and clinical aspects, *Wound Repair and Regeneration*, 15(1) pp.2–16.
- MacKay D. and A. L. Miller, 2003, Nutritional support for wound healing, *Alternative Medicine Review*, 8(4), pp.359–377.
- Men SY, Huo QL, Shi L, Yan Y, Yang CC, Yu W, Liu BQ., 2020, Panax notoginseng saponins promotes cutaneous wound healing and suppresses scar formation in mice. *Journal of Cossmetic Dermatology*, 19(2), pp.529-534.
- Metelmann, H.R., Brandner, J.M., Schumann, H., Brossd, F., Hoffmann, M., Podmelle, F., 2012, Accelerating the aesthetic benefit of wound healing by triterpene. *J. Craniomaxillofac. Surg.*, 40, pp.150–154.
- Metelmann, H.R., Brandner, J.M., Schumann, H., Bross, F., Fimmers, R., Böttger, K., Scheffler, A., Podmelle, F., 2015, Accelerated reepithelialization by triterpenes: Proof of concept in the healing of surgical skin lesions. *Skin Pharmacol. Physiol*, 28.
- Meyer-Ingold W., 1993, Wound therapy: growth factors as agents to promote healing, *Trends in Biotechnology*, 11(9), pp.387–392.
- Muhammad and Veronique, 2015. Isolation of Triterpenes from Propolis (Bee Glue), *Bio-protocol*. 5(20):e1630.
- Natarajan V., N. Krithica, B., Madhan, P.K., Sehgal., 2013, Preparation and properties of tannic acid cross-linked collagen scaffold and its application in wound healing. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater*, 101, pp.560-567.
- Navarro P, Giner RM, Recio MC, Máñez S, Cerdá-Nicolás M, Ríos J-L., 2001, In vivo anti-inflammatory activity of saponins from *Bupleurum rotundifolium* L. *Life Sciences*, 68, pp.1199-1206.
- Ninan N., A. Forget, V.P. Shastri, N.H. Voelcker, A. Blencowe., 2016, Antibacterial and anti-inflammatory pH-responsive tannic acid-carboxylated agarose composite hydrogels for wound healing, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 8, pp.28511-28521.
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R. dan Anthony, S. 2009. *Averrhoa bilimbi* L.. pp.1–5. Kenya: Agroforestry Database.
- Patil AG, Koli SP, Patil DA., 2013, Pharmacognostical standardization and HPTLC fingerprint of *Averrhoa bilimbi* (L.) Fruits. *Journal of Pharmacy Research*, 6(2013), pp.145-150.

- Sakar M. K. and M. Tanker., 1991, *Phytochemical Analysis (Determination, Quantitative Analysis and Isolation)*, Ankara University, Faculty of Pharmacy, Ankara, Turkey.
- Samah A.R. , B.M. NaserEldin , Z.A Aisha., 2016, *In vivo* antibacterial and wound healing activities of *Acacia ehrenbergiana*, *Mediterr. J. Biosci.* 1(4), pp.147–152.
- Santana L. F., A. C. Inada, B. L. S. do Espirito., 2019, Nutraceutical potential of *Carica papaya* in metabolic syndrome, *Nutrients*, 11(7), pp.1608.
- Sharma A, Suryamani K, Gaganjot K and Inderbir S., 2021, Medicinal plants and their components for wound healing applications, *Future Journal of Pharmaceutical Sciences.* 7:5.
- Sharma S. P, Aithal K. S., K. K. Srinivasan, A. L. Udupa, V. Kumar, D. R. Kulkarni, 1990, Anti-inflammatory and wound healing activities of the crude alcoholic extracts and flavonoids of *Vitex leucoxylon*, *Fitoterapia*, 61, pp.263–265.
- Shetty S., S. Udupa, and L. Udupa., 2008, Evaluation of antioxidant and wound healing effects of alcoholic and aqueous extract of *Ocimum sanctum* Linn in rats, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 5(1), pp.95–101.
- Su X, Liu X, Wang S, Li B, Pan T, Liu D, Wang F, Diao Y, Li K., 2017, Wound-healing promoting effect of total tannins from *Entada phaseoloides* (L.) Merr. in rats. *Burns.* 43(4), pp.830-838.
- Suntar I.P., U. Koca, H. Keles, and A. E. Kupeli, 2011^a, Wound healing activity of *Rubus sanctus* Schreber (Rosaceae): preclinical study in animal models, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 2011: 816156.
- Suntar I.P., Ufuk K., E.K Akkol, Demet Y., dan Murat A., 2011^b. Assessment of Wound Healing Activity of the Aqueous Extracts of *Colutea cilicica* Boiss. & Bal. Fruits and Leaves. Hindawi Publishing Corporation *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 2011:758191.
- Teixeira D.S., Maria A.Z.F., Karen C., Sílvia D.O., Fernanda G.S., 2019. The topical effect of chlorhexidine and povidone-iodine in the repair of oral wounds. A review. *Stomatologija. Baltic Dental and Maxillofacial Journal*, 21, pp 35-41.
- Yan SW, Ramasamy R, Alithen NBM, Rahmat A., 2013, A Comparative Assessment of Nutritional Composition, Total Phenolic, Total Flavonoid, Antioxidant Capacity, and Antioxidant Vitamins of Two Types of Malaysian Underutilized Fruits (*Averrhoa bilimbi* and *Averrhoa carambola*). *International Journal of Food Properties*, 16(6), pp.1231– 1244.