



Efektivitas Gel Ekstrak Etanol 70% Daun Angrek *Oncidium Aliceara alice* terhadap Penyembuhan Luka Kulit Dorsum Tikus Sprague Dawley

Effectiveness of *Oncidium Aliceara alice* 70% Ethanol Extract Gel on Dorsum Wound Healing of Sprague Dawley Rat

Michele Liony Maria Onibala, Maria Ariska Happy Suntadi, Jovitta Theachrysilla Wiadji, Yustina Wanda Dwi Oktaviani, Yohanes Candra Gunawan, Stefani Santi Widhiastuti*

Program Studi Biologi, Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta, Yogyakarta, Indonesia

**E-mail: stefani.santi@uajy.ac.id*

Kata kunci:
Oncidium Aliceara alice;
Penyembuhan luka;
Sediaan gel;
Katekin

Keywords:
Oncidium Aliceara alice; Wound healing; Gel; Catechins

Received:
18-08-2022
Revised:
22-11-2022
Accepted:
09-01-2023

Jurnal Kefarmasian Indonesia,
2023;13(1):30-40

DOI:
<https://doi.org/10.22435/jki.v13i1.6211>

Abstrak

Luka merupakan bentuk kerusakan jaringan yang umumnya disebabkan oleh kontak fisik. Penyembuhan luka merupakan mekanisme kompleks dengan melibatkan proses biokimia dan bioseluler. Berbagai terapi dapat dilakukan untuk mempercepat proses penyembuhan luka, salah satunya dengan pengobatan menggunakan bahan alam. Salah satu tanaman yang berpotensi dalam penyembuhan luka adalah *Oncidium Aliceara alice*. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui kandungan fitokimia *Oncidium Aliceara alice* dan aktivitasnya dalam penyembuhan luka jika diformulasikan dalam bentuk sediaan gel. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan tahapan ekstraksi, uji kandungan fitokimia, formulasi gel, uji kualitas sediaan, dan uji aktivitas penyembuhan luka pada hewan uji. Formulasi gel dibuat dengan variasi konsentrasi ekstrak *Oncidium Aliceara alice* 2,5%, 5% dan 10%. Tikus *Sprague Dawley* jantan sebagai hewan uji diberi luka insisi pada bagian dorsum arah longitudinal axis sepanjang 3 cm. Perawatan luka dengan pemberian topikal Bioplacenton sebagai kontrol positif, gel basis sebagai kontrol negatif dan gel varian konsentrasi ekstrak sesuai kelompok perlakuan masing-masing. Berdasarkan penelitian, hasil uji fitokimia kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% *Oncidium Aliceara alice* mengandung flavonoid (katekin), tanin, steroid, dan saponin. Hasil terbaik tampak pada pengamatan hari ke-7 untuk kelompok perlakuan gel ekstrak 10% dengan tanda penutupan luka lebih sempurna daripada perlakuan bioplacenton.

Abstract

Wounds is a tissue damage that is generally caused by physical contact. Wound healing is a complex mechanism involving biochemical and biocellular processes. Various therapies can be done to speed up the wound healing process, one of which is treatment using natural ingredients. One of the plants that has the potential to heal wounds is *Oncidium Aliceara alice*. The purpose of this study was to determine the phytochemical content of *Oncidium Aliceara alice* and its activity in wound healing when it is formulated in a gel form. This research is experimental research with extraction stages, phytochemical assay, gel formulations, quality test, and wound healing activity tests in animals. The gel formulation was made with various concentrations of *Oncidium Aliceara alice* extract 2.5%, 5% and 10%. Male *Sprague Dawley* rats were given an incision wound on the dorsum of the longitudinal axis along 3 cm. Wound care by administering topical Bioplacenton as a positive control, base gel as a negative control and gel extract concentration variants according to each treatment group. Based on the research, the results of qualitative phytochemical tests showed that the 70% ethanol extract of *Oncidium Aliceara alice* contains flavonoids (catechins), tannins, steroids, and saponins. The best results were seen on the 7th day of observation for the 10% gel extract treatment group with more perfect signs of wound closure than the bioplacenton treatment.

PENDAHULUAN

Luka merupakan suatu gangguan yang menyebabkan putusnya kontinuitas jaringan akibat suatu celah pembedah atau cedera.¹ Luka terbuka merupakan luka akibat adanya kerusakan yang melibatkan membran mukosa atau kulit, yang dapat memungkinkan terjadinya pendarahan dan berisiko menyebabkan infeksi.² Penyembuhan luka adalah mekanisme kompleks dengan peran biokimia dan bioseluler yang bekerja secara beriringan. Proses penyembuhan luka terbagi menjadi 5 tahap yaitu, tahap homeostatis, inflamasi, migrasi, proliferasi, dan maturasi. Ketika terjadi pendarahan, sistem homeostatis akan aktif yang menginisiasi komponen eksudat, seperti faktor pembekuan darah. Homeostatis memiliki peran protektif yang membantu proses penyembuhan luka.³

Obat topikal untuk mempercepat pembentukan jaringan baru pada proses penyembuhan luka telah beredar di pasaran, namun mengandung antibiotik pada komposisinya, salah satunya adalah neomycin. Neomycin menjadi kemungkinan penyebab ototoksisitas melalui toksisitas sistemik setelah digunakan secara topikal. Ototoksisitas merupakan degenerasi seluler koklea atau jaringan vestibular yang berdampak pada penurunan fungsional.⁴ Antibiotik chloramphenicol, neomycin dan tetracycline juga perlu dihindari penggunaannya pada masa kehamilan.⁵ Penggunaan antibiotik dalam jangka panjang juga dapat meningkatkan resiko resistensi. Untuk meminimalisir permasalahan yang dapat timbul dari penggunaan obat topikal yang mengandung antibiotik, maka dapat dicari alternatif obat topikal dengan kandungan bahan aktif dari alam.

Bahan alami yang diduga berpotensi mempercepat penyembuhan luka salah satunya adalah *Oncidium Aliceara alice*. Tanaman anggrek *Oncidium Aliceara alice* telah banyak dibudidayakan, namun belum banyak penelitian terkait manfaat tanaman

ini di Indonesia. Penelitian dan pemanfaatan tanaman anggrek *Oncidium Aliceara alice*, khususnya di bidang kesehatan akan menjadi awal baru untuk pelestarian dan pemanfaatannya, selain menjadi tanaman hias. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan fitokimia dalam ekstrak etanol 70% daun *Oncidium Aliceara alice*, mengetahui kemampuan sediaan gel ekstrak etanol 70% daun *Oncidium Aliceara alice* dalam penyembuhan luka, serta mengetahui formula gel yang memberikan efek penyembuhan terbaik.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian ekeperimental murni yang dilakukan di Laboratorium Teknobia Industri dan Laboratorium Bioassay, Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta pada bulan Juni-Agustus 2021. Sampel daun *Oncidium Aliceara alice* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Jaya Orchid, Kecamatan Sleman, Kota Yogyakarta dengan kriteria daun berwarna hijau tua tanpa adanya kerusakan fisiologis. Determinasi sampel daun *Oncidium Aliceara alice* dilakukan dengan pengamatan morfologi di Laboratorium Teknobia Industri, Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta.

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus *Sprague Dawley* jantan berusia 7-8 minggu dengan berat 100-200 g, sehat, dengan rambut putih cerah dan tidak mengalami cedera. Persetujuan etik penggunaan hewan uji diperoleh dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan, Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana dengan nomor: 1340/C.16/FK/2021.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan adalah Oven (Mettler IN 110), Shaking Incubator (JSSI-300 C), Rotary Evaporator (IKA[®] RV 10), *Thin Layer Chromatography*/TLC (Merck), grinder, blender, dan alat gelas.

Bahan yang digunakan adalah potongan daun *Oncidium Aliceara alice*, HCl (Merck), H₂SO₄ (Merck), FeCl₃ (Merck), kloroform (Merck), ammonia (Merck), acetone (Merck), etanol 70% (Merck), plat silika (Camag), pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, pereaksi Wagner, TEA (Merck), gliserin (Merck), propilen glikol (Merck), karbopol (Lubrizol), nipagin (Merck), nipasol (Merck), xylazine (Merck), ketamine hydrochloride (Merck), sodium barbiturate (Merck), dan Bioplacenton⁰. Hewan uji adalah tikus *Sprague Dawley* jantan.

Prosedur kerja

Pembuatan Serbuk Daun *Oncidium Aliceara alice*

Daun *Oncidium Aliceara alice* sebanyak 200 g dicuci pada air mengalir hingga bersih dan dipotong kecil-kecil. Potongan daun yang sudah bersih dikeringkan dalam oven 50°C selama 48 jam, kemudian dihaluskan dengan grinder dan blender hingga menjadi serbuk dan disaring dengan jaring mesh ukuran 60 menjadi serbuk simplisia yang halus.⁶

Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Daun *Oncidium Aliceara alice* dengan Modifikasi

Serbuk simplisia daun *Oncidium Aliceara alice* dimaserasi dengan cara 46,2 g serbuk simplisia dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan direndam dalam 924 mL etanol 70%, kemudian diinkubasi dalam *shaking incubator* dengan kecepatan 40 rpm selama 24 jam. Remaserasi dilakukan 1x24 jam sebanyak 2 kali. Pemekatan maserat menjadi rendemen pekat dilakukan menggunakan *rotary evaporator* 30 rpm pada suhu 50°C.⁶

Hewan Uji dan Perhitungan Jumlah Sampel Penelitian

Sebanyak 25 ekor tikus dibagi ke dalam 5 kelompok yaitu kelompok kontrol positif (uji dengan produk komersial Bioplacenton), kontrol negatif (uji dengan gel tanpa ekstrak (hanya basis)), dan perlakuan dengan formula 1 (2,5%

ekstrak), 2 (5% ekstrak), dan 3 (10% ekstrak). Jumlah hewan uji dihitung dan ditentukan dengan rumus Federer dan rumus koreksi untuk mengantisipasi terjadinya *drop out*.

Perawatan Hewan Uji

Hewan uji dirawat di Laboratorium Pengujian Hewan Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Pakan AD2 diberikan sebanyak 10% berat badan hewan uji dan minuman berupa akuades yang diberikan *ad libitum*. Suhu ruangan diatur konstan 25°C dengan pencahayaan 12 jam gelap dan 12 jam terang. Pemberian pakan dan pembersihan kandang dilakukan setiap hari.

Uji Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Daun *Oncidium Aliceara alice*

Uji Saponin

Uji saponin ekstrak hidroalkoholik daun *Oncidium Aliceara alice* dilakukan dengan 0,1 g sampel ditambahkan air dan dipanaskan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian tabung reaksi kemudian tabung reaksi digojog kuat selama 10 detik dan didiamkan selama 10 menit. Hasil positif saponin ditandai oleh adanya buih yang stabil.⁷

Uji Flavonoid

Uji flavonoid ekstrak etanol 70% daun *Oncidium Aliceara alice* dilakukan dengan dua metode yaitu uji flavonoid I dan uji flavonoid II. Uji flavonoid I dilakukan dengan 1 g ekstrak ditambahkan akuades lalu dipanaskan, kemudian disaring dan filtrat yang diperoleh ditambahkan serbuk magnesium, HCl pekat dan amilakohol. Hasil positif uji flavonoid I ditandai oleh adanya warna merah, kuning atau jingga. Uji flavonoid II dilakukan dengan 1 g ekstrak ditambahkan akuades lalu disaring dan filtrat yang diperoleh ditambahkan H₂SO₄. Hasil positif ditunjukkan oleh adanya warna merah, kuning atau jingga pada larutan uji.^{8,9}

Tabel 1. Pembagian Kelompok Hewan Uji

No	Kelompok	Keterangan
1.	K1	Basis gel + ekstrak daun <i>Oncidium Aliceara alice</i> 2,5%
2.	K2	Basis gel + ekstrak daun <i>Oncidium Aliceara alice</i> . 5%
3.	K3	Basis gel + ekstrak daun <i>Oncidium Aliceara alice</i> 10%
4.	Kontrol positif	Bioplacenton®
5.	Kontrol negatif	Basis gel

Uji Tanin

Uji tanin ekstrak etanol 70% daun *Oncidium Aliceara alice* dilakukan dengan 0,1 g ekstrak ditambahkan air panas kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh lalu ditambahkan FeCl₃ 1%, kemudian diamati. Hasil positif ditunjukkan oleh adanya warna hijau kehitaman.¹⁰

Uji Alkaloid

Uji alkaloid ekstrak etanol 70% daun *Oncidium Aliceara alice* dilakukan menggunakan 3 reagen yaitu reagen Mayer, reagen Dragendorf, dan reagen Wagner. Sebanyak 0,1 g ekstrak ditambahkan dengan kloroform dan amonia, kemudian disaring dan filtratnya ditambahkan H₂SO₄ 2M hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan asam lalu diambil dan dibagi ke dalam 3 tabung reaksi berbeda, kemudian masing-masing tabung ditambahkan reagen Dragendorf (Tabung I), reagen Mayer (Tabung II), dan reagen Wagner (Tabung III). Hasil positif alkaloid ditunjukkan oleh adanya endapan merah jingga pada perlakuan reagen Dragendorf, endapan putih pada reagen Mayer, dan endapan coklat pada reagen Wagner¹¹ dengan modifikasi.

Uji Triterpenoid dan Steroid

Uji triterpenoid dan steroid ekstrak etanol 70% daun *Oncidium Aliceara alice* dilakukan dengan 0,2 g ekstrak ditambahkan akuades, kemudian disaring. Filtrat yang diperolehkan diletakkan pada droplate dan ditambahkan larutan Liebermann Burchard. Hasil positif triterpenoid ditandai oleh larutan berwarna merah atau ungu, sedangkan hasil steroid ditandai oleh larutan berwarna hijau.^{8,12}

Uji Fitokimia dengan Thin Layer Chromatography (TLC)

Uji fitokimia ekstrak etanol 70% daun *Oncidium Aliceara alice* menggunakan metode *Thin Layer Chromatography* (TLC) dengan fase gerak TLC yaitu *acetone, chloroform*, dan *aquadest* dengan perbandingan 80:20:10. Hasil separasi fitokimia pada TLC dilihat di bawah sinar UV 366 nm. Identifikasi senyawa flavonoid (katekin) lalu dilakukan dengan menghitung nilai *Retention factor* (Rf) berdasarkan *band* yang terbentuk pada plat silica.¹³

Pembuatan Sediaan Gel

a. Rancangan Formula

Tabel 2. Rancangan Formula Gel Ekstrak Etanol 70% Daun *Oncidium Aliceara alice* dengan Modifikasi²¹

Bahan	Kontrol Negatif	Formula I (F1)	Formula II (FII)	Formula III (FIII)
Ekstrak <i>Oncidium Aliceara alice</i> (g)	-	2,5	5	10
Karbopol 940 (g)	0,5	0,5	0,5	0,5
Trietanolamin (g)	0,5	0,5	0,5	0,5
Gliserin (ml)	5	5	5	5
Propilen glikol (ml)	5	5	5	5
Metil paraben (g)	0,2	0,2	0,2	0,2
Propil paraben (g)	0,2	0,2	0,2	0,2
Aquadest (ml)	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100

b. Pembuatan Formula

Karbopol 940 dikembangkan dalam air aquadest hangat. TEA ditambahkan dalam karbopol sedikit demi sedikit dan aduk sampai homogen. Gliserin ditambahkan ke dalam campuran karbopol dan TEA sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga homogen. Dalam wadah berbeda, nipagin dilarutkan dalam propilen glikol, kemudian ditambahkan nipasol dan aduk hingga larut. Campurkan larutan propilen glikol ke dalam campuran karbopol, aduk hingga homogen. Tambahkan ekstrak sesuai penimbangan pada formula I, II, dan III, kemudian aduk hingga homogen.

Uji Sifat Fisik Sediaan Gel

Uji sifat fisik sediaan gel terdiri dari uji organoleptis, uji pH, daya sebar, dan viskositas. Uji organoleptis meliputi pengamatan bentuk, warna, aroma, dan homogenitas.¹⁴ Sediaan gel juga diuji stabilitas dengan *cycling test* selama 6 siklus. Setiap siklusnya sediaan gel disimpan pada suhu 4 °C selama 24 jam dan dilanjutkan penyimpanan pada suhu 40 °C selama 24 jam. Parameter yang diamati pada *cycling test* yaitu nilai pH, daya sebar, daya lekat, dan homogenitas sediaan gel. Uji organoleptis dilakukan bersamaan dengan *cycling test* dan mengamati beberapa parameter yaitu bentuk, warna, dan aroma sediaan gel. Uji viskositas dilakukan untuk mengetahui kekentalan dari sediaan gel yang dibuat.

Pengujian Gel Ekstrak Etanol 70% Daun *Oncidium Aliceara alice* ke Hewan Uji

Hewan uji yang telah diaklimatisasi selama 2 minggu dianestesi dengan ketamine HCl (100 mg/kg BB) dan xylazine (20 mg/kg BB) secara injeksi intramuskular. Pembuatan luka insisi pada area dorsum hewan uji yang telah dicukur bulunya. Luka insisi dibuat dengan arah *longitudinal axis* sepanjang 3 cm (kedalaman *subcutaneous layer*) dengan menggunakan pisau *scalpel*. Luka insisi diolesi dengan gel sesuai perlakuan secara topikal sebanyak 2 kali sehari selama 7

hari pukul 09.00 WIB dan 15.00 WIB. Area luka ditutup dengan kapas steril dan *hipafix* serta disediakan pakan AD2 sebanyak 10% berat badan dan minum akuades secara *ad libitum* pada kandang.¹⁵ Pengamatan penyembuhan luka pada hewan uji diamati selama 7 hari, pencatatan hasil pengamatan dilakukan pada hari ke-0, hari ke-3, dan hari ke-7. Visualisasi penyembuhan luka pada hewan uji dilakukan dengan melihat luka yang mulai menutup dan menunjukkan adanya perbaikan jaringan pada luka. Di akhir penelitian, hewan uji diterminasi dengan diinjeksi sodium barbiturate 800 mg/kg BB dan dimusnahkan dengan cara dibakar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Fitokimia Ekstrak Hidroalkoholik *Oncidium Aliceara alice*.

Analisis fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada ekstrak etanol 70% daun *Oncidium Aliceara alice*. Uji fitokimia yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi uji alkaloid, tanin, saponin, flavonoid I dan flavonoid II, serta steroid dan triterpenoid. Berdasarkan hasil uji fitokimia, ekstrak etanol 70% daun *Oncidium Aliceara alice* mengandung senyawa golongan tanin, saponin, steroid, dan flavonoid, serta tidak mengandung alkaloid dan triterpenoid.

Penelitian dengan anggrek *Oncidium Aliceara alice* belum pernah dilakukan sebelumnya, sehingga hasil penelitian ini tidak dapat dibandingkan dengan penelitian yang menggunakan spesies yang sama. Penelitian dengan spesies *Oncidium* yang berbeda menunjukkan hasil penelitian yang sedikit berbeda pula. De Gaspi dkk.¹⁸ dalam penelitiannya yang menggunakan daun *Oncidium flexuosum* mengungkapkan bahwa ekstrak daun *Oncidium flexuosum* mengandung senyawa fenolik seperti flavonoid dan tanin, serta mengandung triterpenoid, namun tidak terdeteksi adanya alkaloid total maupun saponin. Perbedaan hasil penelitian ini dapat disebabkan karena perbedaan spesies anggrek yang digunakan

dalam penelitian, usia dan tempat tumbuh anggrek, proses ekstraksi, serta jenis pelarut yang digunakan.

Hasil positif tanin pada penelitian ini ditunjukkan oleh warna larutan yang menjadi kuning kehijauan. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa perubahan warna tersebut terjadi karena adanya reaksi reduksi.¹⁰ Dalam penelitian yang dilakukan oleh Chen dkk.²² yang menguji pengaruh asam tanat terhadap penyembuhan luka pada bagian kutan kulit tikus, diungkapkan bahwa asam tanat berpotensi sebagai agen penyembuhan luka. Senyawa ini dapat mempercepat proses penyembuhan luka melalui proses modulasi sitokin inflamasi dan *growth factor*, serta mengaktivasi *ERK 1/2 signaling pathways*. Jumlah faktor pertumbuhan seperti *fibroblast growth factor* (FGF), *transforming growth factor-beta*, dan *vascular endothelial growth factor* meningkat pada kelompok yang diberi asam tanat, sedangkan jumlah interleukin-1 (IL-1) dan IL-6 turun. Hasil penelitian serupa juga diungkapkan oleh Su dkk.²³ yang menyatakan bahwa total tanin dari *Entada phaseoloides* (L.) Merr. dapat mempercepat proses penutupan luka pada kulit tikus. Efek ini kemungkinan disebabkan oleh aktivitas antibakterial dan efek proliferasi sel NIH3T3 yang dimiliki oleh tanin.

Ekstrak daun *Oncidium Aliceara alice* juga terbukti mengandung saponin yang ditunjukkan oleh adanya busa pada larutan uji. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa saponin memiliki sifat yang sangat larut dalam air, membentuk bisa koloidal, serta memiliki sifat deterjen yang baik sehingga hasil positif uji saponin ditunjukkan oleh adanya busa yang terbentuk.⁷ Dalam penelitian yang dilakukan oleh Razika dkk.²⁶ disebutkan bahwa saponin yang diekstrak dari daun *Urtica dioica* L. dapat mempercepat proses penyembuhan luka eksisi pada tikus. Hal ini dapat disebabkan karena saponin memiliki aktivitas antioksidan. Selain itu, saponin dapat memicu deposisi

kolagen pada lokasi luka yang dapat mempercepat penutupan luka.

Uji steroid pada ekstrak etanol 70% daun *Oncidium Aliceara alice* juga menunjukkan hasil positif. Berbeda dari senyawa fitokimia yang lain, steroid khususnya kortikosteroid memiliki efek antagonis dalam proses penyembuhan luka. Wang dkk.²⁷ dalam penelitiannya mengemukakan bahwa kortikosteroid dapat memperlambat proses penyembuhan luka dengan cara menghambat aktivitas pembentukan kolagen. Pernyataan serupa juga disampaikan oleh Wicke dkk.²⁹ yang menyebutkan bahwa kortikosteroid dapat menurunkan konsentrasi *transforming growth factor-β* (TGF-β) dan *insulin-like growth factor-I* (IGF-I), serta deposisi jaringan pada tempat luka, yang memicu turunnya produksi kolagen dan menyebabkan penyembuhan luka menjadi terhambat.

Sampel ekstrak etanol 70% daun *Oncidium Aliceara alice* juga diuji kandungan alkaloidnya. Suatu sampel disebut positif mengandung alkaloid jika membentuk endapan putih dengan penambahan reagen Mayer, endapan jingga dengan reagen Dragendorf, serta endapan kecoklatan dengan reagen Wagner.¹¹ Hasil penelitian terhadap ekstrak etanol 70% *Oncidium Aliceara alice* menunjukkan hasil negatif pada uji alkaloid yang dibuktikan dengan tidak adanya endapan yang muncul pada ketiga larutan yang diberi reagen Mayer, Dragendorf, dan Wagner.

Hasil positif pada uji flavonoid I ditunjukkan oleh warna larutan yang kuning. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa hasil uji flavonoid menggunakan magnesium dan asam klorida akan mereduksi inti benzopiron pada struktur flavonoid sehingga terbentuk warna kuning, jingga hingga kemerahan.⁽⁸⁾ Hasil positif pada uji flavonoid II ditunjukkan oleh larutan yang berwarna jingga. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa hasil positif uji flavonoid menggunakan H₂SO₄

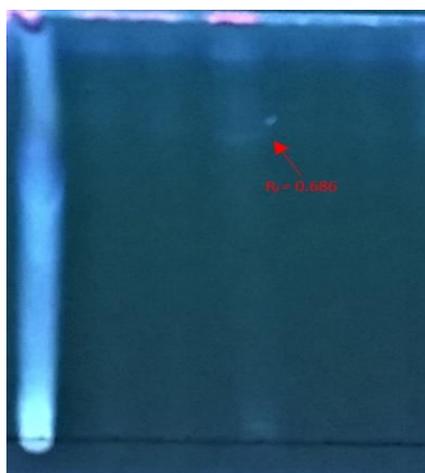
ditunjukkan oleh larutan yang berubah menjadi warna kuning, merah, atau kecoklatan.⁹ Flavonoid memiliki banyak aktivitas seperti antimikrobia, antioksidan, antikanker, antiinflamasi, dan penyembuhan luka. Dalam proses penyembuhan luka, flavonoid berpengaruh pada proses inflamasi, angiogenesis, reepitelisasi, dan stress oksidatif. Senyawa ini menunjukkan aktivitasnya terhadap makrofag, fibroblas, dan sel endotelial dengan memediasi pelepasan dan ekspresi dari TGF- β 1, VEGF, Ang, Tie, Smad 2 and 3, and IL-10. Selanjutnya, senyawa ini dapat menurunkan sitokin inflamasi, NF κ B, ROS dan fenotipe M1 yang berdampak pada percepatan proses penyembuhan luka²⁴.

Pada penelitian ini juga dilakukan identifikasi katekin yang merupakan golongan flavonoid. Katekin telah banyak dilaporkan atas aktivitasnya dalam penyembuhan luka. Katekin disebutkan mampu mempercepat proses penyembuhan

luka dengan memodulasi proliferasi fibroblast.²⁵ Identifikasi katekin menggunakan metode *Thin Layer Chromatography* (TLC) dengan standar yang digunakan adalah katekin. Sampel diuji dengan *acetone*, *chloroform*, dan *aquadest* menunjukkan terbentuknya satu *band* berwarna biru muda pada pengamatan berwarna biru muda pada pengamatan di bawah sinar UV 366 nm dengan jarak tempuh komponen sebesar 5,8 cm dan jarak tempuh pelarut sebesar 8,6 cm sehingga diperoleh *Retention factor* (Rf) pada garis berwarna biru muda sebesar 0,686 (Gambar 1.) Hasil identifikasi pada *silica gel* seperti tertera pada Gambar 1, dan garis berwarna biru ditunjukkan pada anak panah merah. Hasil tersebut sesuai dengan hasil penelitian, yang mengidentifikasi senyawa standar flavonoid (katekin) pada TLC dengan perbandingan pelarut serupa dihasilkan nilai warna *band* biru muda dan nilai Rf sebesar 0.68.¹³

Tabel 3. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Daun *Oncidium Aliceara alice*

Uji	Hasil	Standar	Kesimpulan
Saponin	Terbentuk busa 3 cm	Terbentuk buih yang stabil	Positif
Flavonoid I	Warna jingga pekat	Warna merah, kuning, atau jingga	Positif
Flavonoid II	Warna jingga	Warna merah, kuning atau jingga	Positif
Tanin	Warna hijau kehitaman	Warna hijau kehitaman	Positif
Alkaloid	Dragendroff: tidak terbentuk endapan	Dragendroff: endapan merah jingga	Negatif
	Mayer: tidak terbentuk endapan	Mayer: endapan putih	Negatif
Steroid	Larutan warna hijau	Larutan berwarna hijau	Positif
Triterpenoid	Larutan berwarna merah	Larutan berwarna merah/ungu	Negatif



Gambar 1. Identifikasi katekin menggunakan *Thin Layer Chromatography* (TLC)

Uji Sifat Fisik Sediaan Gel Ekstrak Etanol 70% Daun *Oncidium Aliceara alice*

Hasil uji sifat sediaan gel ekstrak etanol 70% *Oncidium Aliceara alice* menunjukkan semua formula memenuhi standar organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar, dan viskositas. Sediaan gel juga diuji stabilitas dengan *cycling test* untuk memastikan bahwa sediaan memiliki sifat yang sama setelah sediaan dibuat dan masih memenuhi kriteria selama penyimpanan.¹⁹ Uji stabilitas dalam penelitian ini meliputi uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH, dan

uji daya sebar sediaan gel yang dilakukan selama 6 siklus. Uji organoleptis dilakukan untuk mengamati sediaan gel secara visual yang meliputi bentuk, warna dan aroma.²⁰ Ketidakstabilan fisik dapat ditunjukkan dengan adanya pemucatan atau munculnya warna, timbul bau, perubahan atau pemisahan fase, sineresis, perubahan konsistensi, terbentuknya gas, maupun perubahan lainnya. Berdasarkan hasil pengamatan organoleptis terdapat gel ekstrak etanol 70% *Oncidium Aliceara alice* selama 6 siklus, diperoleh ketiga formula tidak menunjukkan adanya perubahan dari bentuk, warna, dan aroma. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan gel stabil dalam penyimpanan suhu rendah (4 °C) dan suhu tinggi (40 °C).²⁰

Berdasarkan hasil uji stabilitas selama 6 siklus, ketiga formula sediaan gel ekstrak daun *Oncidium Aliceara alice* memenuhi kriteria gel yang baik, yaitu homogen, dengan nilai pH dan daya sebar yang memenuhi kriteria yang dipersyaratkan. Sediaan gel dapat dikatakan homogen jika terdapat persamaan warna dan tidak ditemukan partikel yang berbeda pada sediaan gel.¹⁹

Nilai pH sediaan gel yang disarankan adalah nilai pH yang mendekati pH kulit yaitu sekitar 4,5-6,5. Ketiga formula memiliki rata-rata pH sekitar 6,1-6,5 sehingga masih masuk rentang pH yang dipersyaratkan. pH yang terlalu asam dikhawatirkan dapat mengiritasi kulit, sedangkan jika pH terlalu basa maka dapat menyebabkan kulit menjadi kering.

Daya sebar sediaan berpengaruh terhadap efektivitas pelepasan zat aktif di

area yang diobati. Jika daya sebar kecil, maka ada kemungkinan gel sulit tersebar merata sehingga tidak semua area yang ditarget terpapar oleh zat aktif. Sedangkan daya sebar yang terlalu tinggi kurang menguntungkan karena dapat menyebabkan konsentrasi zat aktif pada area paparan terlalu sedikit karena sediaan terlalu tipis teroles di area luka.²⁸ Nilai daya sebar yang baik yaitu sekitar 5-7 cm, di mana semakin besar daya sebar yang diberikan maka kemampuan zat aktif untuk menyebar dan semakin luas kontak sediaan dengan kulit. Ketiga formula memiliki rata-rata daya sebar pada kisaran 5,03–5,43 sehingga masih memenuhi kriteria yang dipersyaratkan. Uji viskositas dilakukan untuk mengetahui kekentalan sediaan gel yang dibuat. Viskositas sediaan dapat mempengaruhi daya sebar, dimana semakin kental sediaan maka daya sebar semakin kecil. Sebaliknya, semakin kecil viskositas sediaan, maka daya sebar semakin besar. Nilai viskositas yang baik adalah berkisar antara 6.000-50.000 cP. Viskositas gel dapat dipengaruhi oleh karbopol yang digunakan sebagai basis gel dalam sediaan. Dalam sistem gel, karbopol bertanggung jawab membentuk matriks gel. Penyimpanan jangka panjang dapat merusak matriks gel tersebut dan menyebabkan perubahan pada viskositas gel.²⁸ Berdasarkan hasil penelitian, ketiga formula sediaan gel ekstrak etanol 70 % daun *Oncidium Aliceara alice* masih memenuhi kriteria sediaan gel yang baik yaitu berkisar antara 7.400-12.240 cP.

Tabel 4. Hasil Uji Stabilitas Sifat Fisik Sediaan Gel Ekstrak Etanol 70% Daun *Oncidium Aliceara alice* selama 6 Siklus

Evaluasi	Kriteria	Formula 1	Formula 2	Formula 3
Bentuk	Semisolid	Semisolid	Semisolid	Semisolid
Warna	Hijau kecoklatan	Hijau kecoklatan	Hijau kecoklatan	Hijau kecoklatan
Aroma	Khas ekstrak daun	Khas ekstrak daun	Khas ekstrak daun	Khas ekstrak daun
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
Rata-rata pH	4,5 - 6,5	6,50 ± 0,13	6,10 ± 0,31	6,15 ± 0,05
Rata-rata Daya Sebar (cm)	5 - 7	5,03 ± 0,41	5,43 ± 0,45	5,03 ± 0,31
Viskositas (cP)	6.000-50.000	12.240	7.762	7.400

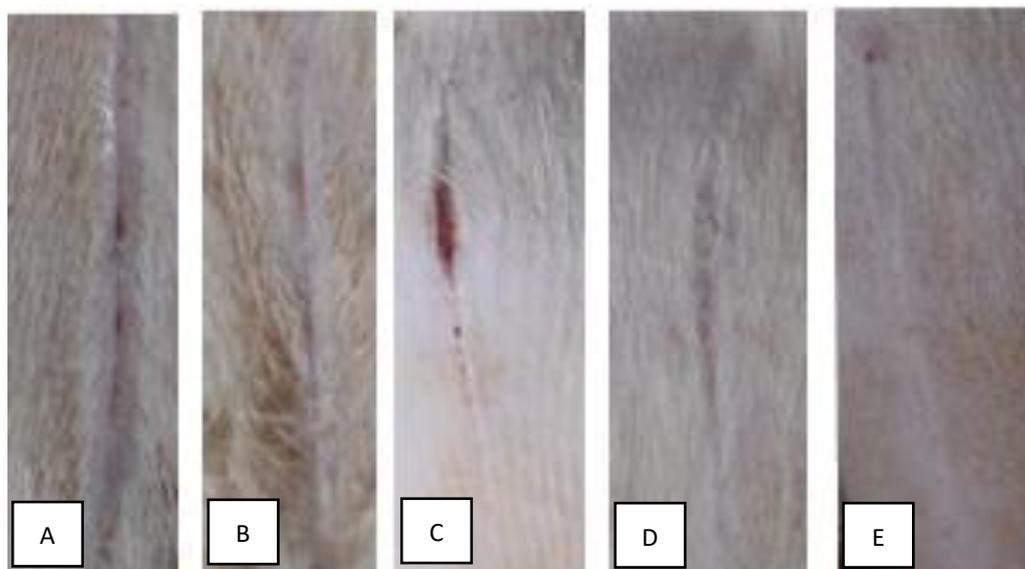
ekstrak etanol 70 % daun *Oncidium Aliceara alicae*, dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang ditambahkan dapat menurunkan viskositas gel yang terbentuk.

Aktivitas penyembuhan luka pada kulit hewan uji

Pembuatan luka insisi dilakukan hingga kedalaman *subcutaneous layer*. Luka kemudian diberi perlakuan dengan mengoleskan gel ekstrak etanol 70% *Oncidium Aliceara alicae* secara topikal sebanyak 2 kali sehari, yaitu pada pukul 09.00 WIB dan 15.00 WIB. Pengamatan dilakukan setiap hari dan pencatatan hasil pengamatan dilakukan pada hari ke-0, 3, 7. Perbedaan hasil

proses penutupan luka pada setiap kelompok perlakuan sangat tampak pada hari ke-7.

Hasil penelitian menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak pada sediaan gel, maka semakin baik proses penutupan lukanya. Kelompok perlakuan dengan gel ekstrak *Oncidium Aliceara alicae* 10% menunjukkan penutupan luka yang paling baik dibandingkan kelompok perlakuan lain, kontrol negatif, dan kontrol positif (Gambar 2). Hasil penutupan luka terbaik pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak tertinggi menunjukkan pentingnya senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol 70% daun *Oncidium Aliceara alicae*.



Gambar 2. Penutupan luka hari ke-7 pasca perlakuan.

(A) Kontrol negatif (gel basis); (B) Kontrol positif (Bioplacenton®); (C) Perlakuan gel ekstrak 2.5%; (D) Perlakuan gel ekstrak 5%; (E) Perlakuan gel ekstrak 10%.

Tabel 5. Hasil Pengukuran Penutupan Luka hari ke-7 Pasca Perlakuan

No	Perlakuan	Panjang Luka (cm)		Panjang Perbaikan Luka (cm)
		Hari ke-0	Hari ke-7	
1.	Kontrol Negatif (gel tanpa ekstrak)	3,00 ± 0,00	1,70 ± 0,10 ^a	1,3 ± 0,10 ^a
2.	Kontrol Positif (Bioplacenton)	3,00 ± 0,00	0,76 ± 0,57 ^d	2,24 ± 0,57 ^d
3.	K1 (gel dengan ekstrak 2,5%)	3,00 ± 0,00	1,48 ± 0,08 ^{ab}	1,52 ± 0,08 ^{ab}
4.	K2 (gel dengan ekstrak 5%)	3,00 ± 0,00	1,14 ± 0,11 ^{bc}	1,86 ± 0,11 ^{bc}
5.	K3 (gel dengan ekstrak 10%)	3,00 ± 0,00	0,12 ± 0,18 ^c	2,88 ± 0,18 ^c

Keterangan: angka dengan huruf berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan tingkat kepercayaan 95%

KESIMPULAN

Penelitian dengan ekstrak etanol 70% daun *Oncidium Aliceara alice* belum pernah dilakukan sebelumnya. Ekstrak etanol 70% daun *Oncidium Aliceara alice* mengandung flavonoid, tanin, steroid, dan saponin. Sediaan gel ekstrak etanol 70% daun *Oncidium Aliceara alice* berpotensi dalam penyembuhan luka dengan formulasi sediaan gel dengan efek penyembuhan terbaik yaitu Formula 3 dengan kandungan ekstrak daun *Oncidium Aliceara alice* sebesar 10%. Selanjutnya dapat dilakukan uji histokimia untuk melihat proses regenerasi kulit yang terjadi, serta dapat dilakukan pengujian pada bentuk luka yang lain, antara lain luka bakar atau iritasi pada kulit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan terutama kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi Republik Indonesia atas pendanaan yang diberikan di bawah Program Kreativitas Mahasiswa Pendanaan 2021.

DAFTAR RUJUKAN

1. Kartika RW, Bedah B, Paru J, Luka AP. Perawatan Luka Kronis dengan Modern Dressing. *CDK Journal*. 2015;42(7):546–50.
2. Sakum, Hartoyo M, Utomo TA. Pengaruh Pengelolaan Teknik Aseptik Pada Penanganan Luka Terbuka Stadium II-III Terhadap Kejadian Infeksi Di Rumah Sakit Umum Daerah Sunan Kalijaga Demak. *E-journal Poltekkes*. 2013;9(1) 474–81.
3. Purnama H, Sriwidodo, Ratnawulan S. Review Sistematis: Proses Penyembuhan dan Perawatan Luka. *Farmaka*. 2017;15(2):251–6. <https://doi.org/10.24198/jf.v15i2.13366.g6184>.
4. Ganesan P, Schmiedge J, Manchaiah V, Swapna S, Dhandayutham S, Kothandaraman PP. Ototoxicity: A challenge in diagnosis and treatment. *J Audiol Otol*. 2018;22(2):59–68. <https://doi.org/10.7874/jao.2017.0036>.
5. Chawla S, Chaudhary T, Aggarwal S, Maiti GD, Jaiswal K, Yadav J. Ophthalmic considerations in pregnancy. *Med J Armed Forces India*. 2013;63(3):278–84. <https://doi.org/10.1016/j.mjafi.2013.03.0>.
6. Suhendar U, Utami NF, Sutanto D, Nurdayanty SM. Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi pada Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Iler (*Plectranthus scutellarioides*). *Fitofarmaka J Ilm Farm*. 2020; 10(1):76-83.
7. Nurzaman F, Djajadisatra J, Elya B. Identifikasi Kandungan Saponin dalam Ekstrak Kamboja Merah (*Plumeria rubra* L.) dan Daya Surfaktan dalam Sediaan Kosmetik. *J Kefarmasian Indones*. 2018;8(2):85–93.
8. Illing I, Safitri W, Erfiana. Uji Fitokimia Ekstrak Buah Degen Ilmiati Illing, Wulan Safitri dan Erfiana. *J Din*. 2017;8(1):66–84.
9. Akcaya JB, Hidayat B, Yusro F, Mariani Y, Kehutanan F, Tanjungpura U, et al. Kemampuan Ekstrak Kulit Kayu Dua Spesies *Macaranga* Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Enterococcus Faecalis* the Ability of Two Species of *Macaranga* Wood Bark Extracts To Inhibit the Growth of Bacteria *Enterococcus Faecalis*. 2019;5(2):95–109.
10. Indarto I. Uji Kualitatif Dan Kuantitatif Golongan Senyawa Organik Dari Kulit Dan Kayu Batang Tumbuhan *Artocarpus Dadah Miq*. *J Ilm Pendidik Fis Al-Biruni*. 2015;4(1):75–84.
11. Prayoga, dkk. Antioksidan Ekstrak Kasar Daun Pepe (*Gymnema Reticulatum* Br.) Pada Berbagai Jenis Pelarut. *J Ilmu dan Teknol Pangan*. 2019;8(2):111–21.
12. Nugrahani R, Andayani Y, Hakim A. Skrining Fitokimia dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L) dalam Sediaan Serbuk. *J Penelit Pendidik IPA*. 2016;2(1):96-103.
13. Ligor M, Kornysova O, Maruška A, Buszewski B. Determination of flavonoids in tea and Rooibos extracts by TLC and HPLC. *J Planar Chromatogr - Mod TLC*. 2008;21(5):355–60.

14. Irianto IDK, Purwanto P, Mardan MT. Aktivitas Antibakteri dan Uji Sifat Fisik Sediaan Gel Dekokta Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Sebagai Alternatif Pengobatan Mastitis Sapi. *Maj Farm*. 2020;16(2):202.
15. Petersen H, Tavakoli F, Kruber S, Münscher A, Gliese A, Hansen NO, et al. Comparative study of wound healing in rat skin following incision with a novel picosecond infrared laser (PIRL) and different surgical modalities. *Lasers Surg Med*. 2016;48(4):385–91.
16. Kim E, Hwang K, Lee J, Han SY, Kim EM, Park J, et al. Skin protective effect of epigallocatechin gallate. *Int J Mol Sci*. 2018;19(1):1–14.
17. Han SY, Kim E, Hwang K, Ratan ZA, Hwang H, Kim EM, et al. Cytoprotective effect of epigallocatechin gallate (EGCG)-5'-O- α -glucopyranoside, a novel EGCG derivative. *Int J Mol Sci*. 2018;19(5).
18. De Gaspi FODG, Foglio MA, De Carvalho JE, Santos GMT, Testa M, Passarini JR, et al. Effects of the topical application of hydroalcoholic leaf extract of *Oncidium flexuosum* Sims. (Orchidaceae) and microcurrent on the healing of wounds surgically induced in Wistar rats. *Evidence-based Complement Altern Med*. 2011;2011.
19. Charissa, M, Djajadisastra J, Elya B. Uji aktivitas antioksidan dan penghambatan tirosinase serta uji manfaat gel ekstrak kulit batang taya (*Nauclea subdita*) terhadap kulit. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 2016;6(2):98-107.
20. Indriaty S. Formulasi Dan Uji Stabilitas Gel Antiaging Dari Kombinasi Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*) Dan Lendir Bekicot (*Achatina Fulica*) Dengan Variasi Gelling Agent Carbomer 940 1%, 1,25%, 1,5% Dan 1,75%. *J Pharmacopolium*. 2019;2(2):104–11.
21. Prasongko ET, Lailiyah M, Muzayyidin W. Formulasi Dan Uji Efektivitas Gel Ekstrak Daun Kedondong (*Spondias dulcis* F.) Terhadap Luka Bakar Pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*). *J Wiyata S1 Farm Fak Farm, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti, Kesehatan Bhakti Wiyata*. 2020;7(10):27–36.
22. Chen Y, Tian L, Yang F, Tong W, Jia R, Zou Y, Yin L, Li L, He C, Liang X, Ye G, Lv C, Song X, Yin Z. Tannic acid accelerates cutaneous wound healing in rats via activation of the erk 1/2 signaling pathways. *advances in wound care*. 2019; 8 (7):341-354.
23. Su X, Liu X, Wang S, Li B, Pan, T, Liu D, Wang F, Diao Y, Li K. Wound-healing promoting effect of total tannins from *Entada phaseoloides* (L.) Merr. in rats. *Burns*. 2017;43(4):830-838.
24. Carvalho MTB, Araujo-Filho HG, Barreto AS, Quintans-Junior LJ, Quintans JSS, Barreto RSS. Wound healing properties of flavonoids: a systematic review of highlighting the mechanisms of action. *phytomedicine*. 2021;90(1):1-15.
25. Aslam MS, Ahmad MS, Riaz H, Raza SA, Hussain S, Qureshi QS, Maria P, Hamzah Z, Javed O. *Phytochemicals: Source of Antioxidants and Role in Disease Prevention*. London: IntechOpen; 2018
26. Razika L, Chaoche TA, Nadjiba C, Narimen, B. Antioxidant and wound healing potential of saponins extracted from the leaves of Algerian *Urtica dioica* L. *Pakistan J of Pharmaceutical Sciences*. 2017;30(3):1023-1029.
27. Wang AS, Armstrong EJ, Armstrong AW. Corticosteroids and wound healing: clinical considerations in the perioperative period. *The American Journal of Surgery*. 2013;206(3)
28. Kuswahyuning R, Lesmana I. Formulation and evaluation of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) fruit pericarp extract gel. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 2021;11(2):90-7.
29. Wicke C, Halliday B, Allen D, Roche NS, Scheuenstuhl H, Spencer MM, Roberts AB, Hunt TK. Effects of steroids and retinoids on wound healing. *The Archives of Surgery*. 2000;135(11):1265-1270.