

**EFEKTIVITAS DAN KEAMANAN KRIM EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU
(*Piper betle* L.) DENGAN KONSENTRASI 5%, 10% DAN 15% TERHADAP
PENYEMBUHAN LUKA SAYAT PADA MENCIT (*Mus musculus*)
DITINJAU SECARA MAKROSKOPIS DAN HISTOLOGIS**

Skripsi

Oleh :
NAMIRA AZ-ZAHRA NURSAKINAH
2258011041



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026**

**EFEKTIVITAS DAN KEAMANAN KRIM EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU
(*Piper betle* L.) DENGAN KONSENTRASI 5%, 10% DAN 15% TERHADAP
 PENYEMBUHAN LUKA SAYAT PADA MENCIT (*Mus musculus*)
 DITINJAU SECARA MAKROSKOPIS DAN HISTOLOGIS**

Oleh
NAMIRA AZ-ZAHRA NURSAKINAH

Proposal Skripsi
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA KEDOKTERAN

Pada
Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung



PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026

Judul Skripsi : **EFEKTIVITAS DAN KEAMANAN KRIM EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) DENGAN KONSENTRASI 5%, 10% DAN 15% TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA SAYAT PADA MENCIT (*Mus musculus*) DITINJAU SECARA MAKROSKOPIS DAN HISTOLOGIS**

Nama Mahasiswa : **Namira Ae-Zahra Nursakinah**

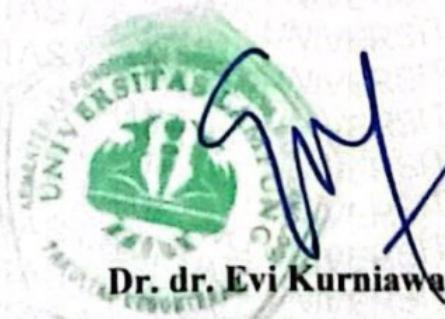
No. Pokok Mahasiswa : **2258011041**

Program Studi : **Pendidikan Dokter**

Fakultas : **Kedokteran**



2. Dekan Fakultas Kedokteran



MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

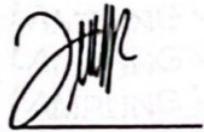
Ketua

: **dr. Waluyo Rudiyanto, M.Kes., Sp.KKLP**



Sekretaris

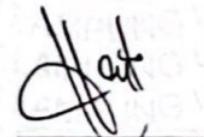
: **Zahara Nurfatihah Z, M.Biomed.**



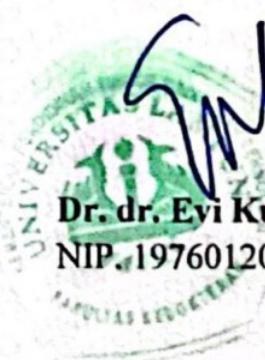
Penguji

Bukan Pembimbing

: **Dr. dr Hendra Tarigan Sibero, M.Kes.,**



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurniawaty, M.Sc.
NIP. 197601202003122001

Tanggal Lulus Skripsi: 13 Januari 2026

RIWAYAT HIDUP

Penulis skripsi ini adalah Namira Az-Zahra Nursakinah. Penulis lahir di Serang, 17 Mei 2003. Penulis berasal dan tinggal di Kota Cilegon sedari kecil hingga berusia 22 tahun. Penulis merupakan anak ketiga dari pasangan Dadan Amdani dan Uum Marlia. Penulis memiliki 3 saudara kandung yaitu Azka Al-Ghifari Akmal, Rafid Ahmad Al-farisi dan Nailufar Irsalina Al-Mahira. Penulis menempuh pendidikan formal di SDN 2 Cilegon. Selesai menyelesaikan pendidikan formal di SD, penulis melanjutkan pendidikan di SMP Peradaban Kota Serang. Selesai dari SMP, penulis melanjutkan ke pendidikan yang lebih tinggi yaitu di MAN 2 Kota Serang. Selesai dari kewajiban belajar 12 tahun, penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang perkuliahan. Penulis berhasil diterima di Fakultas Kedokteran Jurusan Pendidikan Dokter di Universitas Lampung pada tahun 2022 melalui jalur SMMPTN. Penulis selama menjalani perkuliahan mengikuti organisasi kemahasiswaan yaitu Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) sebagai anggota organisasi.

Untuk menyelesaikan studi di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, penulis melakukan penelitian dengan judul **“Efektivitas dan Keamanan Krim Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dengan Konsentrasi 5%, 10% DAN 15% terhadap Luka Sayat pada Mencit (*Mus musculus*) ditinjau secara Makroskopis dan Histologis”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Namira Az-Zahra Nursakinah

NPM : 2258011041

Program Studi : Pendidikan Dokter

Judul Skripsi : UJI EFEKTIVITAS DAN KEAMANAN KRIM EKSTRAK DAUN
SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) DENGAN KONSENTRASI 5%, 10%
DAN 15% TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA SAYAT PADA
MENCIT (*Mus musculus*) DITINJAU SECARA MAKROSKOPIS
DAN HISTOLOGIS

Dengan ini menyatakan bahwa karya ilmiah Skripsi ini merupakan **HASIL
KARYA SAYA SENDIRI**, Apabila di kemudian hari terbukti adanya plagiarism
dan kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka saya bersedia diberi sanksi.

Bandar Lampung, Januari 2026

Mahasiswa,



Namira Az-Zahra Nursakinah

"Fa inna ma'al 'usri yusra. Inna ma'al 'usri yusra."

"Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan."

Q.S. Al-Insyirah: 5-6

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat kesehatan dan kekuatan yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efektivitas dan Keamanan Krim Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dengan Konsentrasi 5%, 10% dan 15% terhadap Luka Sayat pada Mencit (*Mus musculus*) ditinjau secara Makroskopis dan Histologis” dengan tepat waktu sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran pada Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari doa, dukungan, bimbingan, serta bantuan berbagai pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung. Atas segala bentuk kontribusi, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A.IPM selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Dr. dr. Evi Kurniawaty, M.Sc. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
3. Dr. dr. Indri Windarti, Sp.PA. selaku Ketua Jurusan Kedokteran Universitas Lampung.
4. dr. Intanri Kurniati, Sp.PK. selaku Kepala Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
5. dr. Waluyo Rudiyyanto, M.Kes., Sp.KKLP. selaku Pembimbing Satu, atas kesediaannya meluangkan waktu dalam membimbing skripsi ini, memberikan kritik, saran, dan nasihat dalam penyusunan skripsi ini.
6. Ibu Zahara Nurfatihah Z, M.Biomed. selaku Pembimbing Kedua, atas kesediaannya meluangkan waktu dalam membimbing skripsi, memberikan kritik, saran dan nasihat dalam penyusunan skripsi ini.
7. Dr. dr. Hendra Tarigan Sibero, M.Kes., Sp.KK., FINSDV selaku Pembahas, atas kesediaannya meluangkan waktu dalam membimbing skripsi, memberikan kritik, saran dan nasihat dalam penyusunan skripsi ini.

8. dr. Hana Mutiara, M.Kes., Sp.ParK. selaku Pembimbing Akademik, atas kesediaannya membimbing saya selama masa perkuliahan.
9. Seluruh staf pengajar dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, yang telah bersedia membimbing, memberikan ilmu dan waktu selama perkuliahan.
10. Abi dan umi tercinta, Dadan Amdani dan Uum Marlia, yang sudah menjadi orang tua terbaik untuk Namira selama ini. Terima kasih karena selalu mengusahakan segala sesuatu sebaik dan sesempurna mungkin untuk keluarga kecil kita. Terima kasih atas segala doa, restu, cinta dan kasih sayang, kepercayaan, dukungan, motivasi, pengorbanan, serta semua yang telah diberikan semasa kehidupan penulis hingga penulis menjalankan perkuliahan dan akhirnya menyusun skripsi ini.
11. Kakak dan adek tersayang, A Ghifar, a Rafid dan Sali, terima kasih selalu menghibur dan percaya kepada penulis untuk ada di tempat ini. Terima kasih juga untuk doa kalian yang tiada henti selama penulis menjalani studi.
12. Nisa, Hani, dan Wawa yang telah menjadi sahabat sekaligus pendengar yang baik bagi penulis, serta tiada henti memberikan doa dan dukungan kepada penulis.
13. Sumpit tercinta, Ifa, Shakik, Talidaw, Yonok, Silman dan Odiik, terima kasih telah menjadi sahabat terbaik selama perkuliahan. Terima kasih telah menjadi pendengar, penyemangat memberikan keceriaan serta dukungan yang tiada henti bagi penulis.
14. Fadhil, Alip, Bima, Haikal, Rijal dan Arza yang telah memberikan doa dan dukungan serta menjadi bagian berharga dari perjalanan penulis.
15. Usnida, Amti, Khaf, dan Fadh, yang telah memberikan doa serta dukungan kepada penulis, dan selalu menjadi penyemangat di setiap proses yang dijalani penulis.
16. Vina, Fio, Dela, Arini, Reimma dan Rie yang telah menjadi teman satu bimbingan yang baik dan selalu mendukung penulis dalam melaksanakan penelitian hingga penulisan skripsi.
17. Teman-teman Troponin Angkatan 2022 yang selalu memberikan dukungan dan kebersamaan selama menjalani perkuliahan di tahap preklinik.

ABSTRAK

EFektivitas dan Keamanan Krim Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dengan KonseNtrasi 5%, 10% dan 15% Terhadap Penyembuhan Luka Sayat pada Mencit (*Mus musculus*) Ditinjau Secara Makroskopis dan Histologis

Oleh

NAMIRA AZ-ZAHRA NURSAKINAH

Latar Belakang: Luka sayat merupakan kasus cedera yang umum terjadi. Penggunaan antibiotik jangka panjang dapat memicu resistensi, sehingga diperlukan alternatif herbal seperti daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang mengandung senyawa antibakteri dan antiinflamasi untuk mempercepat penyembuhan luka.

Metode: Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik dengan rancangan *post-test only control group design*. Sebanyak 30 ekor mencit jantan galur Balb/c dibagi menjadi 5 kelompok: kontrol negatif (tanpa perlakuan), kontrol positif (asam fusidat), dan kelompok perlakuan krim ekstrak daun sirih hijau konsentrasi 5%, 10%, serta 15%. Pengamatan makroskopis (panjang dan waktu luka) dilakukan selama 14 hari, sedangkan pengamatan histologis (jumlah fibroblas) dilakukan pada hari ke-15.

Hasil: Secara makroskopis, tidak terdapat perbedaan signifikan ($p>0,05$) pada waktu dan panjang luka antar kelompok, namun kelompok perlakuan menunjukkan tren penutupan luka yang lebih baik dibanding kontrol negatif. Secara histologis, uji *One Way ANOVA* menunjukkan perbedaan signifikan ($p=0,008$) pada jumlah fibroblas. Kelompok konsentrasi 5% memiliki jumlah fibroblas yang lebih rendah dibandingkan kontrol negatif dan setara dengan kontrol positif, menandakan fase penyembuhan yang lebih matang (remodeling). Uji iritasi menunjukkan sediaan krim aman digunakan.

Kesimpulan: Krim ekstrak etanol daun sirih hijau aman dan efektif dalam memodulasi penyembuhan luka sayat pada mencit, di mana konsentrasi 5% memberikan hasil histologis yang paling optimal menyerupai kontrol positif.

Kata Kunci: Daun sirih hijau (*Piper betle* L.), Fibroblas, Krim, Luka sayat, Penyembuhan luka.

ABSTRACT

EFFECTIVENESS AND SAFETY OF GREEN BETEL LEAF EXTRACT CREAM (*Piper betle* L.) WITH CONCENTRATIONS OF 5%, 10%, AND 15% ON THE HEALING OF INCISED WOUNDS IN MICE (*Mus musculus*) AS ASSESSED MACROSCOPICALLY AND HISTOLOGICALLY

By

NAMIRA AZ-ZAHRA NURSAKINAH

Background: Incision wounds are a common type of injury. Long-term use of antibiotics can trigger resistance, necessitating herbal alternatives such as green betel leaf (*Piper betle* L.), which contains antibacterial and anti-inflammatory compounds to accelerate wound healing.

Methods: This was a laboratory experimental study with a post-test only control group design. Thirty male Balb/c mice were divided into 5 groups: negative control (untreated), positive control (fusidic acid), and treatment groups with green betel leaf extract cream at concentrations of 5%, 10%, and 15%. Macroscopic observations (wound length and duration) were conducted for 14 days, while histological observations (fibroblast count) were performed on day 15.

Results: Macroscopically, there was no significant difference ($p>0.05$) in wound duration and length between groups, although treatment groups showed a better wound closure trend compared to the negative control. Histologically, the *One Way ANOVA* test showed a significant difference ($p=0.008$) in fibroblast counts. The 5% concentration group had a lower fibroblast count compared to the negative control and was equivalent to the positive control, indicating a more mature healing phase (remodeling). Irritation tests showed the cream preparation was safe to use.

Conclusion: Green betel leaf ethanol extract cream is safe and effective in modulating incision wound healing in mice, with the 5% concentration demonstrating the most optimal histological outcomes, comparable to the positive control.

Keywords: Cream, Fibroblast, Green betel leaf (*Piper betle* L.), Incision wound, Wound healing.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum.....	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti	6
1.4.2 Manfaat Bagi Masyarakat.....	6
1.4.3 Manfaat Bagi Institusi.....	6

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit	7
2.1.1 Anatomi dan Histologi Kulit.....	7
2.1.2 Fisiologi Kulit.....	8
2.2 Luka	9
2.2.1 Definisi Luka	9
2.2.2 Klasifikasi Luka.....	10
2.2.3 Luka Sayat	12
2.2.4 Proses Penyembuhan Luka	13
2.3 Parameter Proses Penyembuhan	15
2.3.1 Makroskopis.....	15
2.3.2 Mikroskopis	15
2.4 Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.)	17
2.4.1 Taksonomi dan Morfologi Daun Sirih Hijau.....	17
2.4.2 Kandungan Daun Sirih Hijau.....	19
2.5 Ekstrak Etanol Daun dan Formula Krim	20
2.5.1 Ekstrak Daun Sirih Hijau.....	20
2.5.2 Metode Ekstraksi dengan Maserasi Etanol.....	21
2.5.3 Formulasi dan Konsentrasi Krim.....	22
2.6 Mencit Jantan (<i>Mus musculus</i>) Galur Balb-C.....	23
2.7 Kerangka Teori	25

2.8 Kerangka Konsep.....	26
2.9 Hipotesis Penelitian	27

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Metode Penelitian	28
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	28
3.2.1 Waktu Penelitian.....	28
3.2.2 Tempat Penelitian	28
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian.....	29
3.3.1 Populasi Penelitian.....	29
3.3.2 Sampel Penelitian	29
3.3.3 Teknik Sampling.....	31
3.4 Kriteria Sampel.....	32
3.4.1 Kriteria Inklusi.....	32
3.4.2 Kriteria Eksklusi	32
3.5 Identifikasi Variabel Penelitian	32
3.5.1 Variabel Bebas (<i>independent variable</i>)	32
3.5.2 Variabel Terikat (<i>dependent variable</i>).....	33
3.6 Definisi Operasional	33
3.7 Alat dan Bahan Penelitian.....	34
3.7.1 Alat Perawatan Hewan Uji	34
3.7.2 Alat Pembuatan Ekstrak.....	34
3.7.3 Alat Pembuatan Preparat	34
3.7.4 Bahan Penelitian	35
3.7.5 Bahan Pembuatan Ekstrak	35
3.7.6 Bahan Pembuatan Krim	35
3.7.7 Bahan Pembuatan Preparat	35
3.8 Prosedur Penelitian	36
3.8.1 Determinasi Tumbuhan.....	36
3.8.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau.....	36
3.8.3 Uji Fitokimia Daun Sirih Hijau	37
3.8.4 Pembuatan Krim Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau	38
3.8.5 Preparasi Hewan Uji.....	39
3.8.6 Perlukaan Hewan Uji.....	40
3.8.7 Perlakuan pada Mencit.....	40
3.8.8 Uji Iritasi.....	41
3.8.9 Perhitungan dan Pengambilan Sampel Kulit	42
3.8.10 Pengambilan Jaringan Kulit.....	43
3.8.11 Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit	43
3.8.12 Perhitungan Jumlah Fibroblas	45
3.9 Alur Penelitian	46
3.10 Analisis Data.....	47
3.11 Etika Penelitian	47

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil	48
4.1.1 Hasil <i>screening</i> Uji Fitokimia.....	48
4.1.1 Hasil Uji Iritasi Akut.....	48

4.1.2 Hasil Waktu Penyembuhan Luka Sayat.....	49
4.1.3 Hasil Rerata Panjang Luka Sayat.....	51
4.1.4 Hasil Jumlah Fibroblas	54
4.2 Pembahasan	57
4.2.1 Pembahasan Waktu Penyembuhan Luka Sayat	57
4.2.2 Pembahasan Panjang Luka Sayat	58
4.2.3 Pembahasan Jumlah Fibroblas Luka Sayat.....	60
4.3 Keterbatasan Penelitian.....	63
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	64
5.2 Saran	65
DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN	72

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel	
2.1 Fase-Fase Proses Penyembuhan Luka	14
2.2 Kandungan Daun Sirih Hijau dalam Proses Penyembuhan Luka.....	20
3.1 Definisi Operasional.....	33
3.2 Formulasi Krim Daun Sirih Hijau konsentrasi 5%, 10%, 15%.....	39
3.3 Skoring Eritema dan Edema.....	41
3.4 Nilai Derajat Iritasi.....	42
4.1 Hasil Uji Fitokimia.....	48
4.2 Rerata Waktu Penyembuhan Luka Sayat.....	50
4.3 Rerata Panjang Luka pada Hari Ke-14.....	53
4.4 Rerata Jumlah Fibroblas pada Hari ke-15	54
4.5 Hasil Uji <i>Post Hoc Tukey HSD</i> Rerata Jumlah Fibroblas	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Lapisan-Lapisan dan Apendiks Kulit.....	7
2.2 Sel Fibroblas pada Fase Proliferasi.....	16
2.3 Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.).....	18
2.4 Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	24
2.5 Kerangka Teori.....	26
2.6 Kerangka Konsep	26
3.1 Kelompok Perlakuan.....	31
3.2 Metode Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit	43
3.3 Alur penelitian.....	46
4.1 Daun Telinga Mencit Kanan setelah aplikasi sedian krim.....	49
4.2 Grafik Rerata Panjang Luka.....	52

DAFTAR LAMPIRAN

- | | |
|-------------|--|
| Lampiran 1 | Surat/Izin Penelitian |
| Lampiran 2 | Hasil Uji Fitokimia |
| Lampiran 3 | Hasil Uji Iritasi |
| Lampiran 4 | Hasil Observasi Makroskopis Panjang Luka pada Hari Ke-14 |
| Lampiran 5 | Hasil Histologis Jumlah Fibroblas Jaringan Kulit |
| Lampiran 6 | Output SPSS Waktu Penyembuhan Luka |
| Lampiran 7 | Output SPSS panjang luka hari ke-14 |
| Lampiran 8 | Output SPSS Jumlah Fibroblas |
| Lampiran 9 | Dokumentasi Pembuatan Ekstrak |
| Lampiran 10 | Dokumentasi Pembuatan Krim |
| Lampiran 11 | Dokumentasi Pembuatan Luka Sayat |
| Lampiran 12 | Dokumentasi Perlakuan |

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka adalah terputusnya kontinuitas jaringan akibat kerusakan atau hilangnya substansi jaringan. Kondisi ini dapat mengganggu keutuhan kulit, permukaan mukosa, maupun organ dalam baik karena cedera maupun tindakan medis. Secara etiologi, luka dapat terjadi secara disengaja seperti pada prosedur pembedahan atau pungsi vena yang bertujuan terapeutik maupun tidak disengaja misalnya akibat trauma atau kecelakaan. Berdasarkan durasi dan proses penyembuhannya luka terbagi menjadi dua kategori utama yaitu akut dan kronik. Luka akut umumnya muncul secara mendadak dan penyembuhannya sesuai dengan waktu yang diperkirakan. Jenis luka ini cenderung pulih tanpa komplikasi, misalnya luka bakar ringan, luka sayat, luka tusuk, atau luka jahit. Sebaliknya, luka kronik berlangsung lebih dari tiga bulan, sering kambuh, dan gagal sembuh tepat waktu akibat faktor kompleks dari kondisi penderita (Naziyah *et al.*, 2022; Primadani & Nurrahmantika 2021).

Jenis luka yang paling umum terjadi dalam kehidupan sehari-hari adalah luka sayat. Meskipun memiliki prognosis yang baik, luka ini dapat menimbulkan komplikasi serius seperti infeksi, peradangan kronik, hingga gangguan proses penyembuhan jika tidak ditangani dengan tepat. Luka dapat menurunkan kualitas hidup penderitanya akibat gangguan fisik, psikologis, maupun sosial. Kerusakan kulit sebagai pelindung utama tubuh membuka peluang bagi mikroorganisme untuk masuk yang dapat menyebabkan infeksi hingga sepsis (Asyifa *et al.*, 2022; Purwadianto *et al.*, 2017).

Berdasarkan data Riskesdas 2018, jenis cedera yang paling umum di Indonesia adalah luka lecet (64%), diikuti luka iris (20%), terkilir (32%), patah tulang (5,5%) dan amputasi (0,5%). Sementara itu, data yang diperoleh dari Rinarto (2019) menunjukkan bahwa angka kejadian luka sayat, memar dan luka robek di Indonesia mencapai 70,9%. Oleh karena itu, pemahaman mengenai proses penyembuhan luka menjadi penting untuk mengoptimalkan penatalaksanaan dan mencegah komplikasi lanjutan.

Proses penyembuhan luka merupakan suatu mekanisme biologis kompleks yang berlangsung secara alami di dalam tubuh untuk memulihkan kembali integritas jaringan yang mengalami kerusakan. Proses ini melibatkan serangkaian tahapan yang rumit dan rentan terganggu, sehingga memerlukan kondisi fisiologis yang optimal agar penyembuhan dapat berlangsung secara efektif. Terdapat empat fase utama yang saling tumpang tindih dalam proses penyembuhan luka, yaitu fase hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase *remodeling* (maturasi). Fase-fase tersebut melibatkan interaksi antara sel-sel imun, mediator sitokin, dan matriks ekstraseluler (Ricardo & Oktariani, 2024).

Efektivitas penyembuhan luka sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor. Contoh faktor lokal meliputi manajemen luka, infeksi dan hipovolemia, sedangkan faktor sistemik adalah usia, status nutrisi, penggunaan obat-obatan seperti steroid, serta penyakit penyerta misalnya diabetes melitus. Oleh karena itu, manajemen luka yang baik berperan penting dalam mempercepat penyembuhan serta menurunkan risiko komplikasi seperti infeksi dan pembentukan jaringan parut (Primadani & Nurrahmantika, 2021).

Penilaian efektivitas penyembuhan luka tidak hanya dilihat secara klinis, tetapi juga secara histologis, yakni melalui pengamatan terhadap aktivitas fibroblas, pembentukan jaringan granulasi, reepitelisasi, dan angiogenesis pada jaringan luka. Studi penelitian oleh Westri (2018) menunjukkan bahwa peningkatan fibroblas merupakan indikator utama regenerasi

jaringan yang sehat, dan reepitelisasi yang sempurna menandakan integritas epidermis telah pulih secara struktural. Evaluasi histologis juga memfasilitasi analisis objektif terhadap kualitas penyembuhan luka pada hewan uji, khususnya dalam menilai pengaruh agen terapi yang diuji.

Proses penyembuhan luka umumnya memanfaatkan antibiotik untuk mempercepat prosesnya. Meskipun efektif, penggunaan antibiotik secara berlebihan dan dalam jangka panjang dapat memicu resistensi sehingga menurunkan efektivitas terapi. Seiring dengan meningkatnya resistensi antibiotik dan efek samping terapi konvensional, pemanfaatan tanaman herbal sebagai agen penyembuhan luka menjadi pilihan terapi lain. Salah satu pendekatan yang menjanjikan adalah penggunaan tanaman obat. Obat herbal atau obat tradisional saat ini semakin populer secara global karena dinilai efektif, bersifat kuratif terhadap penyakit kronis, dan memiliki tingkat toksisitas yang lebih rendah. (Jokopriyambodo *et al.*, 2017).

Tanaman dengan potensi penyembuhan luka umumnya mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, tanin, terpenoid dan steroid. Senyawa aktif tersebut diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi, antibakteri, antioksidan, dan astringen. Keunggulan obat herbal meliputi biaya rendah, akses yang mudah, efek samping yang minimal, serta efektivitas yang tinggi (Kusumo *et al.*, 2023).

Salah satu tanaman herbal yang memiliki potensi besar dalam penyembuhan luka adalah daun sirih (*Piper betle* L.). Daun sirih dikenal luas oleh masyarakat Indonesia, tidak hanya sebagai bahan pengobatan, tetapi juga memiliki nilai budaya yang tinggi. Secara tradisional, daun sirih digunakan sebagai antiinflamasi, antiseptik, antibakteri, hemostatik, ekspektoran, dan penenang. Daun sirih mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti alkaloid, tanin, flavonoid, terpenoid, steroid, serta minyak atsiri. Daun ini juga kaya akan nutrisi seperti vitamin A, C, dan berbagai mineral penting. Kandungan senyawa aktif seperti hidroksi kavikol dan eugenol dalam daun sirih memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif (Widiyastuti *et al.*, 2020).

Penelitian sebelumnya telah membuktikan efektivitas ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dalam mempercepat penyembuhan luka. Penelitian oleh Januarti (2023) telah menunjukkan bahwa gel ekstrak daun sirih 15% mampu memberikan efek setara kontrol positif pada luka sayat kelinci, meskipun evaluasi masih sebatas pengukuran panjang luka. Sementara itu, Zar'ah *et al.* (2021) menemukan bahwa konsentrasi 30% paling efektif dalam mempercepat penyembuhan luka pada mencit, namun pengamatan kembali hanya dilakukan pada diameter luka. Dengan demikian, mayoritas penelitian yang ada masih berfokus pada pengukuran makroskopis, sehingga belum mampu menjelaskan secara komprehensif mekanisme perbaikan jaringan yang terjadi.

Penelitian Palumpun *et al.* (2017) telah menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun sirih 10% secara topikal dapat meningkatkan ketebalan epidermis, jumlah fibroblas, dan kolagen pada luka tikus jantan. Hal ini menjadi alasan pemilihan konsentrasi utama yaitu 10% dengan konsentrasi 5% sebagai dosis rendah dan 15% dosis maksimum. Di samping itu, penelitian Rinaldy (2019) membuktikan sediaan krim kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan minyak cengkeh konsentrasi 5% mempunyai efektivitas penyembuhan luka stadium II tertutup (*dressing*) *nondebridement* pada tikus putih jantan galur wistar. Pemilihan krim sebagai bentuk sediaan karena lebih mudah diaplikasikan, nyaman digunakan, tidak lengket, mudah dibersihkan dibandingkan dengan salep atau gel, serta mampu mendukung penetrasi zat aktif ekstrak daun sirih dalam mempercepat penyembuhan luka sayat (Aini *et al.*, 2024).

Berdasarkan uraian tersebut, evaluasi histopatologi memiliki peran penting untuk melengkapi data makroskopis dalam menilai proses penyembuhan luka. Akan tetapi, penelitian yang secara komprehensif membandingkan berbagai konsentrasi ekstrak daun sirih dari aspek makroskopis dan mikroskopis masih sangat terbatas, khususnya pada model hewan mencit. Selain itu pemilihan bentuk sediaan juga penting dalam penelitian ini. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk

mengevaluasi pengaruh berbagai konsentrasi krim ekstrak etanol daun sirih hijau terhadap penyembuhan luka sayat pada mencit, baik secara makroskopis maupun histologis, sehingga dapat ditentukan konsentrasi optimal yang mampu memberikan efek terbaik dalam regenerasi jaringan kulit.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh berbagai konsentrasi krim ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap proses penyembuhan luka sayat pada mencit (*Mus musculus*)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh berbagai konsentrasi krim ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap proses penyembuhan luka sayat pada mencit (*Mus musculus*).

1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1 Mengetahui perbedaan panjang luka dan waktu pada proses penyembuhan luka sayat pada mencit (*Mus musculus*) yang tidak diberi perlakuan, diberi asam fusidat dan setelah pemberian krim ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15%.

1.3.2.2 Mengetahui perbedaan jumlah fibroblas pada proses penyembuhan luka sayat pada mencit (*Mus musculus*) yang tidak diberi perlakuan, diberi asam fusidat, dan setelah pemberian krim ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15%.

1.3.2.3 Mengetahui konsentrasi optimal krim ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) pada proses penyembuhan luka sayat pada mencit (*Mus musculus*).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dan wawasan peneliti mengenai meningkatkan kemampuan penulis dalam merancang, melaksanakan, dan mengevaluasi penelitian eksperimental, serta mengaplikasikan metode ilmiah yang sesuai dalam penyusunan skripsi. Selain itu, menjadi referensi awal dalam pengembangan penelitian lebih lanjut terkait fitofarmaka, formulasi salep herbal, atau model luka hewan dengan pendekatan histologis yang lebih luas.

1.4.2 Manfaat Bagi Masyarakat

Memberikan informasi edukatif tentang manfaat tanaman obat tradisional Indonesia khususnya daun sirih hijau dalam mempercepat penyembuhan luka. Hasil penelitian ini diharapkan menjadi langkah awal menuju pemanfaatan bahan alami yang lebih aman, murah, dan efektif untuk perawatan kesehatan sehari-hari serta menjadi referensi dalam pengembangan formulasi topikal dari ekstrak etanol daun sirih hijau sebagai agen penyembuh luka alami yang aman dan efektif.

1.4.3 Manfaat Bagi Institusi

Meningkatkan kontribusi Universitas Lampung dalam pengembangan ilmu pengetahuan berbasis sumber daya alam lokal, khususnya dalam bidang biomedis dan farmasi herbal, serta memperkuat posisi institusi dalam mendorong inovasi penelitian berbasis potensi daerah.

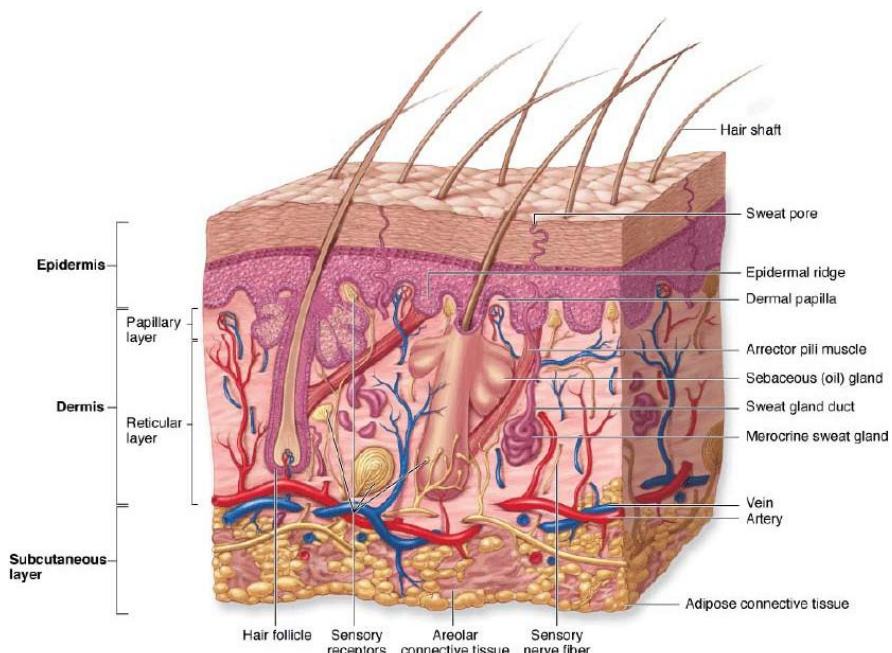
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit

2.1.1 Anatomi dan Histologi Kulit

Kulit merupakan organ terluar tubuh yang berfungsi sebagai pelindung utama dan tersusun atas empat jaringan dasar yaitu epitel, jaringan ikat, otot, dan saraf. Secara anatomi, kulit terdiri atas tiga lapisan utama, yaitu epidermis, dermis, dan subkutan. Struktur penyusun kulit, meliputi folikel rambut, kelenjar keringat, kelenjar sebasea, pembuluh darah, serabut saraf, serta jaringan ikat yang berperan penting dalam menjaga integritas dan fungsi kulit, dapat dilihat pada Gambar 2.1 (Kalangi, 2013).



Gambar 2.1 Lapisan-Lapisan dan Apendiks Kulit (Kalangi, 2013).

Lapisan pertama adalah *epidermis*, tersusun dari epitel berlapis gepeng dengan lapisan tanduk dan tidak memiliki pembuluh darah. *Epidermis* memiliki ketebalan 0,5–1,5 mm, bersifat avaskular, dan tersusun atas epitel skuamosa berlapis yang mengalami keratinisasi. Pada kulit tipis terdapat empat lapisan, sedangkan pada kulit tebal terdapat lima lapisan, yaitu *stratum basale*, *spinosum*, *granulosum*, *lucidum*, dan *korneum*. Sel-selnya meliputi keratinosit sebagai komponen utama, melanosit yang menghasilkan pigmen *melanin*, sel Langerhans yang berperan dalam imunitas, serta sel Merkel sebagai reseptor sensoris (Kalangi, 2013).

Lapisan kedua adalah *dermis* yang berada di bawah *epidermis* dan berfungsi menopang serta memberi nutrisi pada lapisan di atasnya. *Dermis* terbagi menjadi *stratum papillaris* (jaringan ikat longgar dengan pembuluh darah, fibroblas, dan reseptor sensoris) dan *stratum retikularis* (jaringan ikat padat dengan serat kolagen dan elastin yang memberikan kekuatan tarik). Struktur lain yang terdapat pada *dermis* meliputi saraf, folikel rambut, kelenjar sebasea, dan kelenjar keringat (Kalangi, 2013).

Lapisan ketiga adalah *hipodermis* atau jaringan subkutis yang terletak di bawah *dermis* dan tersusun dari jaringan ikat longgar serta jaringan adiposa. Lapisan ini berfungsi sebagai bantalan mekanis, penyimpan energi, dan isolator panas. Kulit atau sistem integumen, menutupi seluruh permukaan luar tubuh dengan luas $\pm 2 \text{ m}^2$ dan berat 4,5–5 kg pada orang dewasa yang menjadikannya organ terbesar tubuh (Lotfollahi, 2024).

2.1.2 Fisiologi Kulit

Kulit merupakan organ penting yang berfungsi sebagai pelindung tubuh dari trauma fisik, radiasi ultraviolet, bahan kimia, dan mikroorganisme. Selain itu, kulit berperan dalam termoregulasi melalui pengaturan aliran darah dermis dan aktivitas kelenjar

keringat, serta sebagai reseptor sensoris dan pertahanan imunologis melalui sel Langerhans. Pigmentasi kulit dipengaruhi oleh melanin, karoten, dan hemoglobin, di mana melanin berfungsi melindungi jaringan dari kerusakan akibat sinar UV. Kulit juga memiliki kemampuan regeneratif yang ditunjukkan melalui proses penyembuhan luka dalam tiga fase utama, yaitu inflamasi, proliferasi, dan remodeling jaringan (Kalangi, 2013).

Secara fisiologis, kulit menjalankan beberapa fungsi penting, meliputi proteksi sebagai penghalang fisik, kimia, dan biologis terhadap mikroorganisme, radiasi UV, serta zat berbahaya. Fungsi *sensoris* yang diperankan oleh reseptor khusus di seluruh lapisan kulit, seperti korpuskula Meissner untuk sentuhan ringan dan korpuskula Vater-Pacini untuk tekanan serta *termoregulasi* melalui vasodilatasi, vasokonstriksi, dan keringat untuk menjaga suhu tubuh sekitar 37°C. Kulit juga memiliki fungsi imunologis melalui peran sel Langerhans dan melanosit yang berinteraksi dengan sistem imun, serta fungsi endokrin seperti sintesis vitamin D akibat paparan sinar UVB yang penting untuk metabolisme kalsium dan fosfor. Seiring bertambahnya usia, terjadi perubahan struktural dan fungsional pada kulit, seperti penipisan dermis, penurunan jumlah sel imun, berkurangnya kolagen dan elastin, serta menurunnya kemampuan mempertahankan kelembapan dan elastisitas (Lotfollahi, 2024).

2.2 Luka

2.2.1 Definisi Luka

Luka merupakan kondisi terputusnya kontinuitas jaringan tubuh yang dapat mengganggu fungsi kulit, baik melibatkan maupun tidak melibatkan jaringan di bawahnya. Keadaan ini dapat disebabkan oleh berbagai faktor, seperti pembedahan, trauma tajam atau tumpul, luka bakar, paparan bahan kimia, gesekan, maupun tekanan. Secara umum, luka juga diartikan sebagai kerusakan sebagian jaringan tubuh akibat

faktor fisik, mekanik, kimia, termal, ataupun proses patologis internal dan eksternal, yang mengakibatkan hilangnya integritas epitel dengan atau tanpa kerusakan jaringan di bawahnya, termasuk dermis, otot, tulang, saraf, maupun pembuluh darah. Berdasarkan penyebabnya, luka dapat berupa luka terbuka, seperti robekan, tusukan, atau sayatan, maupun luka tertutup akibat trauma tumpul (Naziyah *et al.*, 2022; Firdaus *et al.*, 2020).

2.2.2 Klasifikasi Luka

Luka dapat diklasifikasikan menjadi beberapa macam, berikut klasifikasi luka yaitu :

2.2.2.1 Berdasarkan kedalaman dan luas luka

- A. Luka *superfisial* yaitu luka yang terjadi pada lapisan epidermis kulit.
- B. Luka *partial thickness* yaitu hilangnya lapisan kulit pada lapisan epidermis dan bagian atas dari dermis.
- C. Luka *full thickness* yaitu hilangnya kulit keseluruhan meliputi kerusakan atau nekrosis jaringan subkutan yang dapat meluas sampai bawah tetapi tidak melewati jaringan yang mendasarinya. Lukanya sampai pada lapisan epidermis, dermis dan fasia tetapi tidak mengenai otot. Luka timbul secara klinis sebagai suatu lubang yang dalam dengan atau tanpa merusak jaringan sekitarnya.
- D. Luka *full thickness* yang telah mencapai lapisan otot, tendon dan tulang dengan adanya destruksi/kerusakan yang luas. (Oktaviani *et al.*, 2019).

2.2.2.2 Berdasarkan waktu dan proses penyembuhan luka

A. Luka Akut

Luka akut merupakan cedera jaringan yang dapat pulih kembali seperti keadaan normal dengan bekas luka yang minimal dalam rentang waktu 8-12 minggu. Penyebab

utama dari luka akut adalah cedera mekanik karena faktor eksternal, yaitu terjadi kontak antara kulit dengan permukaan yang keras atau tajam, luka tembak, luka pasca operasi, luka bakar dan cedera kimiawi, seperti terpapar sinar radiasi, tersengat listrik, terkena cairan kimia yang besifat korosif, serta terkena sumber panas (Purnama *et al.*, 2017).

B. Luka Kronik

Luka kronik merupakan luka dengan proses pemulihan yang lambat, dengan waktu penyembuhan lebih dari 12 minggu dan terkadang dapat menyebabkan kecacatan. Penyebab terjadinya luka kronik adalah kegagalan pemulihan karena kondisi fisiologis seperti diabetes melitus (DM) dan kanker, infeksi terus-menerus, dan rendahnya tindakan pengobatan yang diberikan (Purnama *et al.*, 2017).

2.2.2.3 Berdasarkan penyebab Luka

A. Luka lecet (*Vulnus excoriati*)

Luka ini terjadi akibat gesekan dengan permukaan keras, seperti saat terjatuh dari kendaraan bermotor sehingga tubuh bergesekan dengan aspal. Luka ini hanya memiliki dimensi panjang dan lebar tanpa kedalaman yang berarti, tetapi sering melibatkan ujung saraf nyeri sehingga menimbulkan rasa sakit yang lebih tinggi dibanding luka robek.

B. Luka sayat (*Vulnus scissum*)

Luka sayat disebabkan oleh sayatan benda tajam, seperti logam atau kayu yang menghasilkan luka tipis dan kecil. Luka ini juga dapat timbul secara sengaja dalam prosedur medis.

C. Luka robek (*Vulnus laseratum*)

Luka robek umumnya diakibatkan oleh benturan atau goresan benda keras, seperti terjatuh, terkena ranting pohon, atau batu, sehingga menimbulkan robekan pada kulit dengan dimensi panjang, lebar, dan dalam.

D. Luka tusuk (*Vulnus punctum*)

Luka ini terjadi akibat tusukan benda tajam yang menghasilkan luka kecil namun dalam. Luka jenis ini berisiko terkontaminasi bakteri *Clostridium tetani* dari benda tajam atau logam yang menyebabkan infeksi serius.

E. Luka gigitan (*Vulnus morsum*)

Luka gigitan disebabkan oleh gigitan manusia maupun hewan, seperti serangga, ular, atau binatang buas. Gigitan ular berbisa perlu diwaspadai karena dapat menimbulkan dampak yang berbahaya.

F. Luka bakar (*Vulnus combustion*)

Luka bakar merupakan kerusakan jaringan akibat paparan suhu tinggi. Penanganan luka ini didasarkan pada stadium luka dan persentase luas permukaan tubuh yang terbakar (Oktaviani *et al.*, 2019).

2.2.3 Luka Sayat

Luka sayat merupakan cedera pada jaringan tubuh yang terjadi akibat kontak dengan benda tajam yang menyebabkan kerusakan atau kehilangan jaringan serta memicu perdarahan melalui aktivasi mekanisme hemostasis, diikuti oleh respons peradangan. Secara definisi, luka adalah terputusnya kontinuitas atau kesatuan sel maupun jaringan yang mengakibatkan hilangnya sebagian struktur jaringan dan kerusakan substansi di area yang terdampak (Anjarwati *et al.*, 2024).

Penanganan luka sayat dapat dilakukan melalui penggunaan obat berbahan kimia maupun obat tradisional. Meskipun demikian, pemakaian obat kimia dalam jangka waktu yang panjang berpotensi menimbulkan akumulasi efek samping yang dapat berdampak negatif terhadap kesehatan. Oleh karena itu, pemanfaatan obat berbahan alami atau tradisional dinilai lebih aman, karena efek samping yang dihasilkan relatif rendah meskipun digunakan secara berkelanjutan. Beberapa tanaman obat diketahui memiliki kandungan senyawa bioaktif, seperti flavonoid, alkaloid, dan tanin yang berperan dalam mendukung proses penyembuhan luka (Saputera & Ayuchecaria, 2018).

2.2.4 Proses Penyembuhan Luka

Proses penyembuhan luka merupakan suatu rangkaian mekanisme biologis yang kompleks yang berlangsung untuk mengembalikan integritas jaringan setelah terjadi cedera. Mekanisme ini tidak berlangsung secara linear, melainkan terdiri dari beberapa tahap yang saling berurutan namun juga dapat tumpang tindih. Secara umum, proses penyembuhan luka terbagi menjadi empat fase utama, yaitu fase hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodeling (maturasi). Keempat fase ini bekerja secara sinergis untuk menghentikan perdarahan, mengontrol infeksi, membentuk jaringan baru, dan akhirnya memulihkan struktur serta fungsi jaringan yang rusak. Proses penyembuhan luka dalam empat fase dapat dilihat pada tabel sebagai berikut :

Tabel 2.1 Fase-Fase Proses Penyembuhan Luka

Fase	Waktu	Mekanisme Utama	Sel/Faktor	Hasil Akhir
Hemostasis	Segera setelah cedera (menit-jam pertama)	<ul style="list-style-type: none"> • Vasokonstriksi awal, diikuti vasodilatasi; • Pembentukan bekuan fibrin sebagai matriks sementara; • Pelepasan sitokin dan faktor pertumbuhan. 	Trombosit, faktor koagulasi, sitokin, kemokin, PDGF, TGF- β	Perdarahan berhenti, terbentuk bekuan darah sebagai matriks sementara dan reservoir molekul bioaktif (Primadina <i>et al.</i> , 2019).
Inflamasi	1-3 hari	<ul style="list-style-type: none"> • Migrasi leukosit ke area luka; • Fagositosis debris dan patogen; • Pelepasan sitokin pro-inflamasi; • Monosit menjadi makrofag pada hari ke-3. 	Neutrofil, makrofag, sel mast, limfosit T; mediator: TNF- α , IL-1 β , IL-6.	Pembersihan luka dari debris, patogen, dan sel mati; persiapan transisi ke fase proliferasi (Ricardo & Oktariani, 2024).
Proliferasi	Hari ke-4 hingga 21	<ul style="list-style-type: none"> • Pembentukan jaringan granulasi; • Re-epitelisasi oleh keratinosit; • Angiogenesis untuk suplai oksigen dan nutrien; • Deposi kolagen dan matriks baru. 	Fibroblas, keratinosit, sel endotel; VEGF, PDGF, bFGF.	Terbentuk jaringan granulasi, epitel baru, pembuluh darah baru, serta awal penguatan struktur jaringan (Primadina <i>et al.</i> , 2019).
Remodelling/ Maturasi	Hari ke-21 hingga 1 tahun	<ul style="list-style-type: none"> • Kolagen tipe III diganti kolagen tipe I; • Reorganisasi matriks dan pengurangan pembuluh darah baru; • Fibroblas dan makrofag M2 mengatur sintesis-degradasi kolagen. 	Fibroblas, makrofag M2, kolagen tipe I, MMPs, TIMPs.	Jaringan matang, parut terbentuk dengan kekuatan tarik $\pm 80\%$ dari jaringan normal, struktur lebih stabil dan kosmetik lebih baik (Ricardo & Oktariani, 2024).

2.3 Parameter Proses Penyembuhan

Proses penyembuhan luka memiliki beberapa parameter histologi yang dapat diamati baik secara makroskopis maupun mikroskopis. Secara makroskopis dapat dilihat dari berkurangnya luas luka, sedangkan secara mikroskopis dapat diperiksa secara histopatologi jumlah sel-sel radang (neutrofil, makrofag, dan limfosit), jaringan granulasi, jumlah neovaskuler, presentase re-epitelisasi, dan kepadatan jaringan ikat (fibroblas) (Sutiyo, 2020).

2.3.1 Makroskopis

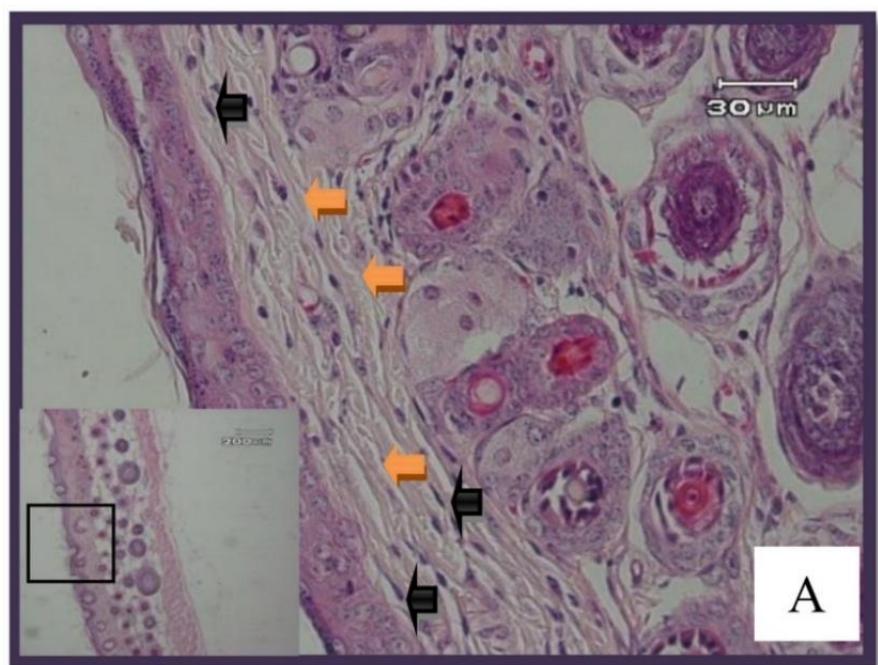
Parameter makroskopis digunakan untuk menilai perubahan bentuk dan tampilan kulit selama proses penyembuhan luka. Pemeriksaan ini merupakan langkah awal yang penting karena dapat menggambarkan karakteristik luka, meliputi ukuran, warna, bau, eksudat, serta tanda peradangan yang berkaitan dengan infeksi. Ukuran luka, baik panjang, lebar, luas permukaan, maupun kedalamannya, menjadi indikator utama dalam asesmen klinis untuk menentukan tingkat penyembuhan dan mendokumentasikan perkembangan luka secara kuantitatif. Pengukuran tersebut membantu memantau apakah luka mengalami perbaikan, memburuk, atau tetap statis, sekaligus menjadi dasar dalam merencanakan intervensi perawatan. Kecepatan pemulihan sangat dipengaruhi oleh jenis dan luas area luka, di mana cedera yang lebih dalam serta melibatkan kerusakan pembuluh darah memerlukan waktu penyembuhan yang lebih lama (Ollu *et al.*, 2019).

2.3.2 Mikroskopis

Penyembuhan luka sayat tediri dari beberapa fase yaitu fase inflamasi, proliferasi dan maturasi. Pada fase proliferasi, fibroblas berperan penting untuk menghasilkan protein untuk penyembuhan luka salah satunya adalah kolagen. Fase inflamasi ditandai dengan adanya respons vaskuler dan seluler yang terjadi akibat perlukaan yang terjadi pada jaringan kulit. Jaringan parut kolagen terus melakukan re-

organisasi dan akan menguat beberapa bulan. Tujuan fase maturasi ini adalah menyempurnakan terbentuknya jaringan baru menjadi jaringan penyembuhan kuat dan bermutu (Primadina *et al.*, 2019).

Fibroblas memegang peran penting dalam proses penyembuhan luka melalui mekanisme fibroplasia, yaitu peningkatan jumlah sel fibroblas pada area cedera yang berkontribusi pada pembentukan jaringan granulasi dan penyusunan kembali matriks dermal. Sel ini bermigrasi ke lokasi luka sejak fase awal penyembuhan, memproduksi kolagen, proteoglikan, elastin, dan protein matriks lainnya, serta berperan dalam kontraksi luka. Secara morfologis, fibroblas berbentuk fusiformis di antara serabut jaringan, memiliki tonjolan sitoplasma tidak beraturan, inti berbentuk bulat telur dengan kromatin halus, dan nukleolus jelas. Pada jaringan ikat longgar, bentuknya cenderung stelata akibat susunan serabut yang tidak teratur. Sel ini mengandung banyak mikrofilamen proaktin dan mikrotubul yang mendukung fungsinya (Sutiyo, 2020).



Gambar 2.2 Sel Fibroblas pada Fase Proliferasi. Sel fibroblas (➡) dan kolagen (➡) (Amita *et al.*, 2017).

Selama fase proliferasi, fibroblas mengalami peningkatan aktivitas untuk memproduksi protein struktural seperti kolagen yang menjadi komponen utama matriks ekstraseluler. Proliferasi dan migrasi fibroblas secara alami distimulasi oleh sitokin dan faktor pertumbuhan, seperti interleukin-1 β (IL-1 β), platelet-derived growth factor (PDGF), fibroblast growth factor (FGF), dan transforming growth factor- β (TGF- β) yang dihasilkan oleh makrofag maupun jaringan granulasi. Senyawa bioaktif seperti flavonoid dan saponin juga dapat meningkatkan jumlah fibroblas melalui stimulasi sel imun dan sekresi growth factor. Aktivitas fibroblas ini memuncak pada hari ke-7 hingga ke-14, kemudian berlanjut ke tahap *remodelling* hingga struktur kulit kembali mendekati normal (Adriana *et al.*, 2015).

2.4 Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

2.4.1 Taksonomi dan Morfologi Daun Sirih Hijau

Sirih (*Piper betle* L.) merupakan tanaman berumah dua (*dioecious*) yang termasuk kelompok tumbuhan merambat atau memanjang dengan batang lunak. Bagian pangkal batang bersifat berkayu, sedangkan batang muda berwarna hijau dan batang tua berwarna cokelat muda. Batang berbentuk silindris, beralur, dengan buku-buku yang jelas dan memiliki akar pelekat pada setiap buku. Daun bersifat tunggal, tersusun berseling, berbentuk bulat telur hingga lonjong dengan pangkal berbentuk jantung atau membulat. Ukuran daun berkisar 5–18 cm panjangnya dan 2,5–10,75 cm lebarnya, sedangkan bagian bawah tulang daun berwarna putih dan umumnya tidak berambut atau memiliki rambut yang sangat halus (Jokopriyambodo *et al.*, 2017). Daun sirih hijau dapat dilihat dari gambar 2.3 (Hermiati *et al.*, 2013).



Gambar 2.3 Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) (Hermiati *et al.*, 2013).

Tanaman sirih hijau memiliki taksonomi sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Klas	: Magnolidae
Ordo	: Piperales
Famili	: Piperaceae
Genus	: <i>Piper</i>
Spesies	: <i>Piper betle</i> L.

Tanaman sirih hijau dapat tumbuh optimal di daerah tropis dengan kelembaban tinggi, tanah kaya bahan organik, dan pH netral hingga sedikit basa (7–7,5). Habitat alaminya berada di hutan hujan dengan ketinggian hingga 900 meter di atas permukaan laut. Tanaman ini banyak ditemukan di Asia Tenggara, termasuk Indonesia, dan biasanya tumbuh di tempat teduh atau berhutan yang menyediakan dukungan fisik untuk rambatannya (Rahadian, 2018).

Bagian tanaman sirih seperti akar, biji, maupun daun, memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai obat, namun yang paling sering

digunakan adalah bagian daunnya. Sejak lama daun sirih dimanfaatkan secara tradisional untuk mengatasi berbagai keluhan, antara lain batuk, sakit gigi, hingga sebagai penyegar. Pemanfaatan tersebut didukung oleh kandungan senyawa kimia alami pada daun sirih yang terbukti memiliki aktivitas antimikroba (Olla, 2019).

2.4.2 Kandungan Daun Sirih Hijau

Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) memiliki beberapa kandungan senyawa bioaktif seperti alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, steroid, triterpenoid, serta senyawa lain yang berperan penting dalam proses penyembuhan luka. Kandungan tersebut memberikan efek farmakologis, antara lain sebagai antibakteri, antiinflamasi, antioksidan, dan stimulator pertumbuhan jaringan baru. Berdasarkan hasil penelitian Darmawan *et al.* (2021), ekstrak daun sirih hijau terbukti efektif mempercepat proses penyembuhan luka melalui mekanisme antiinflamasi, proliferasi sel, peningkatan pembentukan kolagen, serta memiliki aktivitas antibakteri. Pemberian topikal dalam bentuk salep atau krim dengan konsentrasi 2–10% mampu mempercepat waktu penyembuhan luka secara signifikan dibandingkan kontrol. Kandungan daun sirih hijau dalam proses penyembuhan luka dapat dilihat pada tabel 2.1 (Widiyastuti *et al.*, 2020; Darmawan *et al.*, 2021; Ningsih, 2020).

Tabel 2.2 Kandungan Daun Sirih Hijau dalam Proses Penyembuhan Luka

Kandungan Aktif	Fungsi Utama	Mekanisme/Manfaat Terkait Penyembuhan Luka
Flavonoid	Antioksidan, antiinflamasi, antibakteri	Menangkal radikal bebas yang dapat merusak sel, menghambat mediator inflamasi, dan menghambat pertumbuhan bakteri pada luka sehingga mempercepat penyembuhan (Widiyastuti <i>et al.</i> , 2020)
Fenolik (Eugenol dan Hidroksikavikol)	antiseptik, antiinflamasi, dan analgesik.	Menghambat pertumbuhan bakteri, mendukung kondisi luka tetap steril, mengurangi nyeri, dan mempercepat proses remodeling jaringan (Darmawan <i>et al.</i> , 2021)
Tanin	Astringen, hemostatik, antimikroba	Mengendapkan protein dan menutup pori jaringan sehingga menghentikan perdarahan; menghambat pertumbuhan bakteri dengan merusak dinding sel dan sitoplasma; mempercepat regenerasi jaringan pada area luka (Ningsih, 2020).
Alkaloid	Antimikroba, analgesik ringan	Menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur, serta membantu mengurangi rasa nyeri pada area luka (Widiyastuti <i>et al.</i> , 2020)

2.5 Ekstrak Etanol Daun dan Formula Krim

2.5.1 Ekstrak Daun Sirih Hijau

Ekstrak daun sirih hijau yang baik diperoleh dari pemilihan daun berkualitas yaitu daun berwarna hijau segar dengan kondisi tidak terlalu muda maupun terlalu tua, sehingga kandungan zat aktif yang dihasilkan lebih optimal. Daun siap panen biasanya berumur sekitar empat bulan, karena pada usia tersebut daun telah tumbuh lebat dengan jumlah 16–20 helai. Ciri daun yang subur ditandai dengan ukuran panjang sekitar 10 cm dan lebar 5 cm, serta memiliki tekstur tebal dan kaku saat disentuh. Pemanenan dilakukan secara bertahap dari bagian bawah tanaman ke arah atas, dengan pemotongan sekitar 60 cm dari permukaan tanah untuk mengurangi kemungkinan kontaminasi debu atau kotoran (Olla, 2019).

2.5.2 Metode Ekstraksi dengan Maserasi Etanol

Maserasi merupakan metode ekstraksi tradisional yang masih banyak digunakan dalam isolasi senyawa aktif dari bahan alam, termasuk ekstraksi dari daun sirih hijau (*Piper betle* L.). Metode ini dilakukan dengan merendam bahan kering ke dalam pelarut, dalam hal ini etanol, pada suhu ruang selama waktu tertentu untuk melarutkan kandungan bioaktif tanpa merusaknya. Prinsip kerja maserasi didasarkan pada difusi senyawa aktif dari jaringan tanaman ke dalam pelarut yang difasilitasi oleh perbedaan konsentrasi (Azahar, Mokhtar & Arifin, 2020). Etanol dipilih sebagai pelarut karena kemampuannya melarutkan senyawa polar dan semipolar. Senyawa polar seperti fenolik dan flavonoid, serta senyawa semipolar, seperti minyak atsiri yang juga merupakan komponen penting daun sirih hijau. Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hijau yang dihasilkan melalui maserasi etanol mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti eugenol, chavicol, dan tanin yang memiliki aktivitas antibakteri, antiinflamasi, serta antioksidan tinggi (Jayalakshmi, Raveesha & Murali, 2015; Sarma *et al.*, 2018).

Proses ekstraksi maserasi biasanya dimulai dengan pengeringan daun sirih hijau, diikuti dengan penghancuran hingga menjadi bubuk kasar untuk memperbesar permukaan kontak dengan pelarut. Bubuk ini kemudian direndam dalam etanol 70–96% dengan perbandingan bahan terhadap pelarut sekitar 1:7 hingga 1:10. Lama perendaman berkisar antara 24 hingga 72 jam, dengan pengadukan sesekali untuk mempercepat difusi zat aktif ke dalam pelarut. Setelah maserasi selesai, campuran disaring, dan filtrat dievaporasi untuk mendapatkan ekstrak kental daun sirih hijau (Azahar, Mokhtar & Arifin, 2020).

Penggunaan metode maserasi dengan etanol ini memiliki beberapa keunggulan dalam ekstraksi daun sirih hijau. Metode ini mempertahankan stabilitas senyawa aktif karena dilakukan pada suhu ruang, serta relatif murah dan sederhana sehingga sesuai untuk skala

penelitian maupun produksi komersial. Selain itu, etanol memiliki sifat antibakteri alami yang membantu mencegah pertumbuhan mikroorganisme selama proses perendaman panjang, menjaga kualitas ekstrak yang dihasilkan. Studi terbaru juga mengungkapkan bahwa ekstrak daun sirih hijau yang diperoleh melalui maserasi etanol efektif menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* berkat kandungan senyawa fenoliknya yang tinggi (Sarma *et al.*, 2018).

2.5.3 Formulasi dan Konsentrasi Krim

Krim merupakan sediaan topikal setengah padat yang terdiri atas campuran fase minyak dan fase air yang distabilkan dengan emulsifier. Pemilihan basis krim harus memperhatikan kenyamanan penggunaan, stabilitas fisik, serta kemampuan melepaskan zat aktif secara optimal. Pada umumnya, krim dengan tipe minyak dalam air (O/W) lebih disukai karena mudah diaplikasikan, tidak lengket, dan mudah dicuci dengan air. Formulasi krim juga memerlukan tambahan bahan seperti humektan, emolien, dan pengawet untuk mendukung stabilitas serta keamanan produk. Oleh karena itu, penyusunan formulasi krim herbal harus memperhatikan aspek stabilitas fisik maupun farmakologis agar sediaan tetap efektif (Priani, Sukandar & Rahmat, 2018).

Konsentrasi zat aktif dalam krim sangat menentukan efektivitas farmakologisnya. Pada penelitian berbasis bahan alam, konsentrasi umumnya divariasikan dalam beberapa taraf untuk menentukan konsentrasi optimal yang efektif dan aman. Misalnya, penggunaan ekstrak daun herbal dalam konsentrasi 5%, 10%, hingga 15% sering dijadikan standar uji awal untuk melihat aktivitas antibakteri atau penyembuhan luka. Konsentrasi yang lebih tinggi memang dapat meningkatkan aktivitas farmakologis, tetapi juga berisiko menurunkan stabilitas krim dan menimbulkan iritasi kulit. Oleh karena itu, pengujian dengan variasi konsentrasi diperlukan agar

diperoleh formulasi dengan efektivitas optimal tanpa menimbulkan efek samping (Yuliani & Dewi, 2020).

Formulasi krim ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) merupakan salah satu contoh pengembangan sediaan herbal yang potensial. Daun sirih hijau diketahui mengandung senyawa fenol, flavonoid, dan tanin yang berperan sebagai antibakteri serta mempercepat proses penyembuhan luka. Dengan menggunakan variasi konsentrasi ekstrak 5%, 10%, dan 15%, peneliti dapat mengevaluasi perbedaan efek farmakologis terhadap proses penyembuhan luka sayat. Selain itu, optimasi basis krim seperti penggunaan cera alba dan vaselin album telah terbukti mendukung stabilitas fisik sediaan, termasuk homogenitas, pH, daya sebar, dan daya lekat yang sesuai standar farmakope (Amelia, Wahyuni & Azzahra, 2021).

2.6 Mencit Jantan (*Mus musculus*) Galur Balb-C

Mencit (*Mus musculus*) merupakan salah satu hewan laboratorium yang paling sering digunakan dalam penelitian biomedis karena memiliki ukuran tubuh kecil, siklus reproduksi cepat, dan kemudahan pemeliharaan. Dalam penggunaannya, prinsip etis yang harus dipatuhi meliputi *replacement* (mengganti hewan uji dengan metode lain jika memungkinkan), *reduction* (mengurangi jumlah hewan yang digunakan tanpa mengurangi validitas data), dan *refinement* (memperbaiki teknik dan prosedur agar meminimalkan rasa sakit atau stres). Selain itu, mencit juga harus diperlakukan sesuai prinsip lima kebebasan hewan: bebas dari rasa lapar dan haus, bebas dari ketidaknyamanan, bebas dari rasa nyeri, luka, atau penyakit, bebas dari rasa takut dan stres, serta bebas mengekspresikan perilaku alami. Penerapan prinsip-prinsip tersebut bertujuan untuk memastikan kesejahteraan hewan, meminimalkan stres, serta meningkatkan akurasi hasil penelitian (Mutiarahmi *et al.*, 2021). Mencit (*Mus musculus*) dapat dilihat pada gambar 2.4 (Khairani *et al.*, 2024).



Gambar 2.4 Mencit (*Mus musculus*) (Khairani *et al.*, 2024).

Klasifikasi mencit menurut Yusuf *et al.*, (2022) adalah sebagai berikut

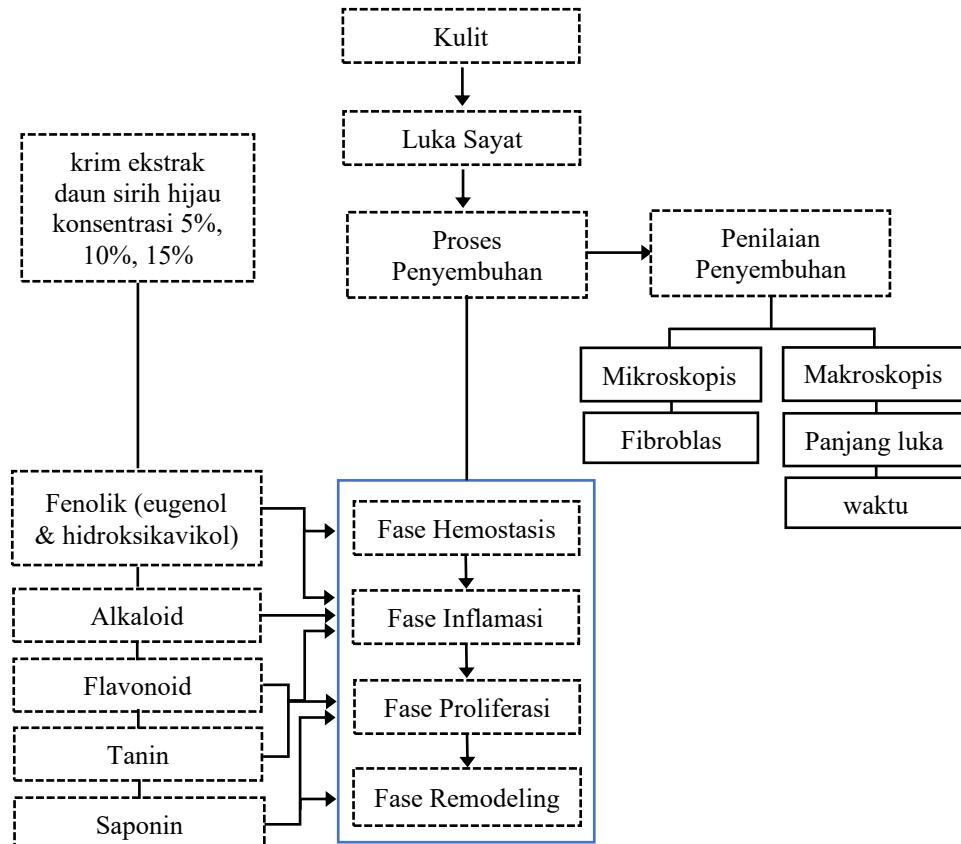
Kingdom	:	Animalia
Filum	:	Chordata
Kelas	:	Mamalia
Ordo	:	Rodentia
Famili	:	Muridae
Genus	:	<i>Mus</i>
Spesies	:	<i>Mus musculus</i>

Mencit jantan galur BALB/c adalah salah satu strain inbred yang banyak digunakan dalam penelitian biomedis karena memiliki genotipe yang sangat homogen akibat perkawinan sedarah selama lebih dari 20 generasi. Strain ini memiliki fenotipe albino (bulu putih dan mata merah), ukuran tubuh sedang (20–25 gram pada jantan dewasa), dan sifat jinak sehingga mudah ditangani di laboratorium. Penggunaan mencit jantan dipilih dalam banyak penelitian karena menghindari fluktuasi hormonal yang terjadi pada mencit betina akibat siklus estrus yang dapat memengaruhi parameter biologis seperti inflamasi, metabolisme, dan kecepatan penyembuhan luka. Selain itu, mencit jantan BALB/c memiliki daya reproduksi tinggi, masa hidup relatif panjang (hingga ±2 tahun di laboratorium), dan toleransi tinggi terhadap kondisi pemeliharaan standar (temperatur 20–26 °C, kelembapan 40–70%). Karakteristik ini menjadikannya model hewan yang sangat sesuai

untuk studi histologi penyembuhan luka, termasuk uji efektivitas bahan herbal seperti ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) pada luka sayat (Cheng *et al.*, 2024).

2.7 Kerangka Teori

Kerangka teori penelitian ini menjelaskan bahwa penyembuhan luka sayat merupakan proses biologis kompleks yang melalui fase hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodeling, di mana fibroblas berperan penting dalam pembentukan kolagen dan jaringan granulasi. Ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) mengandung flavonoid, tanin, dan saponin yang berfungsi sebagai antibakteri, antiinflamasi, dan antioksidan sehingga mampu mempercepat aktivitas fibroblas. Dengan demikian, pemberian krim ekstrak daun sirih diharapkan dapat mempercepat penyembuhan luka sayat pada mencit dibandingkan kelompok kontrol dan standar terapi. Kerangka teori dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 2.5 Kerangka Teori

Keterangan :

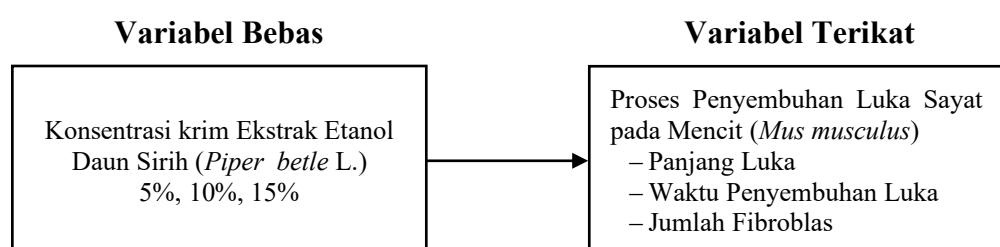
[] : Variabel diteliti

[] : Terdiri dari

[] : Variabel tidak diteliti

2.8 Kerangka Konsep

Kerangka konsep dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 2.6 Kerangka Konsep

2.9 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini dirumuskan sebagai berikut:

Hipotesis 1

H0 : Tidak terdapat pengaruh pemberian krim daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap kecepatan proses penyembuhan luka sayat pada mencit (*Mus musculus*).

Ha : Terdapat pengaruh pemberian krim daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap kecepatan proses penyembuhan luka sayat pada mencit (*Mus musculus*).

Hipotesis 2

H0 : Tidak terdapat pengaruh berbagai konsentrasi krim ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap proses penyembuhan luka sayat pada mencit (*Mus musculus*).

Ha : Terdapat pengaruh berbagai konsentrasi krim ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap proses penyembuhan luka sayat pada mencit (*Mus musculus*).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratorium dengan rancangan *post-test only control group design*. Rancangan ini digunakan untuk mengetahui pengaruh berbagai konsentrasi krim ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap proses penyembuhan luka sayat pada mencit jantan (*Mus musculus*) galur Balb-C. Desain ini dapat mengukur dampak perbandingan dari intervensi pada kelompok eksperimen dan kelompok kontrol. Pemilihan desain ini juga didasarkan pada alasan metodologis bahwa pengukuran awal (pre-test) tidak dapat dilakukan karena model luka sayat bersifat permanen, sehingga evaluasi hanya dilakukan melalui pengamatan setelah intervensi (*post-test*). Sampel penelitian terdiri atas 30 ekor mencit jantan galur Balb-C yang dipilih secara acak, kemudian dibagi menjadi lima kelompok. Kelompok tersebut terdiri dari dua kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan dengan variasi konsentrasi ekstrak etanol daun sirih hijau yang berbeda.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1 Waktu Penelitian

Waktu penelitian ini berlangsung pada bulan September hingga Oktober 2025.

3.2.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Animal House Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung, dan

Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah mencit jantan (*Mus musculus*) galur Balb-C yang sehat berumur 5–6 minggu dengan berat 20–40 gram. Pada usia ini, mencit umumnya memiliki stabilitas metabolisme yang lebih konsisten serta keseimbangan hormon yang relatif konstan dibandingkan tahap pertumbuhan yang lebih muda. Selain itu, kesiapan respons terhadap penyakit atau pengobatan lebih optimal karena sistem imun pada usia 5–6 minggu telah matang, sehingga memberikan respons biologis yang lebih stabil dan hasil penelitian yang lebih konsisten. Penggunaan mencit jantan dipilih untuk menghindari pengaruh fluktuasi hormon siklus estrus yang terjadi pada mencit betina, karena variasi hormonal tersebut dapat memengaruhi respons fisiologis dan hasil penelitian.

3.3.2 Sampel Penelitian

Penentuan jumlah sampel pada penelitian ini menggunakan rumus Freuderer. Rumus ini digunakan dalam rancangan acak lengkap (RAL) untuk uji eksperimental. Rumusnya adalah:

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

Dimana t adalah jumlah kelompok perlakuan dan n merupakan jumlah ulangan atau sampel dalam setiap kelompok. Penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan sehingga $t = 5$, maka didapatkan:

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

$$n = 5$$

Keterangan:

T : Kelompok perlakuan

n : Jumlah sampel untuk 1 kelompok perlakuan

Besar sampel (n) $\rightarrow t \times n = 5 \times 5 = 25$ ekor mencit

Dengan demikian didapatkan $n \geq 5$. Penelitian ini menggunakan 5 ekor mencit tiap kelompok, sehingga, dibutuhkan 25 ekor mencit jantan dewasa (*Mus musculus*) galur Balb-C. Setiap kelompok diberi tambahan sampel untuk antisipasi terjadinya *drop out* eksperimen dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$N = \frac{n}{1-f}$$

Keterangan:

N : Besar sampel koreksi

n : Jumlah sampel berdasarkan estimasi

f : Perkiraan proporsi *drop out* sebesar 10 %

$$N = \frac{5}{1-f}$$

$$N = \frac{5}{1-10\%}$$

$$N = \frac{5}{1-\frac{10}{100}}$$

$$N = \frac{5}{\frac{9}{10}}$$

$$N = \frac{50}{9}$$

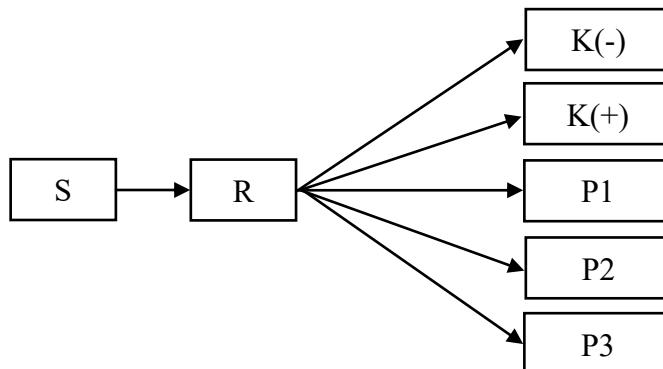
$$N = 5.56$$

$$N = 6$$

Berdasarkan hasil perhitungan tersebut, setiap kelompok ditambahkan satu ekor mencit sebagai antisipasi terhadap kemungkinan *drop out*. Dengan demikian, jumlah keseluruhan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebanyak 30 ekor mencit. Pemilihan sampel dilakukan menggunakan metode *simple random sampling*.

3.3.3 Teknik Sampling

Pembagian mencit ke dalam kelompok dilakukan dengan randomisasi sederhana menggunakan *number generator*. Setiap mencit diberi nomor urut dari 1 hingga 30, kemudian nomor tersebut dimasukkan ke dalam aplikasi/alat *random number generator*. Nomor yang keluar secara acak selanjutnya dialokasikan ke dalam lima kelompok percobaan, sehingga masing-masing kelompok terdiri atas enam ekor mencit. Metode ini dipilih karena praktis, objektif, dan memastikan setiap mencit memiliki peluang yang sama untuk ditempatkan pada kelompok tertentu. Randomisasi ini yang dapat dilihat sebagai berikut:



Gambar 3.1 Kelompok Perlakuan.

Keterangan:

S : Sampel

R : Randomisasi

K : Kontrol

P : Perlakuan

K (-) : Kontrol negatif sebagai pembanding mencit yang dibuat luka sayat, tanpa diberi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.).

K (+) : Kontrol positif sebagai pembanding mencit yang dibuat luka sayat dengan pemberian krim asam fusidat

P1 : Mencit yang dibuat luka sayat dengan pemberian krim ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan konsentrasi 5 % selama 14 hari.

P2 : Mencit yang dibuat luka sayat, dengan pemberian krim ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan konsentrasi 10 % selama 14 hari.

P3 : Mencit yang dibuat luka sayat, dengan pemberian krim ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan konsentrasi 15 % selama 14 hari.

3.4 Kriteria Sampel

3.4.1 Kriteria Inklusi

1. Mencit dewasa berjenis kelamin jantan galur Balb-C berusia 5-6 minggu.
2. Mencit sehat ditandai dengan bulu tidak rontok dan tidak kusam, aktivitas aktif serta tidak ada kelainan anatomi.
3. Berat badan 20-40 gram.

3.4.2 Kriteria Eksklusi

1. Mati selama waktu penelitian.
2. Adanya penurunan berat badan lebih dari 10% selama masa adaptasi di Animal House.

3.5 Identifikasi Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas (*independent variable*)

Variabel bebas pada penelitian ini merupakan kelompok mencit yang diberi perlakuan berbagai konsentrasi krim ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%

3.5.2 Variabel Terikat (*dependent variable*)

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah proses penyembuhan luka sayat dengan menilai panjang luka, waktu penyembuhan luka serta peningkatan jumlah fibroblas lapisan kulit mencit jantan dewasa (*Mus musculus*) galur Balb-C.

3.6 Definisi Operasional

Definisi operasional yang digunakan untuk memudahkan pelaksanaan penelitian dan agar penelitian tidak menjadi terlalu luas, yaitu sebagai berikut:

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
Konsentrasi krim Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%.	Konsentrasi larutan ekstrak daun sirih hijau yang dibuat dalam bentuk sediaan krim menggunakan pelarut etanol 70% untuk diberikan topikal pada luka mencit.	Timbangan analitik	krim dalam konsentrasi 5%, 10%, dan 15% lalu dioleskan 2 kali sehari selama 14 hari	Konsentrasi krim daun sirih hijau dalam persen (%)	Ordinal
Proses Penyembuhan Luka Sayat yaitu : panjang luka, waktu proses penyembuhan dan jumlah fibroblas	Proses penyembuhan jaringan luka selama 14 hari yang ditandai dengan penutupan luka secara visual dan peningkatan sel fibroblas pada jaringan granulasi.	Jangka sorong dan mikroskop cahaya	Menghitung panjang dan waktu proses penyembuhan luka setiap hari sampai hari ke-14; Preparat H&E dikode secara blinding, hitung fibroblas pada 5 bidang pandang acak, lalu ambil rata-rata pada hari ke-15	Hasil pengamatan panjang dan waktu penyembuhan luka dengan satuan mm; Nilai rerata peningkatan jumlah dengan satuan sel/field.	Numerik

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat Perawatan Hewan Uji

Alat yang digunakan untuk melakukan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Kandang hewan;
2. Tempat pakan hewan;
3. Tempat minum hewan;
4. Timbangan untuk mengukur berat badan mencit (dalam satuan gram);
5. Penutup kandang dari anyaman kawat;
6. Sarung tangan; dan
7. Minor set.

3.7.2 Alat Pembuatan Ekstrak

Alat yang digunakan selama tahap pembuatan ekstrak ialah:

1. *Sonicator*;
2. *Rotatory evaporator*;
3. Alat penyaring vacuum;
4. Penangas air; dan
5. Oven.

3.7.3 Alat Pembuatan Preparat

Alat yang digunakan pada tahap pembuatan preparat ialah:

1. *Object glass*;
2. *Deck glass*;
3. *Embedding cassette*;
4. *Rotary microtome*;
5. *Water bath*;
6. *Platening table*;
7. *Autochnicom processor*;
8. *Staining rack*;
9. *Staining jar*;

10. *Histoplast*; dan
11. *Paraffin dispenser*.

3.7.4 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini ialah:

1. Mencit jantan dewasa (*Mus musculus*) galur Balb-C;
2. krim ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan konsentrasi 5%, 10% dan 15%;
3. Akuades; dan
4. Pakan dan minum mencit.

3.7.5 Bahan Pembuatan Ekstrak

Bahan yang digunakan pada pembuatan ekstrak etanol daun sirih hijau ialah:

1. Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) diperoleh secara *offline* dari Desa Wana, Kecamatan Melinting, Lampung Timur; dan
2. Etanol 70%.

3.7.6 Bahan Pembuatan Krim

Bahan untuk pembuatan krim ialah :

1. Ekstrak daun sirih hijau;
2. Cera alba;
3. Vaseline albumin;
4. Asam stearat;
5. Propilen glikol;
6. Trietanolamin (TEA);
7. Nipamin;
8. Nipasol; dan
9. Akuades.

3.7.7 Bahan Pembuatan Preparat

Bahan untuk pembuatan preparat histopatologi ialah:

1. Larutan formalin 10% untuk fiksasi;

2. Xilol;
3. Akuades;
4. Pewarna haematoxylin eosin;
5. Parafin; dan
6. Alkohol.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Determinasi Tumbuhan

Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang digunakan dalam penelitian ini dipetik dalam kondisi segar dari daerah Desa Wana, Kecamatan Melinting, Kabupaten Lampung Timur, Provinsi Lampung. Proses determinasi dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung untuk memastikan bahwa sampel yang digunakan benar merupakan daun sirih hijau (*Piper betle* L.). Kegiatan determinasi ini bertujuan menjamin ketepatan identifikasi spesies tumbuhan sehingga hasil penelitian dapat dipertanggungjawabkan sebagai data yang valid dan relevan dengan spesies yang telah terverifikasi.

3.8.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau

Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) didapatkan dari daerah Desa Wana, Kecamatan Melinting, Lampung Timur, sebanyak dua kilogram. Pembuatan ekstrak daun sirih hijau dimulai dengan proses preparasi sampel. Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) diseleksi, dicuci dan selanjutnya dikeringkan menggunakan *oven* dengan suhu 55°C – 60°C selama lima hari. Selanjutnya, daun dipotong berukuran kecil, lalu dihaluskan menggunakan blender dan diayak hingga menghasilkan simplisia. Tahap ekstraksi dimulai dengan maserasi simplisia sebanyak dua ratus gram menggunakan etanol 70% selama 3 hari disertai pengadukan. Filtrat yang dihasilkan dari maserasi disaring dengan kertas saring sehingga didapatkan filtrat murni. Filtrat murni

dievaporasi dengan suhu rendah 50°C menggunakan *rotary vacum evaporator* sehingga didapatkan maserat (Fajriati & Azizah, 2024).

3.8.3 Uji Fitokimia Daun Sirih Hijau

Uji fitokimia dilakukan dengan tujuan untuk mendeteksi kandungan senyawa metabolit sekunder yang berperan dalam aktivitas biologis suatu tanaman yang dapat berkontribusi pada efek farmakologis seperti antibakteri, antioksidan, antivirus, dan antiinflamasi. Uji fitokimia daun sirih hijau dalam penelitian ini dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas MIPA Universitas Lampung. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Muthmainnah (2017), prosedur uji fitokimia dilakukan dengan teknik sebagai berikut.

3.8.3.1 Uji Steroid

Uji steroid dilakukan dengan menyiapkan 2 ml ekstrak sampel dan dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan 2 ml etil asetat dan dikocok. Lapisan etil asetat diambil lalu ditetesi pada plat tetes dibiarkan sampai kering. Setelah kering, ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Apabila terbentuk warna hijau berarti positif steroid.

3.8.3.2 Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan menyiapkan 2 ml ekstrak dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Setelah itu ditetesi dengan 5 ml HCl 2N dan dipanaskan kemudian didinginkan lalu dibagi dalam 3 tabung reaksi, masing-masing 1 ml. Tiap tabung ditambahkan dengan masing-masing pereaksi. Pada penambahan pereaksi Mayer, positif mengandung alkaloid jika membentuk endapan putih atau kuning. Pada penambahan pereaksi Wagner, positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan coklat. Pada penambahan pereaksi

Dragendrof, positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan jingga.

3.8.3.3 Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan menyiapkan ekstrak 1 ml dan dicampur dengan pelarut HCl pekat sebanyak 2 tetes. Setelah itu ditambahkan serbuk Mg (magnesium) dan diamati terbentuknya warna jingga hingga merah menandakan adanya flavonoid.

3.8.3.4 Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan cara menambahkan 1 ml ekstrak ke dalam 10 ml air panas dan didinginkan setelah itu dikocok selama 10 detik. Buih yang terbentuk akan ditambahkan 1 tetes HCl 2N. Apabila buih tidak hilang menandakan adanya senyawa saponin.

3.8.3.5 Uji Tanin

Uji tanin dilakukan dengan menyiapkan 1 ml ekstrak dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 10 ml air panas. Setelah itu dididihkan selama 5 menit kemudian filtratnya ditambahkan FeCl₃ 3-4 tetes, jika berwarna hijau biru (hijau-hitam) berarti positif adanya tanin katekol sedangkan jika berwarna biru hitam berarti positif adanya tanin pirogalol.

3.8.4 Pembuatan Krim Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau

Krim ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) diformulasikan dalam tiga konsentrasi, yaitu 5% (F1), 10% (F2), dan 15% (F3). Setiap formula dibuat dengan sediaan 30 gram menggunakan basis yang sama sehingga perbedaan hanya terletak pada kadar ekstrak yang

ditambahkan. Menimbang semua bahan yang diperlukan yang terdapat dalam formula, yaitu fase minyak (asam stearat, cera alba, vaselin album) dan fase air (propilen glikol, triethanolamin, aquadest). Masing-masing fase minyak dan fase air dipanaskan diatas waterbath pada suhu 60°C sampai lebur. Fase minyak ditambahkan nipasol, sedangkan fase air ditambahkan nipagin. Campurkan fase air dan fase minyak sedikit demi sedikit diaduk sampai terbentuk masa basis krim yang homogen. Pencampuran dilakukan dimortir panas dengan cara fase minyak di dalam mortir ditambahkan dengan fase air dengan cara ditambahkan sedikit demi sedikit, diaduk sampai menjadi basis krim (Erwiyan et al., 2017). Formulasi krim daun sirih hijau pada tabel sebagai berikut :

Tabel 3.2 Formulasi Krim Daun Sirih Hijau konsentrasi 5%, 10%, 15%.

Komponen	Fungsi	% b/b	5% (g)	10% (g)	15% (g)
Ekstrak daun sirih hijau	Zat aktif	5 / 10 / 15	1,5	3,0	4,5
Cera alba	Emolien, pengental	8,798	2,64	2,64	2,64
Vaselin album	Emolien	1,202	0,36	0,36	0,36
Asam stearat	Emolien	15	4,5	4,5	4,5
Propilen glikol	Humektan	15	4,5	4,5	4,5
Trietanolamin (TEA)	Emulsifier	1,5	0,45	0,45	0,45
Nipagin	Pengawet	0,15	0,045	0,045	0,045
Nipasol	Pengawet	0,05	0,015	0,015	0,015
Aquadest	Pelarut	ad 100	15,99	15,48	13,04
Total		100	30 g	30 g	30 g

3.8.5 Preparasi Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan hewan uji berupa mencit jantan galur Balb-C. Sebanyak 30 ekor mencit jantan (*Mus musculus*) yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dibagi menjadi lima kelompok. Kelompok kontrol negatif (K-) tidak diberikan perlakuan, sedangkan kelompok kontrol positif (K+) memperoleh terapi antibiotik asam fusidat. Krim asam fusidat digunakan sebagai kontrol positif karena menurut PERDOSKI (2024), antibiotik topikal ini merupakan lini pertama (*first-line therapy*) dalam tata laksana infeksi kulit superfisial akibat *Staphylococcus aureus*. Dengan efektivitas

klinis yang telah terbukti dan bentuk sediaan krim yang sesuai untuk aplikasi kulit, asam fusidat menjadi standar pembanding yang tepat bagi uji efektivitas sediaan herbal. Sementara itu, kelompok perlakuan terdiri atas P1 yang diberikan ekstrak daun sirih hijau konsentrasi 5%, P2 yang diberikan ekstrak daun sirih hijau konsentrasi 10%, dan P3 yang diberikan ekstrak daun sirih hijau konsentrasi 15%. Kemudian diadaptasi selama 7 hari di Animal House Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan diberi pakan serta minum standar, setelah itu dilakukan penimbangan berat badan dan penandaan untuk menentukan pembagian perlakuan pada setiap kelompoknya (Fajriati & Azizah, 2024).

3.8.6 Perlukaan Hewan Uji

Punggung mencit dicukur dan ditandai menggunakan spidol berbentuk lingkaran dengan diameter ± 3 cm untuk memudahkan proses pengamatan. Area yang diinsisi kemudian didesinfeksi menggunakan alkohol 70% dan diberi anestesi, lalu dibuat luka sepanjang 1 cm dengan kedalaman lapisan dermis menggunakan skapel. Setelah itu, luka dibersihkan dengan air mengalir dan diberikan perlakuan sesuai dengan kelompok masing-masing (Surbakti, 2020).

3.8.7 Perlakuan pada Mencit

Perlakuan hewan uji dibagi menjadi lima kelompok. Kelompok 1 sebagai kontrol negatif hanya dibuat luka sayat tanpa perlakuan dan hanya pembersihan luka saja. Kelompok 2 sebagai kontrol positif dibuat luka sayat dengan pemberian asam fusidat. Kelompok 3, 4 dan 5 diberi krim ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan konsentrasi masing-masing 5%, 10%, dan 15%. Pemberian bahan uji dilakukan 2 kali sehari selama 14 hari sesuai dengan kelompok masing-masing.

3.8.8 Uji Iritasi

Uji iritasi awal dilakukan untuk menilai potensi reaksi iritasi akut dari bahan uji terhadap kulit mencit dengan mengacu pada Pedoman OECD Nomor 404 (*Acute Dermal Irritation/Corrosion*) menggunakan metode *Draize Scoring System*. Pengujian dilakukan secara visual selama 24 jam setelah bahan uji diaplikasikan pada daun telinga kanan mencit, sedangkan daun telinga kiri digunakan sebagai kontrol pembanding. Parameter yang diamati meliputi eritema (kemerahan) dan edema (pembengkakan) yang dinilai berdasarkan skor 0 sampai 4 sesuai dengan skala Draize. Penilaian dilakukan dengan mengamati perubahan warna, tingkat pembengkakan, serta kemungkinan timbulnya luka pada area aplikasi. Apabila dalam waktu 24 jam tidak terdapat reaksi kemerahan atau pembengkakan, bahan uji dinyatakan tidak menimbulkan iritasi akut, sedangkan munculnya reaksi ringan hingga sedang menunjukkan adanya potensi iritasi sementara yang bersifat reversibel.

Tabel 3.3 Skoring Eritema dan Edema

Pembentukan Eritema	Nilai Skor
Tidak ada eritema	Skor 0
Eritema sangat kecil (hampir tidak dapat dibedakan)	Skor 1
Eritema terlihat jelas	Skor 2
Eritema sedang sampai parah	Skor 3
Eritema parah (merah daging) sampai pembentukan eschar yang menghambat penilaian	Skor 4
Pembentukan Edema	Nilai Skor
Tidak ada edema	Skor 0
Edema sangat kecil (hampir tidak dapat dibedakan)	Skor 1
Edema kecil (batas area terlihat jelas)	Skor 2
Edema tingkat menengah (luasnya bertambah sekitar 1 mm)	Skor 3
Edema parah (luas bertambah lebih dari 1 mm dan melebar area pemaparan oleh sampel uji)	Skor 4

Skoring dilakukan untuk menilai tingkat keparahan reaksi iritasi yang terjadi dan hasilnya digunakan untuk menghitung Indeks Iritasi Primer (*Primary Irritation Index*, PII). Setelah dilakukan observasi

terhadap reaksi kulit, selanjutnya adalah menghitung Indeks Iritasi Primer (*Primary Irritation Index*, PII). Penilaian ini didasarkan pada skoring eritema dan edema yang muncul setelah aplikasi produk. Nilai yang didapatkan selanjutnya dianalisis dengan menggunakan rumus perhitungan :

$$\text{Nilai PDII} = \frac{\text{Jumlah nilai eritema} + \text{Jumlah nilai edema pada waktu pengamatan}}{\text{Jumlah mencit}}$$

Nilai Primary Dermal Irritation Index (PDII) yang diperoleh dari hasil pengamatan kemudian digunakan sebagai dasar dalam menentukan kategori respons iritasi kulit. Kategori ini ditetapkan berdasarkan tingkat keparahan reaksi yang diamati, seperti eritema (kemerahan), edema (pembengkakan).

Tabel 3.4 Nilai Derajat Iritasi

Evaluasi	Skor
Tidak mengiritasi	0,0
Sangat sedikit iritasi	0,1 – 0,4
Sedikit iritasi	0,41 – 1,9
Iritasi sedang	2,0 – 4,9
Iritasi parah	5,0 – 8,0

3.8.9 Perhitungan dan Pengambilan Sampel Kulit

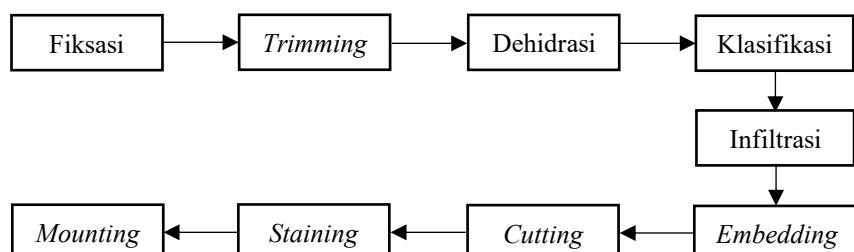
Pengukuran panjang dan waktu penyembuhan luka dilakukan setiap hari dua kali sehari selama 14 hari. Pengukuran tersebut menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter. Kemudian pada hari ke-15 dilakukan anastesi pada kelompok sampel menggunakan eter atau kloroform dan dilakukan laparotomi pada mencit di Balai Veteriner Bandar Lampung lalu diambil bagian jaringan kulit untuk dibuat preparat histopatologi dengan metode parafin dan pewarnaan HE. Sampel jaringan kulit akan difiksasi dengan larutan formalin 10% kemudian dikirim ke Laboratorium Nadafri.

3.8.10 Pengambilan Jaringan Kulit

Pengambilan jaringan kulit pada hewan uji mencit diawali dengan proses eutanasia menggunakan metode dislokasi servikal. Area punggung mencit yang telah ditumbuhi bulu dibersihkan kembali sebelum dilakukan pemotongan kulit. Kulit dipotong dengan ketebalan sekitar \pm 4 mm hingga mencapai lapisan subkutan, dengan panjang pemotongan disesuaikan agar berjarak 1 cm dari masing-masing garis luka. Setelah diambil, jaringan kulit dicuci menggunakan larutan NaCl fisiologis. Kulit yang telah dibersihkan kemudian dibagi menjadi dua bagian, masing-masing digunakan untuk pembuatan preparat histologi dan pewarnaan H&E dengan terlebih dahulu dilakukan fiksasi menggunakan larutan Buffer Neutral Formalin (BNF) 10% (Febram *et al.*, 2010).

3.8.11 Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit

Menilai proses penyembuhan luka secara mikroskopis, jaringan kulit hasil penelitian perlu diproses menjadi preparat histopatologi. Proses ini dilakukan agar struktur jaringan dapat diamati secara jelas di bawah mikroskop. Tahapan pembuatan preparat histopatologi adalah sebagai berikut :



Gambar 3.2 Metode Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit

1. Fiksasi, Bagian jaringan kulit yang telah dipilih direndam dalam larutan pengawet formalin 10% untuk difiksasi, kemudian dibersihkan dengan air mengalir sebanyak 3-5 kali.
2. *Trimming*, Membuat irisan potongan jaringan kulit, kemudian memasukkan potongan organ tersebut ke dalam *embedding cassette*.
3. Dehidrasi, Air dihilangkan dengan meletakkan *embedding cassette* di atas kertas tisu. Jaringan kulit kemudian direndam berturut-turut dalam alkohol dengan konsentrasi bertingkat 70%, 96%, dan alkohol absolut I, II, dan III, masing-masing selama 1 jam.
4. Klasifikasi, Untuk membersihkan sisa alkohol, dilakukan *clearing* dengan xilol I, II, III masing- masing selama 30 menit.
5. Infiltrasi/Impregnasi, Impregnasi dengan menggunakan parafin selama 1 jam di dalam inkubator dengan suhu 65°C.
6. *Embedding*, Proses pembuatan blok parafin diawali dengan pembersihan residu parafin pada permukaan logam melalui pemanasan singkat dan pengusapan dengan kapas. Parafin kemudian dicairkan dalam oven pada suhu >58°C, dituangkan ke dalam pan, lalu jaringan dari embedding cassette disusun teratur di dasar pan. Setelah pan didinginkan dalam air pada suhu 4–6°C, parafin berisi jaringan dilepaskan dan dipotong sesuai lokasi jaringan menggunakan pisau atau scalpel yang dipanaskan. Potongan parafin ditempatkan pada balok kayu, diratakan, dan diperhalus hingga meruncing. Blok parafin yang terbentuk selanjutnya siap dipotong dengan mikrotom.
7. Pemotongan (*Cutting*), Pemotongan jaringan dilakukan di ruang dingin setelah blok parafin didinginkan. Pemotongan diawali dengan irisan kasar, lalu dilanjutkan irisan halus setebal 4–5 mikron. Lembaran jaringan terbaik dipilih, dimasukkan ke bak air bersuhu 60°C hingga parafin mengembang, kemudian diangkat menggunakan slide bersih tanpa menyisakan gelembung udara. Slide berisi jaringan dikeringkan dan dipanaskan dalam inkubator

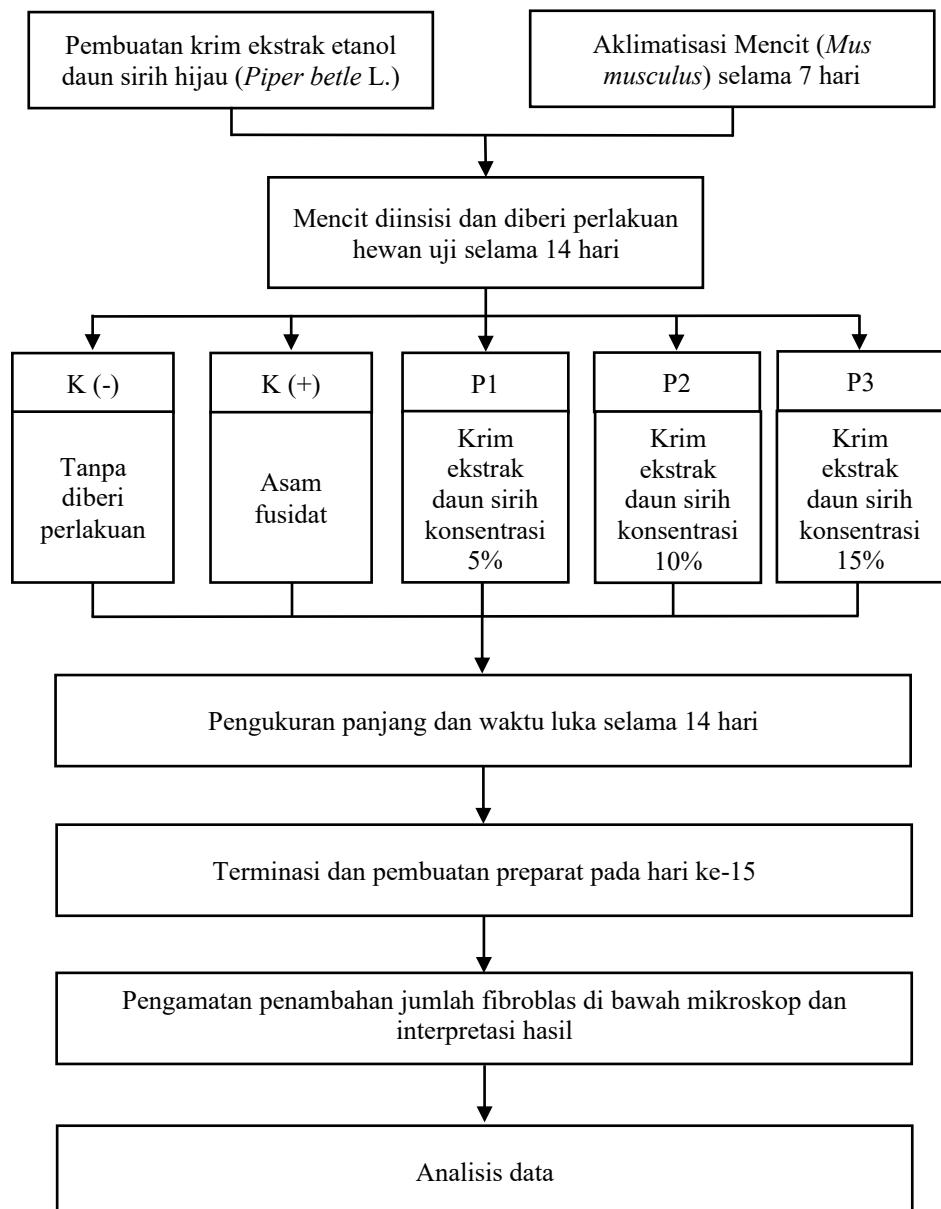
37°C selama 24 jam agar jaringan merekat dengan baik serta melelehkan sisa parafin sebelum pewarnaan.

8. Pewarnaan (*Staining*), Deparafinasi dilakukan dengan xilol I dan II masing-masing 5 menit, dilanjutkan hidrasi menggunakan alkohol absolut 1 menit, alkohol 96% 2 menit, alkohol 70% 2 menit, dan akuades 10 menit. Pewarnaan inti dilakukan dengan Harris Hematoxylin 15 menit, pembilasan air mengalir, lalu eosin maksimal 1 menit. Dehidrasi selanjutnya menggunakan alkohol 70%, 96%, dan absolut masing-masing 2 menit, kemudian penjernihan dengan xilol I dan II masing-masing 2 menit.
9. *Mounting*, *Slide* diletakkan di atas kertas tisu di permukaan datar, kemudian ditetaskan dengan bahan mounting seperti kanada balsam dan ditutup dengan kaca penutup, memastikan tidak ada gelembung udara yang terbentuk. Selanjutnya, *slide* dibaca menggunakan mikroskop (Suharyadi, 2014).

3.8.12 Perhitungan Jumlah Fibroblas

Identifikasi fibroblas dilakukan setelah pembuatan preparat selesai. Ciri sel fibroblas berbentuk gelendong, berinti satu atau lebih, bersifat basofilik, serta tercat ungu pada pewarnaan hematoksilin-eosin. Pemeriksaan histopatologi dilakukan dengan mikroskop cahaya pembesaran $400\times$ pada preparat jaringan yang diamati di lima lapang pandang representatif. Perhitungan jumlah fibroblas dilakukan secara sistematis, dimulai dari pojok kiri, digeser ke kanan, lalu ditarik ke atas hingga seluruh lapang pandang terbaca. Untuk menjaga objektivitas, pembacaan dilakukan secara *blinding*, yaitu preparat diberi kode sehingga pemeriksa tidak mengetahui kelompok perlakuan maupun kontrol. Hasil rata-rata fibroblas kemudian ditentukan dari kelima lapang pandang tersebut.

3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.3 Alur penelitian

3.10 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian disajikan dalam bentuk tabel dan dianalisis menggunakan program statistik. Analisis dilakukan dengan bantuan perangkat lunak komputer. Tahapan awal analisis dimulai dengan uji normalitas menggunakan metode *Shapiro–Wilk* karena jumlah sampel ≤ 50 . Jika nilai signifikansi ($p > 0,05$), maka data dianggap berdistribusi normal dan dapat dianalisis menggunakan uji parametrik *One Way ANOVA*. Namun, jika hasil uji *Shapiro–Wilk* menunjukkan nilai $p < 0,05$ yang berarti data tidak terdistribusi normal, maka data ditransformasi terlebih dahulu. Apabila setelah transformasi data masih belum memenuhi syarat untuk uji parametrik, maka analisis dilanjutkan dengan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis*, dan dilanjutkan uji lanjut (*post hoc*) *Mann-Whitney*.

3.11 Etika Penelitian

Penelitian ini diajukan pelaksanaannya kepada Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan telah lulus kaji etik berdasarkan surat persetujuan etik untuk dapat melaksanakan penelitian dengan nomor surat 5368/UN26.18/PP.05.02.00/2025.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai Efektivitas dan Keamanan Krim Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dengan Konsentrasi 5%, 10%, dan 15% terhadap Luka Sayat pada Mencit (*Mus musculus*) secara Makroskopis dan Histologis, dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian krim ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) pada berbagai konsentrasi (5%, 10%, dan 15%) belum menunjukkan pengaruh yang bermakna secara statistik terhadap proses penyembuhan luka sayat pada mencit (*Mus musculus*) apabila dinilai secara makroskopis.
2. Tidak terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik pada panjang luka dan waktu penyembuhan luka sayat antara kelompok kontrol negatif, kontrol positif (asam fusidat), dan kelompok perlakuan krim ekstrak daun sirih hijau konsentrasi 5%, 10%, dan 15% pada hari pengamatan ke-14 ($p > 0,05$).
3. Secara histologis terdapat perbedaan jumlah fibroblas antar kelompok, di mana pemberian krim ekstrak etanol daun sirih hijau konsentrasi 5% menunjukkan jumlah fibroblas yang lebih rendah dan sebanding dengan kontrol positif, yang mengindikasikan percepatan transisi menuju fase maturasi atau remodeling pada proses penyembuhan luka.
4. Konsentrasi 5% merupakan konsentrasi yang paling optimal di antara konsentrasi yang diuji dalam mendukung proses penyembuhan luka secara histologis, meskipun tidak menunjukkan perbedaan makroskopis yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol.

5.2 Saran

1. Saran bagi peneliti selanjutnya
 - a. Disarankan melakukan pengamatan pada beberapa titik waktu (misalnya hari ke-3, ke-7, ke-14, dan ke-21), sehingga dinamika perubahan panjang luka dan jumlah fibroblas dapat tergambar lebih jelas.
 - b. Perlu ditambahkan parameter lain, seperti derajat reepitelisasi, kerapatan kolagen, jumlah neovaskular, serta penanda inflamasi dan stres oksidatif, agar mekanisme kerja ekstrak daun sirih hijau dapat dijelaskan lebih lengkap.
2. Saran bagi pengembangan produk
 - a. Krim ekstrak daun sirih hijau berpotensi dikembangkan sebagai sediaan topikal berbahan alam, tetapi sebelum dipasarkan perlu dilakukan uji keamanan lanjutan (iritasi kronis, sensitisasi) dan uji efektivitas pada subjek yang lebih beragam.
 - b. Formulasi krim perlu disempurnakan dari segi kenyamanan penggunaan, kestabilan fisik, dan konsentrasi ekstrak, dengan tetap mempertimbangkan keseimbangan antara efektivitas dan keamanan.
3. Saran bagi institusi pendidikan dan penelitian
 - a. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar pengembangan riset selanjutnya mengenai pemanfaatan tanaman obat lokal, khususnya daun sirih hijau, dalam bidang penyembuhan luka.
 - b. Diperlukan dukungan fasilitas laboratorium dan pendanaan yang memadai untuk memungkinkan analisis histopatologi dan biokimia yang lebih mendalam pada penelitian berikutnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adriana F, Sari LK, Wibowo TA. 2015. Pengaruh saponin terhadap proses penyembuhan luka. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Agustina R, Pertiwi AD, Atikah N. 2019. Efektifitas Salep Daun Sirih Hijau (*Piper betle* Linn) Terhadap Luka Sayat Pada Mencit (*Mus musculus*). *Pharmaceutical & Traditional Medicine*. 3(1):8–16.
- Aini DN, Ningsih D, Pramukantoro GE. 2023. Uji efektivitas patch ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) pada penyembuhan luka sayat punggung kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 5(5):837–49.
- Aini HQ, Tiadeka P, Na'imah J. 2024. Formulasi dan Evaluasi Sediaan Krim Ekstrak Daun Sirih dengan Variasi Konsentrasi Etanol 96% Sebagai Antiseptik. *Pharmademica: Jurnal Kefarmasian dan Gizi*. 3(2):63–71.
- Amelia R, Wahyuni D, Azzahra M. 2021. Penggunaan antibiotik topikal pada infeksi kulit superfisial: tinjauan pustaka. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 32(2):112–20.
- Amita K, Balqis U, Iskandar CD. 2017. Gambaran Histopatologi Penyembuhan Luka Sayat pada Mencit (*Mus musculus*) Menggunakan Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis). *Jurnal Jimvet*. 1(3):584–91.
- Anjarwati N, Yuliastri WO, Tasman. 2024. Uji Efektivitas Fraksi Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L) Terhadap Penyembuhan Luka Sayat pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Jurnal Pharmacia Mandala Waluya*. 3(4):214–24.
- Aprilyani A, Chiuman L, Ginting CN. 2022. Test betel leaf (*Piper betle* L.) extract for wound healing in white rats. *Journal of Pharmaceutical Research International*. 34(35B):44–50.
- Asyifa TN, Mustofa S, Ismunandar H, Utama WT. 2022. Cara-cara Untuk Mempercepat Penyembuhan Luka. *Medula*. 12(4):659–66.
- Aulia HR. 2023. Uji efektivitas pemberian cream ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dalam proses penyembuhan luka sayat pada kulit tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar. Medan: Universitas Prima Indonesia.

- Azahar NI, Mokhtar NM, Arifin MA. 2020. *Piper betle*: A review on its bioactive compounds, pharmacological properties, and extraction process. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. 991(1):012044.
- Calabrese EJ. 2013. Hormetic mechanisms. Critical Reviews in Toxicology. 43(7):580–606.
- Ché TCH, Nguyễn HD, Lê Hoàng DM. 2021. Influence of *Piper betle* L. extract on umbilical cord cells in vitro and potential treating cutaneous wound. *Heliyon*. 7(3):e06248.
- Cheng L, Huang W, Duan M, Li Z, Chen Q, Zhang M, Zhang Z. 2024. Pathogenic BALB/c mice infection model for evaluation of mpox countermeasures. *Cell Discovery*. 10(1):11–3.
- Cialdai F, Risaliti C, Monici M. 2022. Role of fibroblasts in wound healing and tissue remodeling on Earth and in space. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 10:958381.
- Darmawan A, Yusuf S, Tahir T, Syahriyani S. 2021. Betel leaf extract efficacy on wound healing: a systematic review. *STRADA Jurnal Ilmiah Kesehatan*. 10(1):526–36.
- Erwiyan AR, Luhurningtyas FP, Sunnah I. 2017. Optimasi formula sediaan krim ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill) dan daun sirih hijau (*Piper betle* Linn). *Cendekia Journal of Pharmacy*. 1(1):77–86.
- Fajriati HS, Azizah N. 2024. Powerful antibacterial for wound healing using betel leaf extract. *Academia Open*. 9(2):1–11.
- Febram MF, Trisnawati I, Andriyani D. 2010. Peran fibroblas pada proses penyembuhan luka. *Majalah Kesehatan*. 6(1):45–52.
- Firdaus NZ, Alda AA, Gunawan IS. 2020. Potensi Kandungan Biji Anggur dalam Mempercepat Penyembuhan Luka. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*. 2(2):139–46.
- Ghazali NA, Elmy A, Yuen LC, Sani NZ, Das S, Suhaimi F, Yusof R, Yusoff NH, Thent ZC. 2016. *Piper betle* leaves induces wound healing activity via proliferation of fibroblasts and reducing 11 β hydroxysteroid dehydrogenase-1 expression in diabetic rat. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*. 7(4):198–208.
- Hermiati NYM, Mersi SS. 2013. Ekstrak Daun Sirih Hijau Dan Merah Sebagai Antioksidan Pada Minyak Kelapa. *Jurnal Teknik Kimia USU*. 2(1):37–43.
- Januarti IB, Ningsih KWW, Sholeh AB. 2023. Uji aktivitas sediaan gel ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap penyembuhan luka sayat pada kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 8(1):229–40.

- Jayalakshmi B, Raveesha KA, Murali M. 2015. Phytochemical, antibacterial and antioxidant studies on leaf extracts of *Piper betle* L. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 7(11):193–7.
- Jokopriyambodo W, Puetri NR, Bambang Y. 2017. Eksplorasi Pengetahuan Lokal Etnomedisin dan Tumbuhan Obat Berbasis Komunitas Di Indonesia Provinsi Maluku. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kalangi SJR. 2013. Histofisiologi Kulit. Jurnal Biomedik. 5(3):12–20.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2018. Laporan Nasional Riskesdas 2018. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Khairani D, Ilyas S, Yurnadi. 2024. Prinsip dan Praktik Hewan Percobaan Mencit (*Mus musculus*). Medan: USU Press.
- Kusumo DW, Sulistiyowati EL, Rohmah H, Melinda NA. 2023. Studi Etnofarmasi Tanaman Obat Untuk Perawatan dan Pengobatan Luka Di Indonesia: Pencarian Data Sistematis dan Tinjauan Secara Praklinik. Jurnal Jamu Indonesia. 8(1):1–9.
- Le TL, Tho NT, Ha DM, Hang PL, Nghia PT, Thang ND. 2015. Influence of phytochemicals in *Piper betle* Linn leaf extract on wound healing. Burns & Trauma. 3:23.
- Lotfollahi Z. 2024. The anatomy, physiology and function of all skin layers and the impact of ageing on the skin. Wound Practice and Research. 32(1):6–10.
- Masson-Meyers DS, Andrade TAM, Caetano GF, Guimarães FR, Leite MN, Leite SN, Frade MAC. 2020. Experimental models and methods for cutaneous wound healing assessment. International Journal of Experimental Pathology. 101(1–2):21–37.
- Mutiarahmi CN, Hartady T, Lesmana R. 2021. Kajian Pustaka: Penggunaan Mencit Sebagai Hewan Coba di Laboratorium yang Mengacu pada Prinsip Kesejahteraan Hewan. Indonesia Medicus Veterinus. 10(1):134–45.
- Muthmainnah B. 2017. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum* L.) dengan Metode Uji Warna. Media Farmasi. 8(2):31–7.
- Naziyah, Hidayat R, Maulidya. 2022. Penyuluhan Manajemen Luka Terkini Dalam Situasi Pandemic Covid-19 Melalui Kegiatan Pesantren Luka. Jurnal Kreativitas Pengabdian Kepada Masyarakat (PKM). 5(7):2061–70.
- Ningsih SA. 2020. Studi Literatur Uji Efek Sediaan Gel Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Penyembuh Luka Bakar pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). Medan: Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan.

- Oktaviani AT, Kusumajaya H, Agustiani S. 2023. Faktor-faktor yang mempengaruhi penyembuhan luka post operasi. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*. 5(4):1703–12.
- Oktaviani DJ, Widiyastuti S, Maharani DA, Amalia AN, Ishak AM, Zuhrotun A. 2019. Review: Bahan Alami Penyembuh Luka. *Majalah Farmasetika*. 4(3):45–56.
- Olla LRY. 2019. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Kupang: Politeknik Kesehatan Kemenkes Kupang.
- Ollu SRW, Pandarangga P, Ndaong NA. 2019. Persepsi luka incisi kulit mencit (*Mus musculus*) dengan pemberian ekstrak etanol teripang getah (*Holothuria leucospilota*). *Jurnal Veteriner Nusantara*.2(1):60–9.
- Palumpun EF, Wiraguna AAGP, Pangkahila W. 2017. Pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) secara topikal meningkatkan ketebalan epidermis, jumlah fibroblas, dan jumlah kolagen dalam proses penyembuhan luka pada tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*). *Jurnal e-Biomedik*.5(1).
- Perhimpunan Dokter Spesialis Kulit dan Kelamin Indonesia (PERDOSKI). 2024. Panduan diagnosis dan tata laksana dermatitis atopik pada anak dan dewasa di Indonesia. Edisi ke-2. Jakarta: Centra Communications.
- Priani SE, Sukandar D, Rahmat R. 2018. Formulasi dan evaluasi sediaan krim ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) sebagai antijamur terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Farmasi Galenika*. 4(1):36–44.
- Primadani AF, Nurrahmantika D. 2021. Proses Penyembuhan Luka Kaki Diabetik Dengan Perawatan Luka Metode Moist Wound Healing. *Ners Muda*. 2(1):9–16.
- Primadina N, Basori A, Perdanakusuma D. 2019. Proses Penyembuhan Luka Ditinjau Dari Aspek Mekanisme Seluler dan Molekuler. *Qanun Medika*. 3(1):31–43.
- Purnama H, Sriwidodo, Ratnawulan S. 2017. Review Sistematik: Proses Penyembuhan Dan Perawatan Luka. *Farmaka*. 15(2):251–7.
- Purwadianto A, Poerwaningsih E, Widiyastuti Y, Neilwan A, Sukasediati N. 2017. Pedoman Penelitian Jamu Berbasis Pelayanan Kesehatan. Jakarta: Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (LPB).
- Rahadian A. 2018. Pengaruh Pemberian Salep Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Jumlah SOD dan NRF2 pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Luka Insisi. Malang: Universitas Brawijaya.

- Rahmawati M, Wahyuni S, Husna C. 2022. Pengaruh Pemberian Salep Ekstrak Etanol Daun Sirih terhadap Jumlah Fibroblas Penyembuhan Luka *Rattus norvegicus*. Majalah Kedokteran Andalas. 45(1):20–30.
- Ranti D, Trinovita E. 2024. Efektivitas Penyembuhan Luka Sediaan Patch Kombinasi Beberapa Spesies Sirih Secara in Vivo. Journal of Experimental and Clinical Pharmacy. 4(2):62–71.
- Ricardo AN, Oktariani D. 2024. Peranan Makrofag Dalam Penyembuhan Luka Oral. Jurnal Kesehatan Gigi dan Mulut (JKGM). 6(1):6–11.
- Rinaldy A. 2019. Uji Efek Penyembuhan Luka Krim Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Minyak Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Konsentrasi 5% pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. Padang: Universitas Andalas.
- Rinarto ND, Priyantini D, Fitriastuti AN. 2019. Peningkatan Pengetahuan Guru tentang P3K melalui Promosi Kesehatan di SMK Kal 1 Surabaya. Journal Health of Science. 12(1):84–92.
- Saputra MMA, Ayuchecaria N. 2018. Uji Efektivitas Ekstrak Etanolik Batang Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk.) Terhadap Waktu Penyembuhan Luka. Jurnal Ilmiah Ibnu Sina. 3(2):318–27.
- Sarma C, Rasane P, Kaur S, Singh J. 2018. Antioxidant and antimicrobial potential of selected varieties of *Piper betle* L. (Betel leaf). Anais da Academia Brasileira de Ciências. 90(2):1185–94.
- Sjamsuhidajat R, de Jong W. 2010. Buku Ajar Ilmu Bedah. Jakarta: EGC.
- Suharyadi E. 2014. Pembuatan Preparat Histologi. Yogyakarta: UGM Press.
- Surbakti CI, Sembiring E, Tarigan YG. 2020. Uji aktivitas penyembuhan luka sayat dari ekstrak etanol daun bangun-bangun (*Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng) pada mencit jantan (*Mus musculus*). Jurnal TEKESNOS. 2(2):163–8.
- Sutiyo. 2020. Analisis klinis dan histopatologis krim ekstrak *Chlorella vulgaris* terhadap aktivitas sel fibroblas pada proses penyembuhan luka: Eksperimen pas hewan coba. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Vargas-Mendoza N, dkk. 2019. Flavonoids and their relationship with biochemical responses in wound healing. Antioxidants. 8(10):498.
- Westri NNP. 2018. Terapi Ekstrak Kulit Jengkol (*Archidendron pauciflorum*) terhadap Kepadatan Kolagen dan Ketebalan Epidermis pada Proses Kesembuhan Luka Insisi pada Tikus (*Rattus norvegicus*). Malang: Universitas Brawijaya.

- Widiyastuti Y, Rahmawati N, Mujahid R. 2020. Budidaya dan Manfaat Sirih untuk Kesehatan. Jakarta: Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (LPB).
- Yuliani N, Dewi A. 2020. Optimasi formula krim ekstrak daun herbal sebagai antimikroba. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 11(2):89–97.
- Yusuf M, Al-Gizar MR, Rorrong YYA, Badaring DR, Aswanti H, MZ SMA, Nurazizah, Dzalsabila A, Ahyar M, Wulan W, Putri MJ, Arisma WF. 2022. Percobaan Memahami Perawatan Dan Kesejahteraan Hewan Percobaan. Makassar: Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Makassar.
- Zar'ah NA, Syachruddin, Kusmiyati H. 2021. The effect of green betel leaves (*Piper betle* L.) extract on wound healing in mice (*Mus musculus*). *Jurnal Biologi Tropis*. 21(1):103–11.
- Zebua WI, Chiuman L, Fachrial E. 2024. Histopathological evaluation of green betel leaf extract ointment on incision wounds infected with *Staphylococcus aureus* in Wistar rats. *Jurnal Teknologi Laboratorium*. 13(2):71–82.