

Uji Aktivitas Gel *Eco-Enzyme* Kulit Nanas (*Ananas Comosus* (L.) Merr) Terhadap Luka Terbuka Tikus Galur *Wistar*

Fahma Riyanti^{1*}, Herlina²⁾ Alif Febrian Handoko²⁾

¹⁾ Jurusan kimia Fakultas FMIPA Universitas Sriwijaya Kampus Inderalaya

²⁾ Jurusan Farmasi Fakultas FMIPA Universitas Sriwijaya Kampus Inderalaya

^{*)Corresponding author:} fatechafj@unsri.ac.id

Abstrak

Luka terbuka berpotensi menjadi luka kronis apabila tidak segera ditangani. *Eco-enzyme* kulit nanas mengandung asam organik yaitu asam asetat dan metabolit sekunder seperti tanin dan saponin yang berperan sebagai antibakteri dan antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian sediaan gel *eco-enzyme* kulit nanas terhadap persentase penyembuhan luka terbuka. *Eco-enzyme* kulit nanas dilakukan karakterisasi dengan hasil organoleptis berbentuk larutan cair, berwarna coklat, memiliki aroma khas asam kulit nanas yang menyengat, memiliki pH sebesar $3,37 \pm 0,005$, nilai asam tertitrasi sebesar 2,65 %, serta mengandung enzim protease, senyawa asam asetat, tanin, dan saponin. Formulasi sediaan gel dilakukan variasi konsentrasi *eco-enzyme* sebesar 40%, 60%, dan 80%. Sediaan gel dilakukan evaluasi serta analisis data untuk mendapatkan formula terbaik. Hasil penelitian menunjukkan formula larutan *eco-enzyme* 60% memiliki aktivitas penyembuhan luka terbaik dengan persentase penyembuhan luka 100% dalam 20 hari yang tidak berbeda signifikan terhadap kontrol positif (Octenic[®] gel) serta memiliki sediaan yang homogen dengan nilai pH sebesar $4,64 \pm 0,02$, dan stabil dalam uji stabilitas.

Kata Kunci : *eco-enzyme*, fermentasi, gel, luka terbuka, nanas

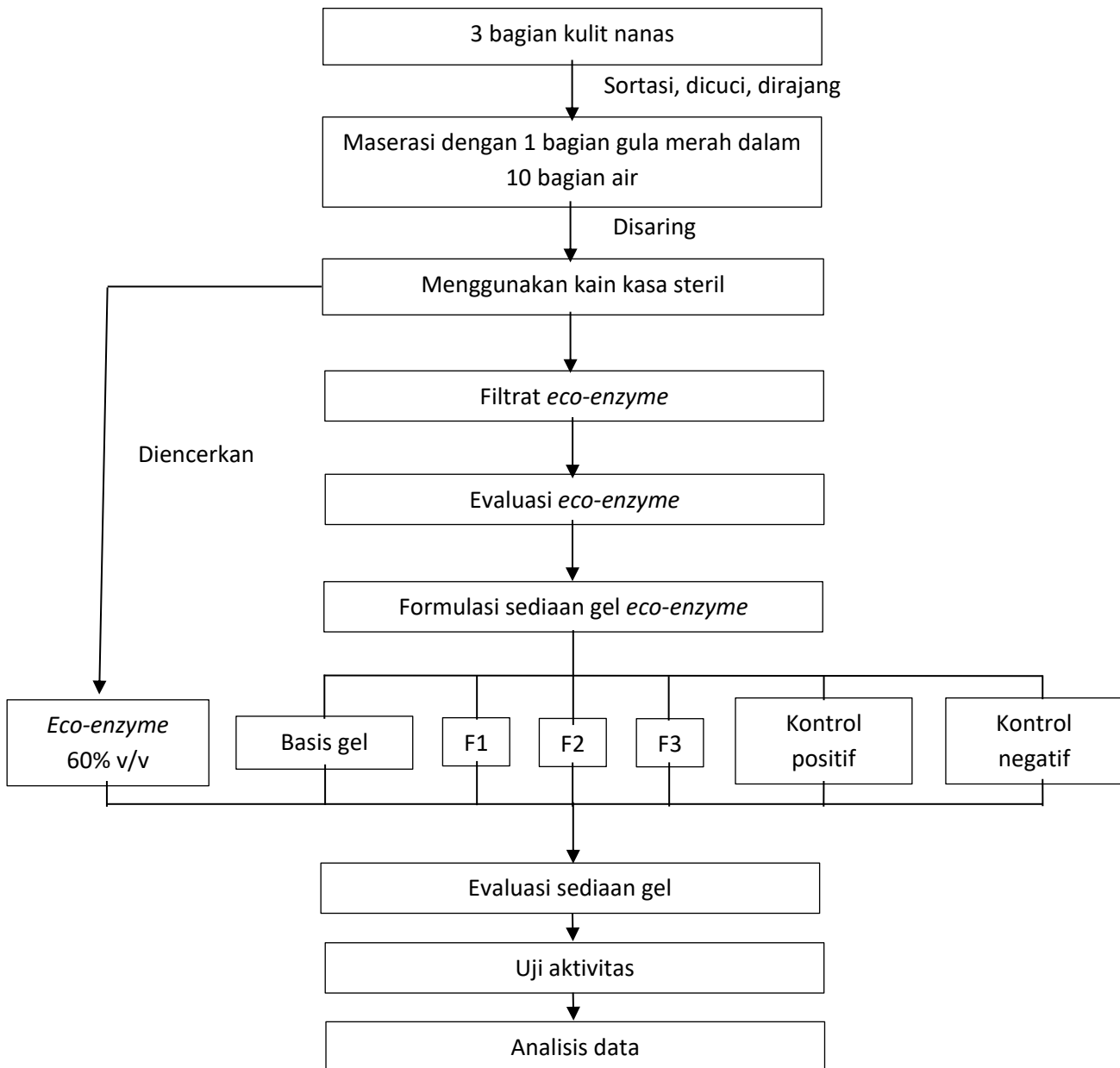
PENDAHULUAN

Sampah merupakan persoalan lingkungan yang cukup meresahkan masyarakat di hampir semua wilayah. Indonesia menghasilkan sekitar 64 juta ton sampah setiap tahunnya, berdasarkan data dari Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan (KLHK). Sampah sebagai benda yang tidak bernilai guna namun masih dapat terurai dan menimbulkan bau busuk disebut dengan sampah organik. Larutan *eco-enzyme* merupakan salah satu hasil dari upaya pengelolaan sampah organik berupa sisa buah dan sayur yang dilakukan oleh masyarakat. Pembuatan *eco-enzyme* didasarkan pada proses fermentasi sampah organik oleh mikroorganisme berupa bakteri ataupun fungi. Produk akhir dari proses fermentasi tersebut berupa larutan yang berwarna coklat dan beraroma asam kuat (Hemalatha & Visantini, 2020). Ekstraksi enzim, asam organik, dan senyawa fenol melalui proses fermentasi lebih diminati dibandingkan dengan metode konvensional yang mengharuskan adanya pelarut tertentu yang mahal, memerlukan pemanasan, dan sulit mendapatkan ekstrak dengan kemurnian tinggi (Sagar. *et al.*, 2018). Penelitian yang telah dilakukan oleh Ramadani *et al.* (2022) melaporkan bahwa larutan *eco-enzyme* kulit buah nanas pada konsentrasi 50% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes* yang dapat menginfeksi kulit. Larutan *eco-enzyme* kulit buah nanas telah terbukti mengandung metabolit sekunder berupa tanin dan saponin. Tannin berfungsi sebagai astringen yang dapat menyimpan protein pada permukaan sel dengan permeabilitas yang rendah. Hal ini menyebabkan pori-pori kulit mengecil dan dapat menghentikan kebocoran serta pendarahan, sehingga mempercepat proses penyembuhan luka (Arum *et al.*, 2022). Saponin yang terkandung dalam larutan

eco-enzyme merupakan *growth factor* yang mampu mempercepat proses reepitelisasi jaringan epidermis dan infiltrasi sel-sel radang pada daerah luka (Hanafiah *et al.*, 2019).

Penggunaan larutan *eco-enzyme* sebagai agen penyembuh luka oleh masyarakat masih sangat minim. Salah satu alasan adalah viskositas larutan *eco-enzyme* yang tergolong rendah sehingga penggunaan secara topikal masih belum optimal. Formulasi larutan *eco-enzyme* ke dalam sediaan gel diharapkan mampu meningkatkan efektifitas *eco-enzyme* sebagai antibakteri pada area kulit yang terluka. Bentuk sediaan gel dipilih karena dapat memberikan kenyamanan saat digunakan. Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai potensi sediaan gel yang mengandung variasi konsentrasi *eco-enzyme* kulit nanas sebagai agen penyembuhan luka terbuka tikus putih galur wistar.

METODOLOGI PENELITIAN



Gambar 1. Diagram Alir Penelitian

Pembuatan Eco-enzyme

Kulit nanas terlebih dahulu dicuci dan potong menjadi ukuran yang lebih kecil. Kemudian dibuat campuran kulit buah nanas, gula merah dan air sehingga didapatkan perbandingan 3:1:10. Campuran tersebut difermentasi dalam wadah yang tertutup selama 3 bulan. Larutan hasil fermentasi selanjutnya disaring menggunakan kain untuk mendapatkan cairan *eco-enzyme* tanpa padatan. (Keat, 2010). Kadar air *eco-enzyme* hasil fermentasi dihitung menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Volume larutan } eco\text{-enzyme}}{\text{Volume larutan bahan } eco\text{-enzyme}} \times 100\% \dots\dots\dots(1)$$

Evaluasi Eco-Enzyme

Uji Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan dengan cara mengamati wujud, warna, dan aroma larutan *eco-enzyme* secara langsung dengan panca indera manusia (Larasati, Astuti dan Maharani, 2020)

Pengukuran pH

Elektroda yang telah dicuci dan dikeringkan kemudian dikalibrasi dengan larutan buffer standar pH 4,01 dan pH 7,01. Elektroda dimasukkan ke dalam larutan *eco-enzyme* kemudian dilihat nilai yang pH ditunjukkan oleh alat (Depkes RI,1995)

Uji Kualitatif Asam Asetat

Mendeteksi kandungan asam asetat dapat dilakukan dengan mencampurkan larutan natrium bikarbonat dengan sampel sama banyak. terbentuknya gelembung gas menandakan sampel positif asam asetat (Bunga and Felix , 2022).

Penetapan Kadar Total Asam Titrasi

Penetapan kadar total asam dilakukan menggunakan metode titrasi alkalimetri. Natrium hidroksida sebagai pentiter dibakukan terlebih dahulu menggunakan 10 mL asam oksalat. Proses titrasi dapat dihentikan ketika larutan titrat yang telah ditambahkan indikator fenoftalein berubah warna, kemudian dihitung volume larutan titer yang digunakan (Sembiring dan Jayadi, 2022). Kadar total asam pada larutan *eco-enzyme* dapat dihitung menggunakan rumus berikut.

$$\text{TAT} = \frac{V \text{ NaOH} \times N \text{ NaOH} \times Mr \times BE}{V \text{ sampel (ml)} \times 1000} \times 100\% \dots\dots\dots(2)$$

Keterangan :

- V NaOH = Volume NaOH untuk titrasi (ml)
- N NaOH = Normalitas NaOH
- Mr asam asetat = 60
- BE = 1
- V sampel = Volume sampel (ml)

Pengukuran Aktivitas Enzim Protease

Sebanyak 50 µl larutan *eco-enzyme* kulit buah nanas diinokulasikan ke dalam sumuran yang berdiameter 4 mm pada media agar yang mengandung 1% susu skim. Media yang telah mengandung larutan *eco-enzyme* tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diukur zona bening yang terbentuk disekitar sumuran setelah inkubasi sebagai aktivitas enzim protease yang terkandung dalam larutan *eco-enzyme* yang telah dibuat (Neupane dan Khadka, 2019)

Skrining Fitokimia

Mendeteksi kadungan flavonoid dilakukan dengan mencampurkan serbuk magnesium dan 3 tetes HCl 37%. Terbentuknya warna merah, kuning, atau oranye mengartikan larutan *eco-enzyme* yang diuji

mengandung flavonoid. Keberadaan alkaloid dapat diujikan dengan mencampurkan 5 tetes reagen Dragendorff ke dalam larutan *eco-enzyme*, yang hasil positifnya berupa terbentuk warna oranye pada larutan uji. Kandungan saponin dilakukan dengan mengggang larutan *eco-enzyme* yang telah dicampur 10 tetes air panas. Terbentuknya busa yang stabil dan tidak hilang setelah penambahan 1 tetes HCl 2N menandakan larutan *eco-enzyme* positif mengandung saponin. 5 tetes FeCl₃ 1% ditambahkan ke dalam larutan *eco-enzyme* untuk mengidentifikasi kandungan tanin. Hasil uji yang positif dapat dilihat dengan terbentuknya warna biru kehitaman atau hijau gelap (Ramadani *et al.*, 2022).

Formulasi Sediaan Gel

Sediaan gel *eco-enzyme* dibuat menggunakan variasi konsentrasi larutan *eco-enzyme* sebagai zat aktif pada tiga formula yang tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Formula Sediaan Gel Eco-enzyme

No	Bahan		Jumlah Bahan		
			F1	F2	F3
1	<i>Eco-enzyme</i>	(mL)	40	60	80
2	Metil Paraben	(mg)	500	500	500
3	TEA	(mL)	2	2	2
4	Karbopol	(g)	1.2	1.2	1.2
5	Propilen glikol	(mL)	10	10	10
6	Aquadest	(mL)	100	100	100

Pembuatan Sediaan Gel

Karbopol sebagai *gelling agent* dilarutkan menggunakan aquadest bersuhu 70°C di dalam mortar. Masing - masing dari zat TEA dan propilen glikol dilarutkan menggunakan aquadest dalam wadah terpisah. Larutan TEA ditambahkan ke dalam larutan karbopol kemudian diaduk hingga homogen. Nilai pH campuran tersebut diatur menjadi 7,4 selanjutnya ditambahkan larutan propilen glikol dan diaduk kembali hingga mendapatkan konsistensi basis gel yang baik. Larutan *eco-enzyme* terlebih dahulu dicampurkan dengan metil paraben dan diencerkan dengan etanol, kemudian dicampurkan dengan basis gel yang telah disimpan selama 24 jam untuk menghilangkan gelembung yang terbentuk (Kusuma *et al.*, 2018).

Evaluasi Sediaan Gel

Uji Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan untuk mendefinisikan aroma, warna, dan tekstur dari sediaan menggunakan panca indera (Setiani dan Endriyanto, 2023)

Uji Homogenitas

1 gram gel dioleskan pada permukaan kaca objek lalu diamati ada atau tidaknya partikel – partikel kasar yang terlihat. Prosedur diulangi hingga 3 kali (Setiani dan Endriyanto, 2023)

Pengukuran pH

Elektroda yang sudah dikalibrasi kemudian dimasukkan ke dalam larutan *eco-enzyme* kemudian dilihat nilai yang pH ditunjukkan oleh alat (Depkes RI,1995).

Uji Viskositas

Sebanyak 50 g gel diukur menggunakan viskometer cup and bob dengan cara mengamati jarum pada alat bergerak ke arah kanan secara otomatis (Setiani dan Endriyanto, 2023).

Uji Daya Sebar

Sebanyak 0,5 gram gel yang telah diletakan di atas lempeng kaca diberikan beban 100 gram kemudian diukur penyebaran gel yang terbentuk (Setiani dan Endriyanto, 2023).

Uji Daya Lekat

Sebanyak 0,25 gram sediaan gel diletakkan dipermukaan kaca objek yang ditumpuk dengan satu kaca objek lain, lalu ditekan menggunakan beban 50 gram selama 5 menit. Dipindahkan beban yang diberikan kemudian dicatat waktu yang diperlukan untuk kedua kaca objek dapat terlepas (Setiani dan Endriyanto, 2023).

Uji Daya Tercuci

Sediaan gel sebanyak 0,25 gram dioleskan pada telapak tangan hingga rata kemudian dicuci pada air yang mengalir. dicatat volume air yang diperlukan (Setiani dan Endriyanto, 2023).

Uji Stabilitas

Sediaan gel disimpan ke dalam lemari pendingin yang memiliki temperatur $4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam kemudian dipindahkan ke dalam oven $38^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ hingga 24 jam (satu siklus). Replikasi uji stabilitas sediaan dilakukan hiingga 6 siklus atau 12 hari kemudian diamati ada tidaknya perubahan karakteristik sediaan sebelum dan sesudah pengujian (Setiani dan Endriyanto, 2023).

UJI AKTIVITAS PENYEMBUHAN LUKA TERBUKA

Pembuatan Luka Terbuka

Pembuatan luka terbuka pada tikus dilakukan 24 jam sebelum pengujian. Tikus terlebih dahulu perlu diaklimatisasi selama 7 hari. Bagian dorsal tikus dioleskan krim *depilatory* (Veet[®]) selama 3 – 5 menit kemudian bulu tikus dicukur dan diberikan etanol 70%. Tikus dianestesi menggunakan sediaan injeksi lidokain 2% dengan dosis 4 mg/kgBB. Injeksi lidokain dilakukan melalui rute subkutan pada bagian tengkuk hewan uji. Pembuatan luka pada kulit dorsal tikus dilakukan menggunakan *biopsy punch* dengan cara membaringkan tikus ke arah samping lalu dibentuk luka terbuka berdiameter $\pm 0,1$ cm dengan kedalaman ± 2 mm (Nazaruddin *et al.*, 2022).

Pengamatan Penyembuhan Luka Terbuka

Hewan uji pada penelitian ini dikelompokkan menjadi 7 kelompok perlakuan sesuai pada Tabel 2.

Tabel 2. Kelompok Perlakuan

Kelompok	Perlakuan
Kontrol Positif	Pemberian octenic gel
Kontrol Negatif	Tanpa pemberian apapun
Formula 1	Pemberian formula 1
Formula 2	Pemberian formula 2
Formula 3	Pemberian formula 3
<i>Eco-enzyme</i> murni	Pemberian <i>eco-enzyme</i> 60%
Blanko	Pemberian basis gel

Pemberian sediaan uji diberikan 1 kali setiap 24 jam. Pengamatan penyembuhan luka hewan uji dilakukan selama 20 hari dengan interval 4 hari. Diameter rata – rata area luka diperoleh dari pengukuran area luka secara vertikal (d1), horizontal (d2) dan kedua diagonal (d3 dan d4) (Nazaruddin, *et al.* 2022). Diameter yang telah diukur kemudian dihitung sebagai %recovery dengan rumus sebagai berikut

$$\%recovery = \frac{d_0 - dx}{d_0} \times 100\%$$

Keterangan :

d0 = diameter area luka setelah pembuatan luka

dx = diameter area luka yang diamati pada hari ke-x

ANALISIS DATA

Untuk mengetahui ada tidaknya efek penyembuhan luka terbuka, data dianalisis menggunakan uji ANOVA (Analysis Of Variant), dengan α 0,05 atau 5% pada program SPSS versi 16.0 for Windows. Jika ada perbedaan yang signifikan, maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* Duncan untuk melihat perlakuan mana yang memberikan hasil signifikan. Uji Kruskal-Wallis digunakan untuk membandingkan dua atau lebih kelompok independen (lebih dari dua) untuk melihat apakah ada perbedaan signifikan di antara mereka pada variabel dependen yang diukur pada skala ordinal atau numerik (interval/rasio). Uji ini adalah alternatif nonparametrik untuk uji ANOVA satu arah ketika asumsi normalitas tidak terpenuhi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Larutan *eco-enzyme* yang dibuat pada penelitian ini berupa larutan yang berwarna coklat dengan aroma asam segar seperti kulit buah nanas yang digunakan, serta memiliki nilai pH sebesar $3,37 \pm 0,0057$. Hasil tersebut sesuai dengan pendapat Larasati (2020) bahwa fermentasi *eco-enzyme* dapat dikatakan berhasil bila memenuhi beberapa kriteria yang meliputi larutan yang berwarna kecokelatan akibat gula merah yang digunakan, beraroma yang sama seperti buah yang digunakan serta memiliki nilai pH di bawah 4. Nilai % rendemen larutan *eco-enzyme* dihasilkan adalah 100%. Penelitian yang telah dilakukan oleh Suryani *et al.*(2020) membuktikan bahwa pembuatan *eco-enzyme* dengan menggunakan kulit buah nanas yang menghasilkan %rendemen sebesar 100%. Hal tersebut dikarenakan kandungan air pada kulit nanas yang tinggi yaitu sekitar 75-85% sehingga membuat kulit buah nanas tidak menyerap air (Suprayogi *et al.*, 2022)

Hasil Evaluasi *Eco-enzyme*

Evaluasi dilakukan guna mengetahui karakteristik dari larutan *eco-enzyme* yang dibuat pada penelitian ini. Hasil evaluasi tersebut tertera pada pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Karakterisasi *Eco-enzyme*

Parameter	Hasil Uji \pm SD	Studi Literatur (Ramdani <i>et al.</i> , 2022 ; Neupane & Khadka, 2019)
Organoleptis	Cair, aroma asam khas fermentasi, warna coklat	Cair, aroma asam khas fermentasi, warna jingga kecokelatan
pH	$3,37 \pm 0,0057$	$3,81 \pm 0,0000$
Asam asetat	+ (positif)	+ (positif)
Kadar as.total	2,65%	0,94%
Enzim protease	11,38 mm	12 mm
Metabolit Sekunder		
- Flavonoid	- (negatif)	- (positif)
- Alkaloid	- (negatif)	- (negatif)
- Tanin	+ (positif)	+ (positif)
- Saponin	+ (positif)	+ (positif)

HASIL EVALUASI SEDIAAN GEL

Uji Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan untuk mengetahui sifat fisik dari sediaan yang meliputi warna, aroma, dan tekstur. Diperoleh hasil bahwa semakin besar konsentrasi *eco-enzyme* yang ditambahkan maka warna sediaan gel semakin pekat Hasil evaluasi sediaan gel *eco-enzyme* kulit buah nanas tertera pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Organoleptis Sediaan

Formula	Hasil Pengamatan
F1	Kuning, aroma asam, kental
F2	Kuning kecokelatan, aroma asam, kental
F3	Cokelat, aroma asam, kental
Blanko	Transparan, tidak beraroma, kental

Uji Homogenitas

Menurut Syamsuni (2005) sediaan gel yang homogen ditandai dengan tidak ada adanya partikel – partikel kasar yang dapat diraba dan memiliki warna yang merata. Pada pengujian ini, semua sediaan yang dibuat memiliki homogenitas yang baik karena tidak memperlihatkan adanya butiran partikel dan warna sediaan yang telah merata,

Pengukuran pH

Nilai pH sediaan yang dibuat harus memasuki rentang nilai pH kulit yaitu berkisar antara 4,5 – 6,5. sediaan yang memiliki pH terlalu asam dapat menimbulkan iritasi pada kulit, sedangkan pH sediaan yang terlalu basa dapat menyebabkan kulit menjadi kering (Setiani dan Endriyanto, 2023). Hasil pengukuran nilai pH tertera pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Pengukuran pH Sediaan

Formula	Rata-rata ± SD	Kruskal Wallis Test
F1	4,963 ± 0,006	0,015
F2	4,767 ± 0,031	
F3	4,510 ± 0,017	
Blanko	6,067 ± 0,058	

Nilai signifikansi yang didapatkan dari uji Kruskal Wallis sebesar 0,015 mengartikan bahwa ada perbedaan signifikan antar ketiga formula beserta blanko. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa variasi konsentrasi larutan *eco-enzyme* kulit buah nanas berpengaruh terhadap nilai pH sediaan gel.

Uji Viskositas

Viskositas sediaan gel yang baik berada pada rentang nilai 500 – 5000 cPs (Setiani dan Endriyanto, 2023). Pada penelitian ini membuktikan bahwa semakin besar konsentrasi *eco-enzyme* yang ditambahkan, maka viskositas gel semakin rendah namun tetap memasuki rentang syarat uji yang telah ditetapkan. Hasil uji viskositas sediaan tertera pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji Viskositas Sediaan

Formula	Rata-rata (cPs) ± SD	Kruskal Wallis Test
F1	1.590,940 ± 47,510	0,015
F2	1.206,920 ± 95,020	
F3	1.097,200 ± 47,510	
Blanko	1673,230 ± 47,510	

Hasil nilai signifikansi sebesar 0,015 pada uji Kruskal – Wallis mengartikan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar formula yang diujikan. Sehingga dapat disimpulkan bahwa variasi konsentrasi larutan *eco-enzyme* kulit buah nanas berpengaruh terhadap viskositas sediaan

Uji Daya Sebar

Uji daya sebar menunjukkan kemampuan penyebaran suatu sediaan gel saat diaplikasikan ke permukaan kulit. Sediaan gel memiliki kemampuan menyebar yang baik bila memiliki diameter penyebaran antara 5 – 7 cm (Setiani dan Endriyanto, 2023). Hasil uji daya sebar dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Uji Daya Sebar Sediaan

Formula	Rata-rata (cm) ± SD	Kruskal Wallis Test
F1	5,533 ± 0,153	0,015
F2	6,067 ± 0,153	
F3	6,667 ± 0,153	
Blanko	5,267 ± 0,058	

Dari hasil analisa statistika dapat disimpulkan bahwa variasi konsentrasi larutan *eco-enzyme* kulit buah nanas berpengaruh terhadap daya sebar sediaan gel.

Uji Daya Lekat

Kemampuan melekat sediaan topikal yang semakin lama pada kulit dapat berdampak pada proses difusi zat aktif ke dalam kulit yang semakin besar sehingga terapi yang berlangsung semakin optimal (Setiani dan Endriyanto, 2023). Hasil uji daya lekat sediaan dtampilkan pada Tabel 8.

Tabel 8, Hasil Uji Daya Lekat Sediaan

Formula	Rata-rata (ml) ± SD	Kruskal Wallis Test
F1	61,667 ± 1,528	0,015
F2	49,667 ± 1,155	
F3	31,333 ± 0,577	
Blanko	84,333 ± 3,055	

Analisa statistik memperlihatkan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada nilai daya lekat antar formula, sehingga disimpulkan bahwa variasi konsentrasi larutan *eco-enzyme* kulit buah nanas sangat mempengaruhi daya lekat sediaan gel yang dibuat.

Uji Daya Tercuci

Pengujian daya tercuci untuk mengetahui jumlah air yang digunakan untuk mencuci sediaan gel yang dioleskan pada permukaan kulit. Hasil uji daya tercuci disajikan pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil Uji Daya Tercuci Sediaan

Formula	Rata-rata (ml) ± SD	Kruskal Wallis Test
F1	23,00 ± 1,00	0,017
F2	17,33 ± 0,57	
F3	13,67 ± 0,57	
Blanko	24,33 ± 0,57	

Nilai signifikansi uji Kruskal – Wallis sebesar 0,015 mengartikan terdapat perbedaan yang signifikan nilai daya tercuci antar formula. sehingga daya tercuci sediaan gel dipengaruhi oleh variasi konsentrasi larutan *eco-enzyme* yang ditambahkan.

Uji Stabilitas

Uji stabilitas dilakukan untuk mensimulasikan kondisi temperatur yang berubah – ubah di setiap waktu penyimpanan sediaan namun dengan waktu pengujian yang sesingkat mungkin. Uji Stabilitas dilakukan selama 6 siklus atau 12 hari. Hasil uji stabilitas sediaan tertera pada Tabel 10.

Tabel 10. Hasil Uji Stabilitas Sediaan

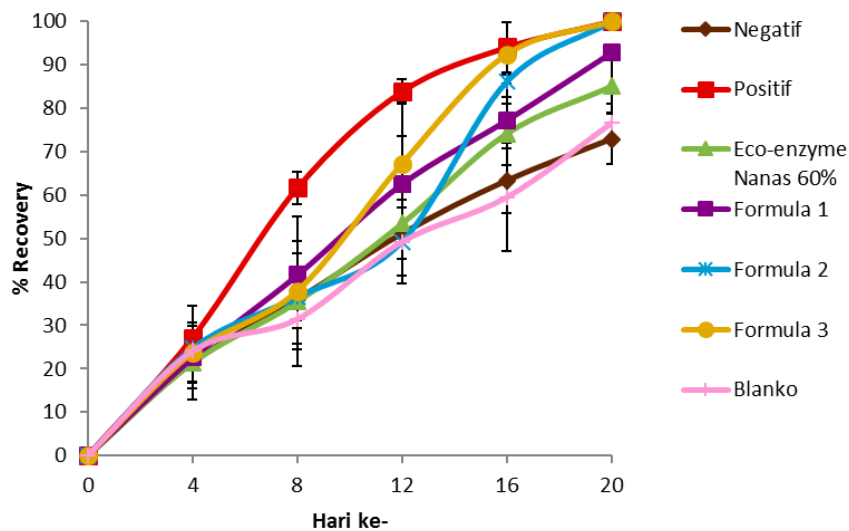
Parameter	Formula	Sebelum	Sesudah	Analisis Statistik
Warna	F1	Kuning	Kuning	-
	F2	Kuning kecokelatan	Kuning kecokelatan	-
	F3	Cokelat	Cokelat	-
	Blanko	Transparan	Transparan	-
Sineresis	F1	Tidak ada	Tidak ada	-
	F2	Tidak ada	Tidak ada	-
	F3	Tidak ada	Tidak ada	-
	Blanko	Tidak ada	Tidak ada	-
pH ± SD	F1	5,13 ± 0,02	5,12 ± 0,23	0,588 (A)
	F2	4,78 ± 0,03	4,69 ± 0,08	0,121 (K)
	F3	4,64 ± 0,02	44,60 ± 0,15	0,90 (A)
	Blanko	6,06 ± 0,051	5,96 ± 0,05	0,99 (K)

Keterangan : (A) uji ANOVA ; (B) uji Kruskal – Wallis

Hasil analisis data menggunakan uji ANOVA dan Kruskal – Wallis membuktikan tidak ditemukan perbedaan yang signifikan terhadap nilai pH formula pada waktu sebelum dan sesudah uji stabilitas.

Pengamatan Aktivitas Penyembuhan Luka Terbuka

Pengamatan aktivitas penyembuhan luka terbuka pada penelitian ini dilakukan secara makroskopis melalui pengukuran diameter luas luka yang semakin mengecil. Hasil pengukuran diameter luas luka selama 20 hari pengamatan dinyatakan ke dalam *%recovery* yang tertera pada gambar 1.



Gambar 1. Grafik Rata – Rata %recovery Luka Terbuka

Nilai *%recovery* dari kelompok formula 3 secara angka telah lebih unggul dibandingkan kelompok perlakuan lainnya selain kelompok kontrol positif. Namun secara statistika, *%recovery* formula 3 yang telah lebih dari 60% di hari ke-12 tidak berbeda signifikan bila dibandingkan dengan kelompok formula 1, 2 dan *eco-enzyme* murni. Aktivitas penyembuhan luka paling besar pada pengamatan di hari ke-12 diperlihatkan oleh kelompok kontrol positif berupa nilai *%recovery* yang lebih dari 80%.

Kandungan saponin dalam larutan *eco-enzyme* menurut Hanafiah (2019) bekerja dengan cara menstimulasi pembentukan sel – sel baru melalui penggandaan dan pertumbuhan sel endotel pembuluh darah, sel otot polos pembuluh darah dan fibroblas. Hal tersebutlah yang menyebabkan nilai *%recovery* tiap kelompok pada hari ke-12 telah lebih besar dibanding dengan hari sebelumnya.

Aktivitas penyembuhan luka oleh formula 2 dan formula 3 yang setara dengan kontrol positif di hari ke-16 pengamatan membuktikan adanya pengaruh senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Tanin yang terkandung dalam larutan *eco-enzyme* kulit buah nenas mampu denaturasi membran sel bakteri akibat toksisitas tanin yang berupa pembentukan ikatan kompleks ion logam. Hal tersebut membuat aktivitas replikasi bakteri aerob yang memerlukan zat besi menjadi terganggu.. Saponin yang juga sebagai antibakteri mampu meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri sehingga struktur, fungsi serta tegangan permukaan dinding sel menjadi terganggu (Arum *et al.* 2022).

Asam asetat sebagai senyawa asam dominan yang terdapat pada larutan *eco-enzyme* juga memberikan kontribusi dalam proses penyembuhan luka. Berdasarkan kajian literatur yang dilakukan oleh Syed *et al.* (2021) diketahui bahwa asam asetat mampu menurunkan pH di sekitar kulit yang terluka sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang dapat hidup pada pH kulit lebih dari 6. Di samping itu, enzim protease dari kulit nenas berupa bromelin yang digunakan secara topikal juga mampu mempercepat proses penyembuhan luka melalui mekanisme pembersihan jaringan kulit mati (Thomas *et al.* 2024).

Pengamatan aktivitas penyembuhan luka yang berlanjut hingga hari ke-20 memperlihatkan nilai *%recovery* yang sama besar yaitu 100% pada 3 kelompok perlakuan yaitu kontrol positif, formula 2 dan 3. Berdasarkan hasil tersebut disimpulkan bahwa efek penyembuhan dari ketiga kelompok perlakuan tersebut adalah setara dan berbeda signifikan dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya pada hari ke-20 pengamatan.

Pemberian larutan *eco-enzyme* kulit buah nanas 60% pada hari ke-20 pengamatan menghasilkan proses penyembuhan yang lebih rendah dibandingkan dengan formula 1, 2 dan 3. Hal tersebut menandakan bahwa penggunaan larutan *eco-enzyme* kulit buah nanas dalam formulasi sediaan gel lebih efektif dalam terapi penyembuhan luka terbuka dibandingkan dengan penggunaan larutan *eco-enzyme* murni secara langsung. Namun efektivitas larutan *eco-enzyme* murni lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol negatif maupun pemberian formula blanko.

Analisa data secara statistika membuktikan bahwa di antara 3 kelompok formula yang diujikan, terdapat formula 2 dan formula 3 yang tidak memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol positif pada hari ke-20 pengamatan. Sementara itu, aktivitas penyembuhan luka terbuka paling rendah pada penelitian ini ditunjukkan oleh kelompok blanko dan kontrol negatif, karena kedua kelompok perlakuan tersebut tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Berdasarkan uraian tersebut dapat ditarik kesimpulan bahwa formula 2 yang mengandung 60% larutan *eco-enzyme* kulit buah nanas merupakan formula terbaik dalam mempercepat proses penyembuhan luka terbuka yang efektivitasnya setara dengan kontrol positif pada hari ke-20 pengamatan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut: Karakteristik larutan *eco-enzyme* kulit buah nanas memiliki wujud cair, warna coklat, aroma asam khas fermentasi, pH $3,367 \pm 0,005$, % total asam tertitrasi 2,65%, memiliki aktivitas enzim protease, asam asetat serta metabolit sekunder tanin dan saponin. Variasi konsentrasi *eco-enzyme* kulit nanas berpengaruh nyata terhadap karakteristik sediaan yang meliputi warna sediaan, nilai pH, viskositas, daya sebar, daya lekat, dan daya tercuci sediaan gel. Pemberian sediaan gel *eco-enzyme* kulit buah nanas dapat mempercepat proses penyembuhan luka terbuka. Hal ini dibuktikan pada nilai %*recovery* luka terbuka dari kelompok formula 2 (konsentrasi 60%) tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$) dengan kontrol positif (Octenic® gel) yaitu sebesar $100 \pm 0,00$ % di hari ke-20 pengamatan. Sediaan gel dari *eco-enzyme* kulit buah nanas dapat diaplikasikan ke manusia untuk mempercepat proses penyembuhan luka. Disarankan pada penelitian selanjutnya untuk melakukan uji toksisitas dari sediaan gel *eco-enzyme* kulit buah nanas

DAFTAR PUSTAKA

- Arum, M., Wahyuningsih, S., & Amin, R. (2022). Uji efektivitas patch transdermal ekstrak etanol kulit batang kayu jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr) terhadap luka sayat pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Multidisiplin Madani*, 2(2), 1001–1018.
- Depkes RI. (1995). *Farmakope Indonesia, Edisi IV*. Jakarta. Indonesia.
- Hanafiah, O. A., Abidin, T., Ilyas, S., Nainggolan, M., Syamsudin, E. (2019). Wound Healing Activity of Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Leaves Extract towards NIH3T3 Fibroblast Cells. *J Int Dent Med Res*. 12(3): 854-858.
- Hemalatha, M and Visantini, P. ((2020). Potential use of eco-enzyme for the treatment of metal based effluent. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering* 716, 1-6
- Keat, S. P. (2010). *Determination of acetic acid in garbage enzyme property associated with improving water quality of recreational lake*. School of Arts and Science. Tunku Abdul Rahman College. Kuala Lumpur. Malaysia.
- Kusuma, S. A. F., Abdassah, M., & Valas, B. E. (2018). Formulation and evaluation of anti acne gel containing citrus aurantifolia fruit juice using carbopol as gelling agent. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 10(4), 147–152. <https://doi.org/10.22159/ijap.2018v10i4.26788>
- Larasati, D., Astuti, A. P., & Maharani, E. T. (2020). Uji Organoleptik Produk *Eco-enzyme* dari Limbah Kulit Buah (Studi Kasus di Kota Semarang). *Seminar Nasional Edusainstek*. FMIPA UNIMUS. Semarang.
- Nazaruddin, Aisyah, S., Putri, R.S., Dasrul, Hennivanda, Roslizawaty, Sutriana, A., 2022. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jelly Daun Sikhoh-khoh (*Chromolaena odorata*) Terhadap Penyembuhan Luka Terbuka pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*), *Jurnal Ilmiah mahasiswa Vetetiner (JIMVET)*, 6(3) : 179 - 193

- Neupane, K., and Khadka, R. 2019, Production of Garbage Enzyme from Different Fruit and Vegetable Wastes and Evaluation of its Enzymatic and Antimicrobial Efficacy. *Tribhuvan University Journal of Microbiology*. **6(1)**: 1-5.
- Ramadani, A. H., Karima, R., & Ningrum, R. S. 2022, Antibacterial Activity of Pineapple Peel (*Ananas comosus*) Eco-enzyme Against Acne Bacterias (*Staphylococcus aureus* and *Propionibacterium acnes*). *Indonesian Journal Chemistry and Research.*, **9(3)**: 201–207. <https://doi.org/10.30598/ijcr.2022.9-nin>
- Sagar, N. A., Pareek, S., Sharma, S., Yahia, E. M., Lobo, M. G. (2018). Fruit and vegetable waste: Bioactive compounds, their extraction, and possible utilization. *Comprehensive Reviews Food Science and Food Safety*, **17(3)**: 512–531.
- Sembiring, B.M dan Jayadi, F. (2020). Analisis Kadar Asam Asetat Hasil Fermentasi Eco-Enzyme Dari Kulit Jeruk Bali (*Citrus maxima* Merr.) dan Potensinya Sebagai Antioksidan dengan Metode Alkalimetri dan DPPH. *Jurnal Farmasi dan Herbal*, 5(1), 136 – 141.
- Setiani, I and Endriyatno, N.C., 2023. Formulasi Gel Ekstrak Buah Tomat (*Solanum lycopersicum* L.) dengan Variasi Konsentrasi HPMC serta Uji Fisiknya, *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(3) : 378 - 390
- Suprayogi, D., Asra, R., Mahdalia, R., 2022. Analisis Produk Eco Enzyme dari Kulit Buah Nanas (*Ananas comosus* L.) dan Jeruk Berastagi (*Citrus X sinensis* L.). *Jurnal Online Universitas PGRI Palembang*, 7(1) ; 19 – 27.
- Suryani, M. V., Astuti, A. P., Tri, E., & Maharani, W. (1 Desember 2020). Perbandingan Uji Organoleptik pada Delapan Variabel Produk Ekoenzim. Makalah disajikan pada Seminar Nasional Edusainstek Universitas Muhammadiyah Semarang. Semarang, Indonesia.
- Syamsuni. (2005) *Farmasetika Dasar dan Hitungan Farmasi*, Buku kedokteran EGC, Jakarta, Indonesia.
- Syed, T. K., Apturkar, D. K., Dandekar, K. N., Baviskar, P. K., Jorwekar, G. J., & Shaikh, M. H. (2021). Effects of acetic acid and povidone iodine dressings as modulators of local environment in chronic wounds as synergists and separate agents. *International Surgery Journal*, 8(2), 654. <https://doi.org/10.18203/2349-2902.isj20210379>
- Thomas, N.A., Taupik, M., Ramadhani, F.N., Hutuba, A.H., Papeo, D.R.P., 2024. Penyembuhan Luka Bakar Gel Enzim Bromelin Secara In Vivo. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 6 (1) : 66 - 77
- Voight, R. (1994). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi kelima, UGM Press : Yogyakarta, hal. 340-341, 577-578