Efek Ekstrak Etanol 70% Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk)

Topikal terhadap Pertumbuhan Jumlah Sel Fibroblas Luka Insisi Kulit

Tikus Putih Jantan Galur Wistar

Suwenita¹; Muhammad In'am Ilmiawan²; Sari Eka Pratiwi²

¹ Program Studi Kedokteran, FK UNTAN

² Departemen Biologi dan Patobiologi, Program Studi Kedokteran, FK UNTAN

Abstrak

Latar Belakang. Luka adalah kerusakan fisik sebagai akibat dari terbukanya atau hancurnya kulit yang menyebabkan gangguan fungsi dan anatomi kulit normal yang disebabkan oleh mikroba, trauma mekanik, kimia, atau suhu yang mengenai jaringan. Sejumlah studi menunjukkan bahwa tanaman tradisional potensial sebagai agen penyembuhan luka, salah satunya daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk).

Metode. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *posttest only control group design*. Subjek penelitian adalah 25 ekor tikus Wistar jantan yang dibagi menjadi lima kelompok, yaitu kelompok kontrol positif (salep sanoskin®), kelompok kontrol negatif (salep plasebo), kelompok perlakuan 1 (salep ekstrak daun karamunting 2,5%), kelompok perlakuan 2 (salep ekstrak daun karamunting 5%) dan kelompok perlakuan 3 (salep ekstrak daun karamunting 10%). Masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor tikus. Pada setiap kelompok dilakukan insisi di punggung sepanjang 2 cm dengan kedalaman 0,2 cm sejajar os.vertebrae, berjarak 5 cm dari telinga. Pada hari kesepuluh dilakukan pengambilan jaringan luka dan pembuat preparat histologi dengan pewarnaan H&E dan diamati sel fibroblas pada perbesaran lensa objektif 40x. Data dianalisa menggunakan uji *one-way anova* dilanjutkan dengan post hoc test LSD. **Hasil.** Pemberian salep ekstrak etanol 70% daun karamunting mengakibatkan peningkatan jumlah sel fibroblas namun tidak memberikan perbedaan secara bermakna. **Kesimpulan.** Salep ekstrak etanol 70% daun karamunting tidak memberikan efek peningkatan jumlah pertumbuhan sel fibroblas secara bermakna di hari ke-10 pada luka insisi kulit tikus putih jantan galur wistar.

Kata kunci: Daun karamunting, pertumbuhan sel fibroblas

Background. Wound is a physical injury as the impact of microbial, mechanical trauma, chemical, or thermal damages to the skin, leads to the opening or the breaking of the skin which causes the changes in normal skin anatomy and functions. Some researches indicate that traditional plant may act as an agent in healing wounds; one of them is Karamunting leaves. **Method.** This research was an experimental research with *posttest only controls group design*. The subjects of research were twenty five male wistar rats divided into five groups; positive control group (sanoskin® ointment), negative control group (placebo ointment), experimental group 1 (2,5% karamunting leaves ointment), experimental group 2 (5% karamunting leaves ointment) and experimental group 3 (10% karamunting leaves ointment). Each group consists of five rats. All groups underwent 2 cm long incision at the back with 0, 2 cm depth, parallel with os.vertebrae, around 5 cm from the ears. On the tenth day, wound tissue are taken on all groups sample and processed into histological blood smears stained with H&E to check the fibroblast cells observed with 40 times objective lens magnification. The data were analyzed using *one-way anova* and followed by *LSD post hoc*. **Result.** Anointment of 70% ethanol extract ointment of Karamunting leaves resulted in an increased number of fibroblasts cells but did not give significant differences. **Conclusion.** Seventy percent ethanol extract ointment of Karamunting leaves did not give an increasing effect toward the amount of fibroblast growth cells significantly on the tenth day at the incision wound of the skin on Wistar male rats.

Keywords: Karamunting leaves, Fibroblast growth cells

PENDAHULUAN

Luka adalah kerusakan fisik sebagai akibat dari terbukanya atau hancurnya kulit yang menyebabkan ketidakseimbangan fungsi dan anatomi kulit normal serta jaringan di bawahnya yang biasanya dapat disebabkan oleh trauma benda tajam atau tumpul, trauma termal, kimiawi, ledakan, sengatan listrik dan gigitan hewan.¹ Prevalensi luka terbanyak di seluruh dunia adalah luka akibat operasi yaitu 110 juta kasus per tahun sedangkan luka akibat trauma dilaporkan 1,6 juta kasus per tahun, luka bakar 1,25 juta orang, luka kronis 6,5 juta orang.²

Sejumlah studi menunjukkan bahwa tanaman tradisional potensial sebagai agen penyembuhan luka dan sebagian besar disukai masyarakat karena ketersediaan yang luas dan tidak ada efek samping. Salah satu tanaman tradisional yang berpotensi sebagai obat luka adalah daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk). Hal ini dikarenakan daun

karamunting memiliki kandungan utama seperti flavonoid, saponin, tanin dan triterpenoid.⁶ Flavonoid merupakan antioksidan poten yang dapat mengurangi lipid peroksidase, meningkatkan kecepatan epitelialisasi dan berfungsi sebagai antimikroba.⁷ Kandungan tanin memiliki kemampuan sebagai antimikroba, toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri.⁸ Kandungan saponin dapat meningkatkan kemampuan reseptor TGF- β yang terdapat pada fibroblas untuk berikatan dengan TGF- β . TGF- β merupakan faktor pertumbuhan yang diperlukan fibroblas dalam mensintesis kolagen, sehingga flavonoid, tanin dan saponin diduga bertanggung jawab dalam proses *wound contraction*. Alkaloid dan terpenoid memiliki kemampuan sebagai antibakteri dengan merusak porin dan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri.⁹

Sel fibroblas dijadikan sebagai indikator dalam proses penyembuhan luka, dikarenakan sel fibroblas merupakan jenis

sel utama yang terlibat dalam proses perbaikan. Sel fibroblas mampu mensintesis protein seperti, kolagen dan elastin, yang membentuk serat kolagen, retikulin dan elastin serta glukosaminoglikan, proteoglikan dan glikoprotein dari matrik ekstraseluler.¹⁰ Kolagen diperlukan untuk proses penyembuhan jaringan yang mengalami kerusakan karena trombosit akan melekat pada matriks melalui intergin yang berikatan dengan kolagen dan laminin.¹¹

Berdasarkan hal tersebut, peneliti tertarik untuk mencari alternatif tatalaksana awal luka dengan menggunakan daun karamunting yang diharapkan dapat meminimalkan efek samping, namun tetap memiliki kemampuan yang tidak kalah efektif dalam proses penatalaksanaan awal penyembuhan luka.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *posttest*

only control group design menggunakan tikus wistar jantan sebagai sampel. Jumlah sampel sebanyak 25 ekor, sampel dibagi menjadi 5 kelompok yaitu 5 ekor sebagai kontrol positif, 5 ekor sebagai kontrol negatif, 5 ekor sebagai perlakuan 1, 5 ekor sebagai perlakuan 2, dan 5 ekor lagi sebagai perlakuan 3.

Pada kelima kelompok sampel diberi anestesi dengan menggunakan ether 10% secara inhalasi,¹⁰ kemudian dilakukan insisi pada punggung sepanjang 2 cm dengan kedalaman 0,2 cm sejajar os.vertebrae, berjarak 5 cm dari telinga.² Pada masing-masing kelompok sampel perlakuan dioleskan salep ekstrak daun karamunting 2,5%, 5%, dan 10%, pada sampel kontrol negatif dioleskan salep plasebo, sedangkan pada sampel kontrol positif dioleskan salep sanoskin®. Pada hari ke-10 dilakukan pengambilan jaringan luka dan dibuat preparat histologi dengan pewarnaan H&E kemudian diamati sel fibroblas dengan perbesaran lensa objektif 40x menggunakan alat bantu *stereo*

microscope dan menggunakan fasilitas pengukuran *length* pada aplikasi *AxioVision* Rel.4.8. Hasil pengukuran data tiap kelompok kemudian dianalisis secara statistik menggunakan program *spss.22* dengan menggunakan uji *One Way Anova* dan dilanjutkan *Post Hoc Test LSD*.

HASIL

Hasil uji data dengan *saphiro-wilk* dan *test homogeneity of variences* menunjukkan bahwa semua data sel fibroblas terdistribusi normal yaitu $p > 0,05$ (lampiran10) dan bersifat homogen dengan $p > 0,05$ (lihat lampiran 10). Hasil uji ANOVA menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p < 0,05$) antar kelompok. Pada setiap kelompok dijumpai sel-sel fibroblas yang tersebar diantara serat kolagen. Pada jaringan yang sama tidak dijumpai adanya sel-sel darah putih yang mengarah pada peradangan.

Rata-rata jumlah sel fibroblas pada setiap kelompok tidak berbeda jauh. Melalui uji LSD didapatkan tidak adanya

perbedaan bermakna antar masing masing kelompok. Berdasarkan jumlah sel didapatkan pada kontrol (-) lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok lainnya.

PEMBAHASAN

Secara umum pada masing-masing kelompok ditemukan adanya proses penyembuhan luka yang ditandai dengan peningkatan jumlah sel fibroblas yang bermigrasi pada daerah sekitar luka. Hasil pengamatan hari ke-10 menunjukkan bahwa salep ekstrak etanol 70% daun karamunting (*Rhodymyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk) tidak memberikan hasil yang berbeda bermakna pada setiap kelompok. Tidak adanya perbedaan bermakna jumlah sel fibroblas antar kelompok disebabkan pada hari ke-10 sudah terjadi penutupan yang hampir sempurna pada luka. Sehingga migrasi sel fibroblas sudah berkurang.¹²

Meskipun rerata jumlah sel fibroblas pada setiap kelompok tidak berbeda bermakna, kelompok perlakuan dengan

menggunakan bahan uji lebih besar jumlah sel fibroblasnya dibandingkan dengan kelompok tanpa bahan uji. Penggunaan salep sanoskin memiliki kandungan aktif yaitu madu. Madu memiliki mekanisme kerja yang sama seperti salep ekstrak daun karamunting yaitu sebagai antioksidan yang dapat meningkatkan proliferasi sel fibroblas.¹³

Terjadinya perbedaan jumlah sel fibroblas antara kelompok perlakuan 1,2 dan 3 disebabkan karena adanya perbedaan konsentrasi ekstrak daun karamunting yang ditambahkan dalam formulasi salep dimana peningkatan sel fibroblas jaringan luka oleh salep daun karamunting dimungkinkan karena daun karamunting mengandung semua *phenolic compounds* yang berpengaruh pada mekanisme penyembuhan luka yaitu tannin, flavonoid, saponin, phenol dan triterpenoid.¹⁴ Kandungan triterpenoid dan flavonoid dari daun karamunting memegang peranan penting dalam meningkatkan proses penyembuhan luka. Kedua zat tersebut

diketahui mempunyai efek antimikroba dan diduga bertanggungjawab dalam kontraksi luka dan peningkatan kecepatan dari epitelisasi.¹⁵ Kandungan flavonoid yang terdapat pada daun karamunting merupakan antioksidan yang kuat, efek pembasmi radikal bebas, berperan dalam melindungi tubuh melawan *reactive oxygen species* dan meningkatkan fungsi dari antioksidan endogen, memperbesar level enzim antioksidan dalam jaringan granulasi.^{2,16} Pada daun karamunting terdapat flavonoid yang diduga dapat menghambat mediator-mediator radang yaitu seperti *Interleukin-1* (IL-1) dan *Tumor Necrosis Factor* (TNF) yang dihasilkan oleh makrofag dan sitokin reseptor yang secara umum akibatnya tampak pada penekanan rasa nyeri, demam dan kerusakan jaringan.¹⁷ Kandungan flavonoid dan phenol yang terdapat pada daun karamunting juga diduga dapat mengurangi lipid peroksidase, meningkatkan kecepatan epitelialisasi, dan berfungsi sebagai antimikroba. Penurunan

lipid peroksidase oleh flavonoid dan phenol akan mencegah terjadinya nekrosis, memperbaiki vaskularisasi, dan meningkatkan viabilitas serabut kolagen dengan cara meningkatkan kekuatan anyaman serabut kolagen.^{3,12} Begitu pula kandungan zat aktif tanin dan saponin dalam daun karamunting berperan sebagai antioksidan dan antimikroba, sehingga dapat meningkatkan kontraksi luka dan meningkatkan kecepatan epitelisasi.²

Kandungan saponin juga dapat meningkatkan kemampuan reseptor TGF- β yang terdapat pada fibroblas untuk berikatan dengan TGF- β . TGF- β merupakan faktor pertumbuhan yang diperlukan fibroblas dalam mensintesis kolagen.^{18,19} Kolagen merupakan suatu matriks ekstraseluler yang berperan sebagai kerangka untuk migrasi keratinosit. Pembentukan matriks ekstraseluler yang lebih padat dan kompak akan memacu proses epitelialisasi oleh keratinosit.²⁰ Menurut Kun Li, kandungan tannin yang terdapat pada daun

karamunting diduga berperan dalam pengaturan transkripsi dan translasi *vascular endothelial growth factor* (VEGF).²¹

Tujuan utama pengobatan luka adalah mengembalikan fungsi dan bentuk jaringan kulit kembali normal dengan komplikasi lokal seminimal mungkin. Pada saat terjadi luka, jaringan tersebut akan mengalami proses penyembuhan yang merupakan keadaan yang kompleks dan melibatkan beberapa proses. proses perbaikan jaringan merupakan proses yang dinamis, secara singkat meliputi proses inflamasi, diikuti oleh proses fibrosis atau fibroplasia, selanjutnya remodeling jaringan dan pembentukan jaringan.²²

Pada proses inflamasi terjadi perubahan vaskuler yang mempengaruhi besar, jumlah, dan permeabilitas pembuluh darah dan perubahan seluler yang menyebabkan kemotaksis ke arah jejas setelah proses inflamasi berkurang, dilanjutkan dengan proses fibrosis tahap awal yaitu migrasi dan proliferasi di

daerah jejas. Migrasi dan proliferasi fibroblas terutama dipacu oleh *transforming growth factor- β* (TGF- β), yaitu faktor pertumbuhan yang dihasilkan oleh jaringan granulasi yang terbentuk selama proses inflamasi. Migrasi dan peningkatan proliferasi fibroblas di daerah jejas akan meningkatkan sintesis kolagen dan fibronectin, serta peningkatan deposisi matriks ekstraselular.²³

Pada fase inflamasi akan terbentuk radikal bebas *reactive oxygen species* (ROS) yang dihasilkan oleh netrofil dan makrofag sebagai bagian dari sistem imun untuk membantu mempercepat pembersihan luka dari serangan bakteri. Tetapi selain efek positif, ROS ini juga berdampak negatif. Dalam level rendah hidrogen peroksida dan ROS yang lain menghambat migrasi dan proliferasi dari berbagai tipe sel, termasuk sel kulit (keratinosit). Dalam level tinggi, ROS dapat merusak jaringan dengan berat dan bahkan berubah menjadi neoplasma,

sehingga keberadaan ROS ini akan menghambat penyembuhan luka.²³

Pada tahap selanjutnya terjadi penurunan proliferasi sel endotel dan sel fibroblas, namun fibroblas menjadi lebih progresif dalam mensintesis kolagen dan fibronectin sehingga meningkatkan jumlah matriks ekstraselular yang berkurang selama inflamasi. Selain TGF- β , beberapa faktor pertumbuhan lain yang ikut mengatur proliferasi fibroblas juga membantu menstimulasi sintesis matriks ekstraselular. Pembentukan serabut kolagen pada daerah jejas merupakan hal yang penting untuk meningkatkan kekuatan penyembuhan luka.^{12,24}

KESIMPULAN

1. Salep ekstrak etanol 70% daun karamunting (*Rhodymyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) memberikan pengaruh terhadap peningkatan pertumbuhan sel fibroblas.
2. Ekstrak etanol 70% daun karamunting (*Rhodymyrtus tomentosa* (Aiton)

Hassk.) yang mengandung metabolit sekunder fenol, flavonoid, saponin, tanin, steroid, glikosida dan triterpenoid.

3. Salep ekstrak etanol 70% daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap peningkatan jumlah sel fibroblas yang antar masing-masing kelompok setelah 10 hari perlakuan .

DAFTAR PUSTAKA

1. Robert Ardianto Raharjo. Perbedaan Tingkat Penyembuhan Luka Tikus Wistar Antara Luka Yang Dibalut Dengan Kassa Tulle Dan Yang Dibalut Dengan *Polyurethane Foam*. 2011. (Skripsi)
2. Driscoll, P. Incidence and Prevalence of Wounds by Etiology. 2009. <http://mediligence.com/2009/12/13/incidence-and-prevalence-of-wounds-by-etiology>. (18 Jan 2016)
3. Riset Kesehatan Dasar. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2013.
4. Guo, SA, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. *Journal of dental research*. 2010 Mar 1;89(3):219-29.
5. Sutomo, Arnida, Hernawati F, Yuwono M. Kajian farmakognostik simplisia daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) asal pelaihari Kalimantan Selatan. *Sains dan Terapan Kimia*. 2010.p.39
6. Mitra, S.K., Bangalore, Saxena, E. Herbal composition for the prevention of wrinkles and skin disorders, methods of preparing the same and uses there Of. dubai :Himalaya Global Holding Limited. US Patent 8,142,818 B2. Mar. 27, 2016.
7. Lavanya, G, Voravuthikunchai SP, Towatana NH. Acetone extract from *rhodomyrtus tomentosa*: A potent natural Antioxidant. Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. Volume. 2012, Article ID 535479.
8. Atmoko, Tri dan Amir Ma'ruf. Uji toksisitas dan skrining fitokimia ekstrak tumbuhan sumber pakan orang utan terhadap larva *Artemia salina* L. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*. 2009; 4(1):37-45.
9. Sanjayasari, Dyahruri. Wiranda .G. Pliliang. Skrining fitokimia dan uji toksisitas ekstrak daun katuk (*Saoropus androgenus* (L.) Merr.) terhadap Larva udang *artemia salina*: Potensi fitofarmaka pada ikan. *Berkala Perikanan Terubuk*. 2011;39(1):91-100
10. Anggraeni, Retinaning. pengaruh pemberian topikal ekstrak daun badotan terhadap jumlah sel fibroblas pasca pencabutan gigi tikus galur wistar. 2011. (Skripsi)
11. Bambang triyono. Perbedaan tampilan kolagen di sekitar luka insisi pada tikus wistar yang diberi infiltrasi penghilang Nyeri levobupivakain dan yang tidak diberi levobupivakain. 2005 (Skripsi)
12. Masir, O, Manjas, M., Putra, A.E., Agus , S., Pengaruh cairan kultur filtrate fibroblast (CFF) terhadap penyembuhan luka; penelitian eksperimental pada *rattus norvegicus* galur wistar. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2012; 1(3).p.112-7.
13. MIMS Indonesia, 2013. MIMS Indonesia (serial online) (online <http://www.mims.com/indonesia/drug/infoSanoSkin%20Melladerm%20Plus>) (14 Apr 2017)
14. Soni, H. and Singhai, A.K. A recent update of botanicals for wound healing activity. *International Research Journal of Pharmacy* .2012; 3:1-6.
15. Nayak, B.S. and Pereira, L.M.P. Catharanthus roseus flower extract has wound-healing activity in Sprague Dawley rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2006;6: 41.
16. Sangi, M., M.R.J. Runtuwene., H.E.I. Simbala.,V.M.A. Makang. Analisis fitokimia tumbuhan obat di kabupaten minahasa utara. *Chem. Prog*. 2008, 1(1):47-53
17. Saroja, M., Santhi, R., Annapoorani, S. Wound healing activity of flavonoid fraction of *cynodon dactylon* in swiss albino mice. *International Research Journal of Pharmacy*. 2012; 3(2),230-1.
18. Permatasari, Nur; Diah; Handayani, MP. Efek jus buah belimbing manis (*Averrhoa carambola* Linn.) dalam meningkatkan pembentukan kolagen pada soket tikus putih (*Rattus novergicus* Strain Wistar) jantan pasca pencabutan gigi. Universitas Brawijaya. Fakultas Kedokteran, 2013 (Skripsi).

19. Wenny Rupina. Efek Ekstrak Etanol 70% Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aitt.) Hassk) Terhadap Re-Epitelisasi Luka Insisi Kulit Tikus Putih Galur Wistar. 2015 (Skripsi)
20. Darma, S. et all. efek pemberian subkutan vitamin C terhadap luka insisi dermal. Fakultas kedokteran Andalas. 2013. (Jurnal)
21. Kun Li, Yunpeng Diao, Houli Zhang, Shouyu Wang, Zhen Zhang, Bo Yu, Shanshan Huang and Hong Yang. Tannin extracts from immature fruits of terminalia chebula fructus retz. promote cutaneous wound healing in rats. BioMed Central Complementary and Alternative Medicine. 2011, 11:86
22. Masir, O, Manjas, M., Putra, A.E., Agus , S., Pengaruh cairan kultur filtrate fibroblast (CFF) terhadap penyembuhan luka; penelitian eksperimental pada *rattus norvegicus* galur wistar. Jurnal Kesehatan Andalas. 2012; 1(3).p.112-7.
23. Kun Li, Yunpeng Diao, Houli Zhang, Shouyu Wang, Zhen Zhang, Bo Yu, Shanshan Huang and Hong Yang. Tannin extracts from immature fruits of terminalia chebula fructus retz. promote cutaneous wound healing in rats. BioMed Central Complementary and Alternative Medicine. 2011, 11:86
24. Thakur, R., Jain, N., Pathak, R., Sandhu, S.S. Practices in wound healing studies of plants. Review Article Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2011: 1-15.