

**PEMBERIAN SALEP EKSTRAK BUNGA BIDURI (*Calotropis gigantea*) UNTUK  
PENYEMBUHAN LUKA PADA MENCIT (*Mus musculus*)  
SECARA KLINIS DAN HISTOPATOLOGIS**

**Marphirah**

Program Studi Magister Pendidikan Biologi FKIP Universitas Syiah Kuala Banda Aceh  
Email: marphirahs@gmail.com

**ABSTRAK**

Bunga biduri (*Calotropis gigantea*) memiliki beberapa senyawa penting dalam penyembuhan luka, yaitu alkaloid, flavonoid, tannin, karbohidrat, glikosida, senyawa fenol, saponin, protein, asam amino, lemak, minyak, serta kalotropin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian salep ekstrak bunga biduri terhadap penyembuhan luka secara klinis dan histopatologi. Penelitian dilakukan pada bulan Januari sampai Agustus 2018. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan rancangan acak lengkap (RAL) dalam 5 perlakuan yaitu kontrol positif yang diberi salep betadin, kontrol negatif yang diberi salep kosong, perlakuan salep ekstrak bunga biduri 5%, perlakuan salep ekstrak bunga biduri 10% dan perlakuan salep ekstrak bunga biduri 15%. Luka eksisi dengan diameter 1 cm dibuat pada bagian punggung mencit dengan anestesi ketamine. Data dianalisis dengan menggunakan Analisis Varian (ANOVA) dan dilanjutkan dengan Uji Duncan pada  $\alpha$ : 0,05. Hasil uji ANOVA satu arah berbeda secara signifikan terhadap pengamatan klinis dan histopatologis. Hasil pengamatan secara klinis menunjukkan bahwa waktu pengecilan diameter luka paling cepat terdapat pada kelompok perlakuan dengan salep ekstrak bunga biduri 15%. Hasil pengamatan secara histopatologi menunjukkan bahwa jumlah fibroblas tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan salep ekstrak bunga biduri 15%. Dapat disimpulkan bahwa pemberian salep ekstrak bunga biduri berpengaruh terhadap penyembuhan luka pada mencit baik secara klinis maupun histopatologi. Konsentrasi 15% merupakan perlakuan terbaik dalam mempercepat penyembuhan luka..


**Kata Kunci:** Salep Ekstrak Bunga Biduri, Luka Eksisi dan Penyembuhan Luka

**ABSTRACT**

Milkweed (*Calotropis gigantea*) flower has some important compounds in wound healing such as alkaloids, flavonoids, tannins, carbohydrates, glikosides, phenols, saponins, protein and amino acid, and calothropin. The aim of this study was to determine the clinical and histopathological effect of milkweed extract ointment towards wound healing in mice (*Mus musculus*). The research was carried out in January to August 2018. This study used experimental method with Completely Randomized Design (CRD) with five treatments: betadine ointment as positive control, vaseline ointment as negative control, and three experimental treatment with milkweed extract ointments in 5%, 10% and 15% concentration. Every treatment contains of 6 mice each, which were wounded with 1 cm diameter excision on its back after injected with ketamine anesthesia. Data were analyzed using Analysis of Varians (ANOVA) and continued with Duncan Test  $\alpha$  0,05. The clinical result showed that the fastest time of wound diameter reduction found on experimental treatment with 15% milkweed extract ointment. The histopathological result showed that the highest fibroblast number found on the experimental treatment with 15% milkweed extract ointment. It was concluded that the milkweed extract ointment have an effect on wound healing in mice clinically and histopathologically with 15% concentration being the best in promoting wound healing.

**Keywords:** Milkweed Extract Ointment, Excision Wound and Wound Healing

**PENDAHULUAN**

 Luka merupakan rusaknya sebagian dari jaringan tubuh yang umumnya terjadi pada kulit yang merupakan pelindung pertama terhadap pengaruh luar seperti gesekan,

benturan, panas, dingin, gangguan sinar radiasi, dan mikroba [1]. Setelah terjadi luka, jaringan tubuh akan memulai proses penyembuhan luka. Proses penyembuhan luka merupakan suatu interaksi yang kompleks dari aksi selular dan

biokimia dalam pembentukan kembali suatu integritas struktural dan fungsional serta memulihkan kekuatan dari jaringan yang terkena trauma. Penyembuhan luka merupakan proses kompleks yang secara umum dapat dibagi menjadi 3 tahapan, yaitu reaksi inflamatori, proliferasi, dan remodeling [2].

Proses penyembuhan luka dapat dilihat secara klinis dan histopatologi. Secara klinis, penyembuhan luka ditandai dengan terhentinya perdarahan, terbentuknya jaringan granulasi dan menyempitnya area luka. Secara histopatologi, proses penyembuhan luka ditandai dengan munculnya sel-sel inflamasi, reepitalisasi, pembentukan pembuluh darah baru dan serat-serat kolagen [3].

Pengobatan luka dilakukan dengan pengaplikasian obat-obatan penyembuh luka pada permukaan luka. Obat penyembuh luka secara umum dapat dikelompokkan menjadi dua jenis, yaitu obat sintetis dan obat alami. Povidone Iodium merupakan kandungan yang biasanya terdapat dalam obatsintetis yang umum digunakan untuk penyembuhan luka. Obat penyembuh luka alami yang biasanya digunakan masyarakat berasal dari berbagai tanaman herbal. Penggunaan tanaman herbal untuk pengobatan telah dilakukan sejak jaman dahulu kala dimana ketersediaan obat-obatan sintetis masih sangat terbatas. Menurut data World Health Organization (WHO) sekitar 80% populasi dari negara berkembang menggunakan tanaman herbal untuk mengatasi masalah kesehatan. Selain mampu mengurangi efek samping yang dapat ditimbulkan oleh obat sintetis, tanaman herbal juga aman dan harganya terjangkau [3].

Biduri (*Calotropis gigantea*) adalah tanaman liar yang termasuk ke dalam tanaman getah dan hidup di daerah tropis. Biduri secara luas telah dilaporkan memiliki sifat analgesik, antimikroba, antioksidan, antipiretik, insektisida, sitotoksitas, pencahar, dan prokoagulan [5]. Biduri merupakan salah satu tanaman yang sering digunakan sebagai obat penyembuh luka dalam pengobatan tradisional di India (ayurvedic treatment). Tanaman biduri menghasilkan getah berwarna putih yang terdapat pada semua bagian tanaman, baik batang, daun, bunga dan akar [6].

Hampir semua bagian dari tanaman biduri dapat digunakan untuk pengobatan. Bunga biduri diketahui memiliki sifat anti mikroba [7],

analgesik, antibakteri, prokoagulan dan sitotoksik [8], serta antitumor [9]. Aktivitas penyembuhan luka disebabkan adanya kandungan fitokimia berupa flavonoid yang mempercepat proses penyembuhan dengan cara meningkatkan epitelisasi sehingga pembentukan kolagen meningkat [10].

Ekstrak metanol dari bunga biduri mengandung alkaloid, karbohidrat, flavonoid, glikosida, tannin, senyawa fenol, saponin, protein, asam amino, lemak, minyak, triterpenoid, steroid dan kalotropin [11,12]. Dari hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa dalam ekstrak bunga biduri terkandung lebih beragam senyawa kimia aktif dibandingkan dengan ekstrak pucuk dan daun biduri. Walaupun berada pada satu batang yang sama, namun komposisi senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam setiap bagian tanaman berbeda-beda, baik di akar, batang, daun, atau bunga. Senyawa-senyawa kimia tersebut telah diketahui berperan dalam mempercepat proses penyembuhan luka. Namun, hingga saat ini, belum ada penelitian tentang manfaat ekstrak bunga biduri untuk menyembuhkan luka.

Terdapat berbagai bentuk sediaan obat, seperti salep (vaselin), gel atau lotion. Bentuk sediaan salep dipilih sebagai bentuk sediaan karena memiliki stabilitas yang baik, berupa sediaan halus, mudah digunakan, nyaman dipakai, mampu menjaga kelembapan kulit dan tidak mengiritasi kulit [13].

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL), terdiri atas 5 perlakuan dan 6 ulangan. Perlakuan terdiri atas kontrol positif (K+) yang diberi salep betadin, kontrol negatif (K-) yang diberi salep kosong, perlakuan P1 yang diberi salep ekstrak bunga biduri konsentrasi 5%, perlakuan P2 yang diberi salep ekstrak bunga biduri konsentrasi 10% dan perlakuan P3 yang diberi salep ekstrak bunga biduri konsentrasi 15%.

Objek pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) albino jantan. memiliki berat 30-50 gram dan usia 2-3 bulan dan telah diadaptasikan selama 1 minggu. Hewan ini diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala.

## Pembuatan Ekstrak Bunga Biduri

Sebanyak 3 kg bunga Biduri yang dikumpulkan dari daerah pesisir pantai Alue Naga dicuci bersih dan dikeringanginkan selama 2-3 minggu hingga dihasilkan 250 gram bunga biduri kering [12]. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan cara maserasi dengan pelarut etanol 70%. Maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam pada suhu kamar lalu difiltrasi dengan corong Buchner. Ekstrak yang diperoleh dipisahkan dari pelarut dengan penguap putar (rotary evaporator) pada suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental.

### **Pembuatan Salep**

Ekstrak bunga biduri dicampurkan dengan vaselin putih lalu diaduk hingga homogen sesuai dengan perbandingan konsentrasi salep yang telah ditentukan, lalu dimasukkan kedalam wadah yang tertutup dan steril [14]. Masing-masing salep dibuat sebanyak 5 gram.

### **Pembuatan Luka**

Pembuatan luka dilakukan dengan terlebih dahulu mencukur rambut di daerah punggung bagian atas, dan pada saat akan dibuat luka, mencit dibius terlebih dahulu dengan ketamin. Kemudian dibersihkan dengan alkohol 70% lalu dibuat luka berbentuk lingkaran dengan diameter 1 cm, dengan cara mengangkat kulit dengan pinset, dan digunting sampai bagian subkutan [15].

### **Aplikasi Salep Pada Mencit**

Sebanyak 30 ekor mencit dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok berjumlah 6 ekor dan diberikan perlakuan sebagai berikut :

- P1 : Luka diaplikasi dengan salep bunga biduri konsentrasi 5%
- P2 : Luka diaplikasi dengan salep bunga biduri konsentrasi 10%
- P3 : Luka diaplikasi dengan salep bunga biduri konsentrasi 15%
- K+ : Luka diaplikasi dengan Betadine salep (kontrol positif)
- K- : Luka diaplikasi dengan salep kosong (kontrol negatif)

Pengaplikasian dilakukan secara topikal sampai menutupi seluruh permukaan luka, dimulai setelah terbentuk luka (hari ke 0). Masing-masing kelompok diaplikasi salep sebanyak 3 kali sehari, setiap pagi, siang dan sore hari dengan selisih

waktu 4 jam setiap harinya [16]. Pada hari ke 1 sampai ke 14 dilakukan pengamatan klinis pada luka dengan mengukur diameter luka. Pada hari ke 14 setelah dilakukan pengamatan kemudian mencit dieuthanasia dan diambil sampel histologisnya.

### **Pengamatan Penyembuhan Luka Secara Klinis**

Perubahan secara klinis dilakukan setiap hari sampai hari ke 14 dengan pengamatan langsung pada bagian luka dengan melihat waktu pengecilan diameter luka. Ukuran luka diukur menggunakan jangka sorong pada arah vertikal, horizontal dan kedua diagonal.

### **Pembuatan Preparat dan Pengamatan Histopatologi**

Adapun tahap-tahap dalam pembuatan preparat histopatologi yaitu fiksasi jaringan, trimming, dehidrasi, penjernihan (clearing), pencetakan (embedding), pengirisan (sectioning), pewarnaan (staining), dan penutupan jaringan dengan cover glass (mounting).

Setelah dilakukan eksisi kemudian difiksasi di dalam larutan formalin 10% selama 12 jam. Kemudian dilakukan trimming pada mukosa labial lalu didehidrasi dalam aseton. Proses inidilakukan pada masing-masing cairan selama 1 jam. Tahap selanjutnya ialah penjernihan (clearing), zat yang digunakan dalam proses ini adalah benzol yang masing-masing direndam selama 1 jam. Sebelum proses pencetakan dilakukan proses infiltrasi parafin masing-masing selama 1 jam. Kemudian dilakukan proses pencetakan(embedding), proses ini dikerjakan di dekat sumber panas dengan alat-alat yang telah dihangatkan terlebih dahulu untuk mencegah pembekuan parafin sebelum proses selesai. Zat yang digunakan adalah Parafin histoplast yang memiliki titikcair 56-57°C. Cetakan diisi dengan parafin cair kemudian jaringan diletakkan didalamnya dengan bantuan pinset yang telah dipanaskan di atas lampu spiritus. Selanjutnya blok tersebut diletakkan di dalam wadah yang telah berisi es batu. Blok parafin yang sudah setengah beku diberi label untuk memudahkan identifikasi jaringan.

Tahap selanjutnya adalah pendinginan blokparafin pada suhu 4-5°C. Setelah dingin blok parafin dilepaskan dari cetakannya dan siap untuk tahap pengirisan jaringan menggunakan alatmikrotom (5µm). Hasil potongan yang berbentuk pita (ribbon) tersebut dibentangkan di

atas waterbath yang bersuhu 46°C. Potongan jaringan tersebut kemudian ditempelkan pada gelas objek yang telah diolesi larutan albumin yang dicampur dengan gliserin (1:1) dan diletakkan di atas hot plate untuk mengeringkan sisa-sisa air.

Selanjutnya preparat diwarnai dengan pewarnaan Hematoksin dan Eosin (HE). Preparat dideparafinisasi dengan dicelupkan secara bertahap ke dalam larutan xylol I dan II masing-masing selama 15 menit. Kemudian dicelupkan ke dalam alkohol absolut (I dan II), alkohol 80% (I dan II), alkohol 70% (I dan II), alkohol 50% (I dan II), alkohol 30% (I dan II) masing-masing selama 2 menit. Lalu dicelupkan ke dalam wadah yang berisi air selama 1-2 menit. Kemudian direndam di dalam larutan Hematoksin selama 15 menit, dicuci di bawah air mengalir selama 10 menit, dicelupkan ke dalam asid alkohol dan air masing-masing 3x dan 4x celupan. Lalu direndam ke dalam alkohol (30%, 50%, 70%) masing-masing selama 1 menit. Untuk pewarnaan Eosin, preparat direndam di dalam larutan Eosin selama 1-3 menit kemudian dicelupkan dengan air sebanyak 3X celup, alkohol (70%, 80%, 96%, dan absolut) masing-masing selama 2 menit. Kemudian dilakukan proses penjernihan (clearing) kembali dengan xylol (I dan II) masing-masing selama 5 menit. Terakhir adalah penutupan jaringan yang dilakukan dengan cara gelas objek ditetesi dengan balsem Kanada. Setelah itu jaringan ditutup dengan cover glas secara hati-hati [17]. Pengamatan penyembuhan luka secara histopatologi dilakukan dengan penghitungan jumlah neokapilerisasi, jumlah jaringan ikat (fibroblas) dan serabut kolagen dengan menggunakan mikroskop Olympus dengan 400x pembesaran dan 3 lapang pandang.

### Parameter Penelitian

Parameter yang diamati pada pemeriksaan klinis adalah waktu mengecil diameter luka pada hari ke 1 sampai hari ke 14. Parameter yang diamati pada pemeriksaan histopatologi adalah jumlah jaringan ikat (fibroblas).

### Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yang digunakan adalah pengamatan langsung. Terdapat dua jenis data yang diperoleh pada penelitian ini, yaitu data dari hasil pengamatan secara klinis dan data hasil pengamatan secara histopatologi.

### Analisis Data

Data hasil pengamatan dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji parametric yaitu ANAVA satu arah (*one way ANOVA*). Analisis dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh pada perlakuan. Apabila terdapat perbedaan, maka dilakukan uji lanjutan. Uji lanjutan yang digunakan adalah uji Duncan. Kesimpulan yang diambil berdasarkan nilai signifikansi  $p < 0,05$ .

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Pengamatan Klinis
















Hasil pengamatan makroskopik penyembuhan luka secara klinis dapat dilihat pada Gambar 1.

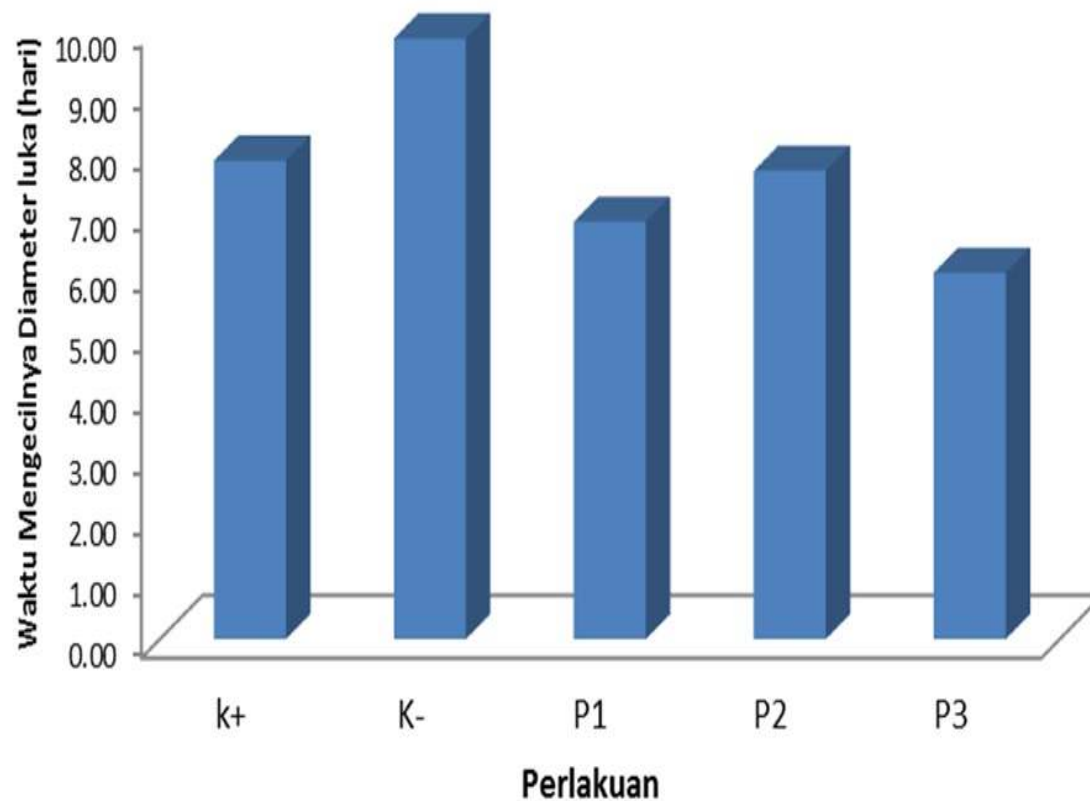
Berdasarkan Gambar 1 terlihat bahwa pada hari ke 1 luka yang diberi perlakuan salep ekstrak bunga biduri 15% (P3) dan kontrol positif (K+) sudah mulai mengering. Sedangkan pada luka pada perlakuan kontrol negatif (K-) dan salep ekstrak bunga biduri 5% (P1) dan 10% (P2) masih terlihat agak basah. Pada hari ke 7 permukaan luka pada perlakuan P3, K+ dan P2 sudah mulai tertutup keropeng, diameter luka sudah mulai mengecil dan terjadi reepitelisasi. Sedangkan pada kontrol negatif (K-) dan perlakuan P1 luka sudah tertutup keropeng, namun diameter luka belum berkurang dan tidak terlihat adanya reepitelisasi. Pada hari ke 14 luka pada perlakuan P3 nyaris tertutup sempurna, hanya tersisa sedikit lagi bagian yang belum tertutup sempurna, yaitu pada bagian tengah luka.

Pada luka yang tertutup juga sudah mulai terlihat tumbuh rambut-rambut halus. Pada kontrol positif (K+), P1 dan P2 luka sudah tertutup namun belum sempurna. Hanya terdapat sedikit rambut halus yang tumbuh. Sedangkan pada kontrol negatif terjadi penebalan keropeng, luka belum tertutup sempurna dan terlihat sedikit sekali rambut yang tumbuh.

Hasil pengamatan rata-rata waktu mengecilnya diameter luka pada masing-masing kelompok perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1. Berdasarkan gambar 1, terlihat bahwa terdapat variasi waktu pengecilan diameter luka pada setiap perlakuan. Waktu tercepat pengecilan diameter luka ditemukan pada perlakuan yang diberi salep ekstrak bunga biduri 15% (P3) yaitu  $6,00 \pm 0,63$  hari, kemudian diikuti yang diberi

Tabel 1. Perbandingan Proses Penyembuhan Luka secara Makroskopis pada Hari Ke 1, 7, dan 14 pada Masing-masing Perlakuan

Perlakuan	Pengamatan Hari Ke		
	1	7	14
K+			
K-			
P1			
P2			
P3			



Gambar 1. Perbandingan Rata-rata Waktu Mengecil Diameter Luka

salep ekstrak bunga biduri 5% (P1), 10% (P2), kontrol positif (K+) dan kontrol negatif (K-) secara berturut-turut adalah  $6,83 \pm 0,75$  hari,  $6,67 \pm 0,52$  hari,  $6,83 \pm 0,75$  hari dan  $9,83 \pm 0,75$  hari. Hasil ANAVA satu arah terhadap rata-rata waktu mengecilnya diameter luka menunjukkan nilai yang berbeda, dimana nilai F hitung > F tabel sebagaimana terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil ANAVA Satu Arah Waktu Mengecilnya Diameter Luka

Variasi	db	JK	KT	F Hit	F Tab
Perlakuan	4	49,13	12,28	25,95	2,76*
Galat	25	11,83	0,473		

\*berbeda

Hasil tersebut menunjukkan bahwa perlakuan pemberian salep ekstrak bunga biduri berpengaruh terhadap waktu mengecilnya diameter luka pada penyembuhan luka. Untuk melihat perlakuan mana yang menunjukkan pengaruh, maka data selanjutnya diuji dengan uji Duncan, yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Uji Duncan terhadap Waktu Mengecilnya Diameter Luka

Perlakuan	Rerata Waktu Pengecilan Diameter Luka ± SD
P3	$6,00 \pm 0,63^a$
P1	$6,83 \pm 0,75^b$
P2	$6,67 \pm 0,52^c$
K+	$6,83 \pm 0,75^c$
K-	$9,83 \pm 0,75^d$

Ket: Superskrip dengan huruf yang berbeda pada kolom yang samamenunjukkan perbedaan yang nyata

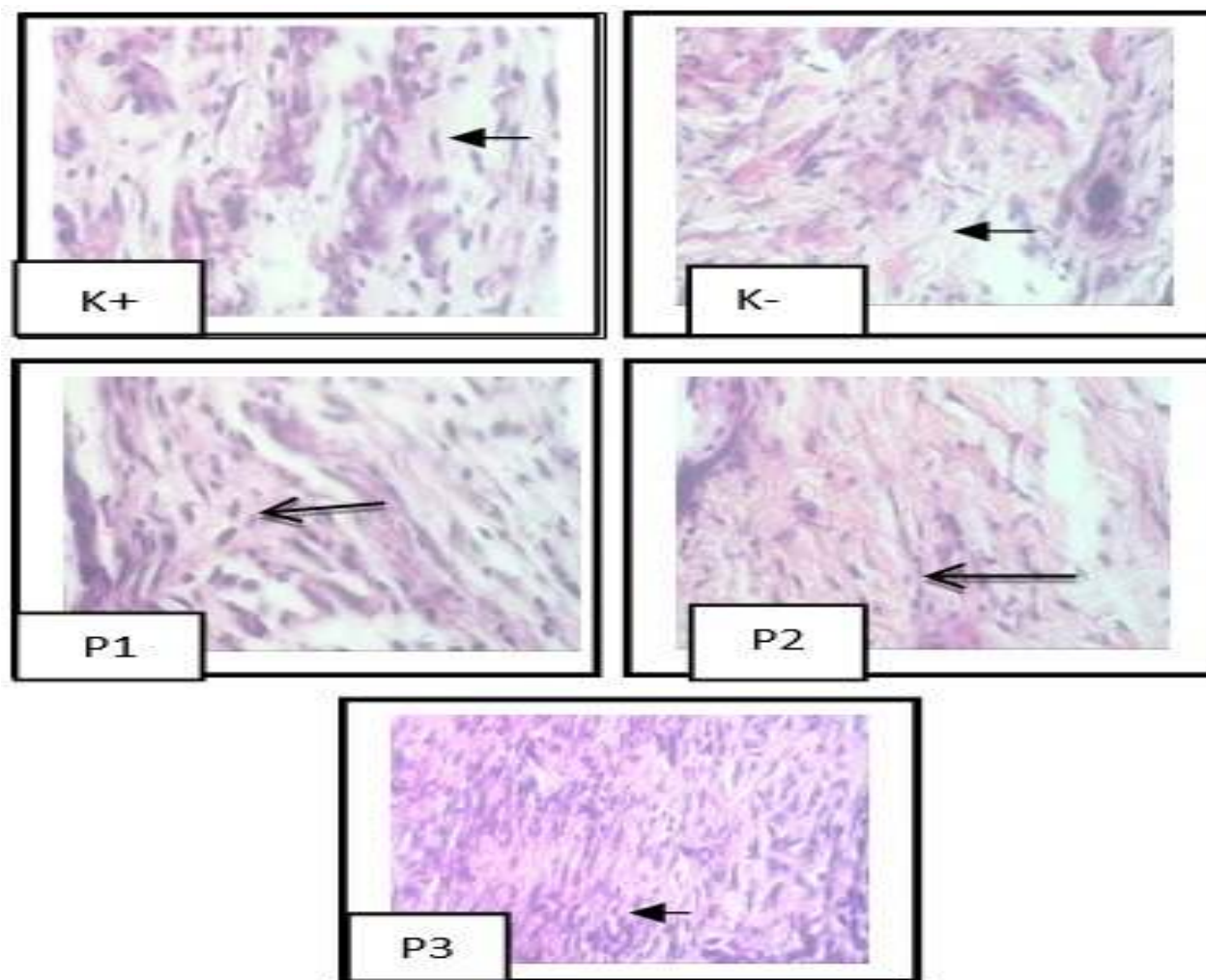
Hasil uji lanjut menggunakan uji Duncan, menunjukkan bahwa pemberian salep ekstrak bunga biduri 15% (P3) berbeda secara nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan perlakuan salep ekstrak bunga biduri 5% (P1), salep ekstrak biduri 10% (P2), kontrol positif (K+) dan kontrol negatif (K-). Perlakuan P1 berbeda secara nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan P2, K+ dan K-. Perlakuan P2 berbeda secara nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan K-, namun tidak berbeda secara nyata ( $P > 0,05$ ) dibandingkan dengan kontrol positif (K+). Hasil ini membuktikan bahwa pemberian salep ekstrak bunga biduri berpengaruh terhadap pengecilan diameter luka. Pemberian salep ekstrak

bunga biduri 15% lebih efektif dibandingkan dengan salep ekstrak bunga biduri 10% dan 5%.

### Hasil Pengamatan Histopatologis

Hasil pengamatan gambaran histopatologis jaringan kulit mencit pada proses penyembuhan luka pada kontrol positif (K+), kontrol negatif (K), perlakuan pemberian salep ekstrak bunga biduri

5% (P1), salep ekstrak bunga biduri 5% (P1) dan salep ekstrak bunga biduri 5 % (P1) yang diamati pada hari ke 14 setelah perlakuan dengan pewarnaan HE dengan pembesaran 400 x dapat dilihat pada Gambar 2.

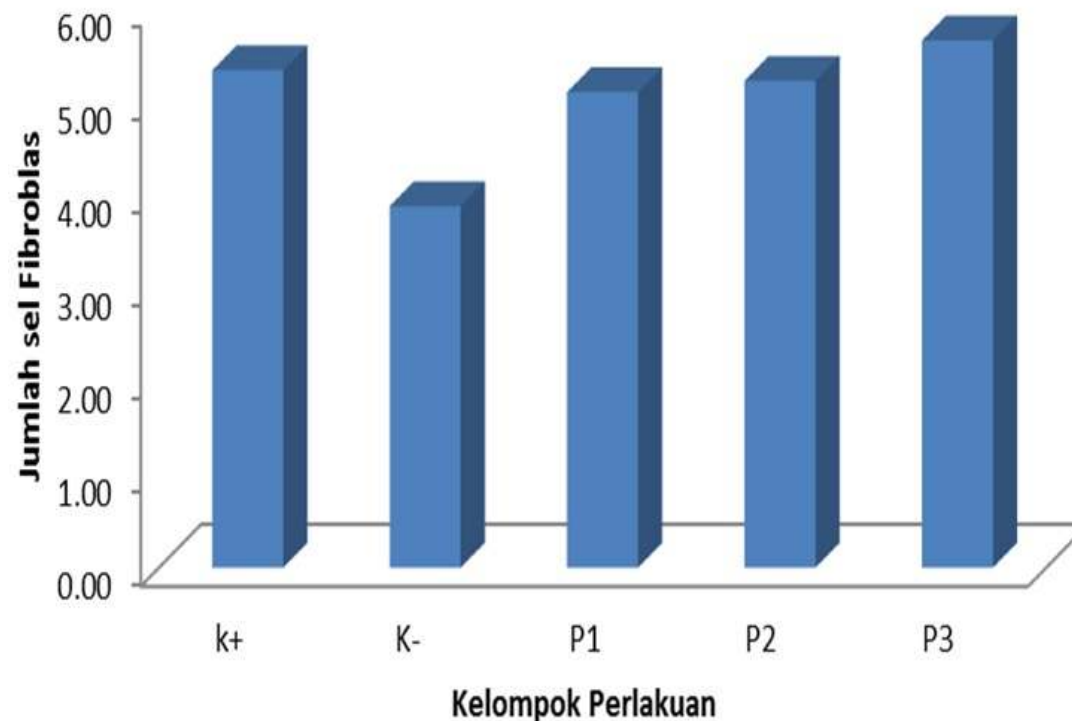


Gambar 2. Fotomikroskopis Histopatologis Kulit Mencit pada Pengamatan Hari Ke 14 Setiap Perlakuan dengan Pewarnaan HE dan Pembesaran 400x (Tanda Panah: Fibroblas).

Berdasarkan fotomikrograf histopatologis diatas terlihat bahwa ada pengaruh pemberian salep ekstrak bunga biduri terhadap perubahan jaringan kulit mencit pada proses penyembuhan luka yang diamati berdasarkan jumlah sel fibroblas. Hasil pengamatan yang dilakukan didasarkan pada jumlah sel fibroblas terdapat variasi tingkat lesi degenerasi maupun kongesti yang ditemukan. Pada kontrol positif yang diberi salep betadin (K+) ditemukan lesi degenerasi dan kongesti pada jaringan luka dalam jumlah yang sedikit. Pada kontrol negatif (K-) ditemukan lebih banyak dibandingkan dengan kontrol positif (K+). Pada pemberian salep ekstrak bunga biduri 5% (P1), ditemukan juga variasi lesi degenerasi dan kongesti. Degenerasi dan kongesti yang ditemukan pada perlakuan salep ekstrak bunga biduri,

menurun seiring dengan peningkatan dosis salep yang diberikan. Pada pemberian salep ekstrak bunga biduri 10% (P2) lesi degenerasi dan kongesti lebih sedikit. Pada pemberian salep ekstrak bunga biduri 15% (P3) degenerasi lebih sedikit. Hal ini mungkin berkaitan dengan peran salep ekstrak bunga biduri dalam memperbaiki kerusakan jaringan pada luka.

Data hasil pengamatan jumlah fibroblas dapat dilihat pada Gambar 4. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa jumlah fibroblast tertinggi terdapat pada perlakuan salep ekstrak bunga biduri 15% (P3) yaitu  $5,66 \pm 0,57$ . Diikuti oleh kontrol positif (K+), perlakuan P2, P1 dan kontrol negatif (K-) secara berturut-turut yaitu  $5,34 \pm 0,97$ ,  $5,22 \pm 0,72$  dan  $3,88 \pm 0,62$ .



Gambar 4. Perbandingan Rerata Jumlah Sel Fibroblas pada Berbagai Perlakuan pada Pengamatan Hari ke 14

Hasil ANAVA satu arah terhadap rata-rata fibroblas menunjukkan nilai yang berbeda, dimana nilai  $F$  hitung  $>$   $F$  tabel. Hasil ANAVA satu arah terhadap jumlah fibroblas dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil ANAVA Satu Arah terhadap Jumlah Fibroblast

Variasi	Db	JK	KT	F Hit	F Tab
Perlakuan	4	11.125	2,78	6.11	2,76*
Galat	25	11.385	0,455		

\*berbeda

Hasil tersebut menunjukkan bahwa perlakuan pemberian salep ekstrak bunga biduri berpengaruh terhadap jumlah fibroblas pada penyembuhan luka. Untuk melihat perlakuan mana yang menunjukkan pengaruh, maka data selanjutnya diuji dengan uji Duncan, yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Uji Duncan

Perlakuan	Rerata jumlah fibroblast $\pm$ SD
K-	3,88 $\pm$ 0,62 <sup>a</sup>
P1	5,10 $\pm$ 0,47 <sup>b</sup>
P2	5,22 $\pm$ 0,72 <sup>b</sup>
K+	5,34 $\pm$ 0,97 <sup>b</sup>

Perlakuan	Rerata jumlah fibroblast $\pm$ SD
P3	5,66 $\pm$ 0,57 <sup>b</sup>

Ket: Superskrip dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata

Hasil uji lanjut menggunakan uji Duncan menunjukkan bahwa pemberian salep ekstrak bunga biduri (P3) berbeda secara nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan kontrol negatif (K-). Namun tidak berbeda secara nyata ( $p > 0,05$ ) dengan perlakuan salep ekstrak bunga biduri 5% (P1), salep ekstrak biduri 10% (P2), kontrol positif (K+). Hasil ini membuktikan bahwa pemberian salep ekstrak bunga biduri berpengaruh terhadap jumlah fibroblast pada penyembuhan luka. Pemberian salep ekstrak bunga biduri 15% lebih efektif dibandingkan dengan salep ekstrak bunga biduri 10% dan 5%.

Penyembuhan luka melibatkan proses dasar biokimia dan seluler. Secara umum, penyembuhan luka dibagi menjadi 3 fase yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase maturasi (remodeling). Pada kenyataannya, fase-fase penyembuhan tersebut saling tumpang tindih dan durasi dari setiap fase serta waktu untuk penyembuhan yang sempurna tergantung pada banyak faktor, diantaranya faktor usia, nutrisi, obat-obatan, infeksi, suplai darah dan adanya benda asing. Selain itu, besarnya ukuran luka, kedalaman luka, lokasi luka dan kondisi fisiologis umum juga mempengaruhi lamanya penyembuhan luka [5].



Fase awal penyembuhan luka yaitu fase inflamasi. Fase ini berawal dari terjadinya luka hingga hari ke 3 sampai hari ke 5. Tanda dimulainya penyembuhan luka secara makroskopis dapat dilihat dari terhentinya pendarahan pada area luka, atau disebut juga fase hemostatis. Pada fase ini luka akan terlihat bengkak dan basah [1].

Kandungan kalotropin yang terdapat pada bunga biduri sangat membantu dalam tahap awal ini. Kalotropin merupakan enzim protease yang menyerupai papain pada pepaya. Kalotropin bersifat prokoagulan yang membantu dalam proses pembekuan darah saat terjadinya luka. Selain itu, kalotropin dapat menghidrolisis jendalan darah (blood clot) sehingga sirkulasi darah pada daerah luka menjadi lancar dan lebih baik yang mengakibatkan suplai nutrisi dan oksigen ke daerah luka menjadi lebih banyak [18].

Bunga biduri mengandung alkaloid yang bersifat anti bakteri yang dapat mengganggu terbentuknya lapisan sel bakteri sehingga pada daerah luka tidak terjadi infeksi. Selain itu alkaloid juga bersifat analgetik dan astringen yang mampu meredakan rasa nyeri pada daerah luka. Bunga biduri juga mengandung flavonoid yang bersifat antiinflamasi dan anti nyeri sehingga dapat mengurangi rasa sakit dan peradangan pada area luka. Kalotropin yang terkandung dalam bunga biduri juga dapat mengurangi inflamasi dengan menetralkan bradikinin dan eukasinoid proinflamasi ke level dimana proses perbaikan dan regenerasi jaringan yang luka dapat dimulai.

Fase selanjutnya yaitu fase proliferasi yang berlangsung dari hari ke 5 sampai hari ke 21. Pada fase ini terjadi aktivitas seluler yang penting dalam memperbaiki dan menyembuhkan luka yang ditandai dengan proliferasi sel. Secara garis besar proses yang terjadi pada fase ini adalah reepitelisasi, fibroplasia, konstruksi luka dan neovaskularisasi atau neokapilerisasi. Fibroblast memiliki peran yang sangat besar dalam proses penyembuhan luka. Fibroblast bertanggung jawab pada persiapan menghasilkan produk struktur protein yang digunakan selama proses rekonstruksi jaringan. Setelah terjadinya luka, fibroblast akan aktif bergerak dari jaringan sekitar luka ke dalam daerah luka kemudian akan berproliferasi dan mengeluarkan beberapa substansi yang berperan dalam membangun jaringan baru seperti kolagen. Pada fase proliferasi

terjadi pembentukan sel dan pembuluh darah baru. Sejumlah sel dan pembuluh darah dalam jaringan baru disebut jaringan granulasi. [19].

Pada hari ke 7 setelah perlukaan, terlihat luka mulai menutup. Menutupnya luka disebabkan oleh terjadinya proses reepitelisasi. Pada kelompok perlakuan pemberian salep ekstrak bunga biduri konsentrasi 15% (P3) diameter luka mulai mengecil pada hari ke 6, lebih cepat dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain. Kecepatan menutupnya luka seiring dengan kecepatan waktu proliferasi sel fibroblast. Luka yang diberi salep ekstrak bunga biduri akan lebih cepat merangsang proliferasi sel fibroblast sehingga jumlah fibroblast pada daerah luka akan lebih banyak dan luka akan cepat menutup. Terbentuknya jaringan granulasi yang sempurna akan menutup permukaan luka.

Adanya kandungan flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid pada getah biduri sehingga dapat mempercepat proses terjadinya reepitelisasi. Tanin yang terdapat pada tanaman biduri memiliki zat astringen yang berperan dalam kontraksi luka dan peningkatan epitelisasi. Saponin dengan cara meningkatkan hydroxyproline, meningkatkan tensile strength, meningkatkan pembentukan kolagen dan epitelisasi yang lebih baik. Alkaloid yang terdapat pada ekstrak bunga biduri juga berperan penting dalam penyembuhan luka dengan merangsang agen sel proliferasi dan memproduksi kolagen [19].

Fase yang terakhir pada proses penyembuhan luka adalah fase maturasi (remodeling). Fase ini dimulai sejak minggu ke 3 setelah perlukaan hingga berahun-tahun lamanya tergantung pada jenis luka. Tujuan dari fase maturasi adalah untuk menyempurnakan terbentuknya jaringan yang baru menjadi jaringan yang kuat. Fibroblast sudah mulai meninggalkan jaringan granulasi, warna kemerahan sudah mulai berkurang dan serat fibrin dari kolagen menjadi bertambah banyak untuk memperkuat jaringan parut [19].

Perlakuan P3 penyembuhannya terlihat lebih baik karena tidak meninggalkan bekas luka. Hal ini dikarenakan semakin banyaknya jaringan ikat pada luka semakin besar kontraksi luka, sehingga luka akan tertarik dan menyebabkan besar luka mengecil. Ini membuktikan bahwa pemberian salep ekstrak bunga biduri 15% lebih meningkatkan pembentukan jaringan ikat kolagen pada luka daripada perlakuan lain.

Ekstrak bunga biduri mengandung senyawa flavonoid yang berperan dalam meningkatkan kelangsungan hidup kolagen, mencegah kerusakan sel, mempromosikan sintesis DNA serta pencegahan infeksi luka. Selain itu, ekstrak bunga biduri juga mengandung senyawa alkaloid yang berperan dalam merangsang agen sel proliferasi

dan memproduksi kolagen serta saponin yang meningkatkan tensile strength dan meningkatkan pembentukan kolagen dan epitelisasi yang lebih baik.

## KESIMPULAN

Kesimpulan dalam penelitian ini diantaranya: (1) Pemberian salep ekstrak bunga biduri konsentrasi berpengaruh terhadap penyembuhan luka secara klinis, yaitu dengan mempercepat waktu mengecilnya luka; dan (2) Pemberian salep ekstrak bunga biduri konsentrasi

berpengaruh terhadap penyembuhan luka secara histopatologi, ditandai dengan meningkatnya jumlah fibroblast.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Morison, M. J. 2004. *Manajemen Luka*. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta
- [2] Thakur, R., Jain, N., Pathak, R., Sandhu, S.S. 2011. Review article: Practice in wound healing studies of plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*; 1-17.
- [3] Cavalcante, G.M., Paula, R.J., Souza, L.P., Sousa, F.B., Mota, M.R., Alves, A.P. 2011. Experimental model of traumatic ulcer in the cheek mucosa of rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*; 26(3):227-234.
- [4] Sari, L. 2006. Pemanfaatan obat tradisional dengan pertimbangan manfaat dan keamanannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*; 3(1):01-07.
- [5] Kumar, S.S., Sivamani, P., Baskaran, C., Mohamed, J.M. 2012. Evaluation of anti microbial activity and phytochemical analysis of organic solvent extracts of *calotropis gigantea*. *IOSR J. of Pharm*; 2(3): 389-394.
- [6] James, et al. 2011. Assessment of Biological Activities: A Comparison of *Pergularia daemia* and *Jatropha curcas* Leaf Extracts. *British Biotechnology Journal*. Vol. 1(3): 85-100.
- [7] Habib & Karim. 2009. Antimicrobial Activity of Di-(2-ethylhexyl) Phthalate and Anhydrosophoradiol-3-acetate Isolated from *Calotropis gigantea* (Linn.) Flower. *Mycobiology*; 37(1): 31-36.
- [8] Habib & Karim. 2012. Antitumor Evaluation of di-(ethylhexyl) Phthalate (DEHP) Isolated from *Calotropis gigantea* L. Flower. *Acta Pharm*; 62: 607-615.
- [9] Babu, S.A.R., & Karki. 2012. Wound healing *Calotropis gigantea* leaves in albino wistar rats. *In. J. Pharm*; 2(1): 195-199.
- [10] Sharma, Y., Jayabalan, Ramandeep, S., Alok, S. 2013. Current Aspects of Wound Healing Agents from Medicinal Plants: A Review. *Journal of Medicinal Plants Studies*. Vol. 1(3):1-11.
- [11] Dhivya & Manimegalai. 2013. Preliminary Phytochemical Screening and GC-MS Profiling of Ethanolic Flower Extract of *Calotropis Gigantea* Linn. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*; 2(3):28-32.
- [12] Ansel, H.C. 2004. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. 4th ed. Jakarta: UI Press.
- [13] Sachdeva, K., Garg, P., Singhal, M., Srivastava, B. 2011. Pharmacological evaluation of *Jatropha curcas* Linn (stem bark) for wound healing potential in rats. *Pharmacologyonline*. Vol: 3:251-264.
- [14] Murugan. 2012. Antimicrobial activity of leaves and latex extract of the herbal plant *Calotropis gigantea* (Erukku in Tamil). *IJBPAS*; 1(3): 261-170.
- [15] Yuhernita, Juniarti, Aryenti. 2014. Pengaruh Pemberian Gel Dari Ekstrak Meanol Daun Jarak Tintir (*Jatropha multifida*) Terhadap Kepadatan Kolagen dan Jumlah Angiogenesis dalam Proses Penyembuhan Luka. *Prosiding Seminar Nasional dan Workshop "Perkembangan Terkini Sains*

Farmasi dan Klinik IV”.

- [16] Lenard, L. & Dean, W., English, J. 2000. Controlling Inflammation with Proteolytic Enzymes. <http://www.allergyresearchgroup.com>. Diakses tanggal 15 Juli 2018.
- [17] Hatz, R.A., Niedner, R., Vanscheidt, W. 2004. Physiology of Wound Healing. Berlin: Springer-Verlag GmbH Co, p: 1-16.
- [18] Eroschenko, V.P. 2003. Atlas Histologi Diflore: Dengan Korelasi Fungsional. Edisi 9. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. p. 7-31;61-65.
- [19] Syarfati, K, Eriani, Damhoeri, A. 2011. The potential of jarak cina (*Jatropha multifida* L.) secretions in healing new-wounded mice. *Jurnal Natural*. 11(1):16-19