

Aktivitas Salep Ekstrak Rimpang Kunyit dalam Proses Persembuhan Luka pada Mencit yang Diinduksi Diabetes

*(THE ACTIVITY OF TURMERIC EXTRACT OINTMENT IN THE WOUND HEALING
PROCESS OF INDUCED DIABETIC MICE)*

Wiwin Winarsih¹⁾, Ietje Wientarsih²⁾, Lina Noviyanti Sutardi ²⁾

¹⁾Bagian Patologi, ²⁾Bagian Farmasi, Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi
Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor
Jln. Agatis Kampus IPB Dramaga Bogor – 16680
Telp/Fax : 0251 8421807, e-mail : pamujib@ymail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas salep ekstrak etanol rimpang kunyit dalam proses persembuhan luka pada mencit yang diinduksi diabetes dengan streptozotocin. Fraksi etil asetat dan hexan dari ekstrak etanol kunyit dibuat sediaan salep dan dikaji efektifitasnya dalam persembuhan luka. Sebanyak 60 ekor mencit dibagi menjadi empat kelompok yaitu kontrol (tidak diinduksi diabetes, tidak diobati), kelompok diabetes (diinduksi diabetes, tidak diobati); kelompok III (diinduksi diabetes, diobati salep fraksi etil asetat) dan kelompok IV (diinduksi diabetes, diobati salep fraksi hexan). Mencit diinduksi diabetes dengan streptozotocin dengan dosis 40 mg/kg secara intraperitoneal (ip). Perlukaan dilakukan pada punggung mencit dengan sayatan sepanjang 2 cm. Salep diberikan secara topikal 2 kali/hari. Tiga mencit dari setiap kelompok dikorbankan nyawanya dan dinekropsi pada hari ke 2, 4, 7, 14 dan 21 hari pascaperlakuan untuk pemeriksaan patologi anatomi dan histopatologi. Secara patologi anatomi kelompok yang diberi salep fraksi etil asetat dan hexan menunjukkan persembuhan yang lebih baik daripada kelompok diabetes. Secara mikroskopis kelompok yang diberi salep fraksi etil asetat dan hexan menunjukkan pembentukan neovaskularisasi dan reepitelisasi yang lebih cepat dibanding kelompok diabetes. Jumlah sel neutrofil pada kelompok yang diberi salep fraksi etil asetat dan hexan lebih sedikit dibandingkan kelompok diabetes, hal tersebut menunjukkan kemampuan antiinflamasi fraksi etil asetat dan hexan. Berdasarkan perubahan makroskopik dan mikroskopik, sediaan salep fraksi etil asetat dan hexan dapat memperbaiki proses persembuhan luka pada mencit diabetes.

Kata-kata kunci : persembuhan luka diabetes, salep ekstrak rimpang kunyit, patologi

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effectiveness of ethanol turmeric extract ointment in wound healing process of streptozotocin-induced diabetic mice. Ethyl acetate and hexane fractions of ethanol turmeric extract were studied for their wound-healing properties in the formulation of ointment. Sixty mice were divided into 4 groups : group I was control (normal control, without treatment); group II was diabetic group (diabetic, without treatment); group III was diabetic and treated with ethyl acetate fraction ointment, group IV was diabetic and treated with hexane fraction ointment. The diabetic groups were i.p injected with 40mg/kg of streptozotocin and all groups were received incision 2 cm on their back skin. The ointments of ethyl acetate and hexane fraction were given topically twice a day. Three mice from each groups were necropsied at 2nd, 4th, 7th, 14th and 21st days post incision (pi) for gross pathological and histopathological evaluation of the injured skin. Gross examination revealed that the ethyl acetate and hexane fraction ointment groups showed better result on wound-healing process compared to the diabetic group. Microscopically, the ethyl acetate and hexane fraction ointment groups showed faster neovascularization and reepithelialization compared to the diabetic group. In comparison with the diabetic group, the ethyl acetate and hexane fraction ointment groups showed fewer neutrophils infiltration which indicated anti inflammatory activities of ethyl acetate and hexane fractions. Based on the macroscopic and microscopic observation, the ointments of ethyl acetate and hexane fraction have properties to promote wound healing in diabetic mice.

Keywords : diabetic wound healing, turmeric extract ointment, pathology

PENDAHULUAN

Diabetes melitus adalah penyakit yang disebabkan oleh gangguan metabolisme karbohidrat dengan salah satu gejala umum adalah hiperglikemia (Mayfield, 1998). Akibat hiperglikemia yang kronis dapat menimbulkan berbagai kerusakan pada organ (Mayfield, 1998; Singh *et al.*, 2005). Pada penderita diabetes, proses persembuhan luka terjadi sangat lambat. Akibat persembuhan luka yang terhambat akan terbentuk luka ulkus terutama pada bagian ekstremitas atau disebut *kaki diabetik* (Singer dan Clark, 1999; Kampfer *et al.*, 2005).

Kulit mempunyai fungsi utama sebagai barier pelindung dari lingkungan (Singer dan Clark, 1999). Luka pada kulit adalah terdapatnya kerusakan morfologi jaringan kulit atau jaringan yang lebih dalam. Persembuhan luka adalah kembali menjadi normal pada integritas kulit dan jaringan yang berada di bawahnya (Singer dan Clark, 1999; Halper *et al.*, 2003). Proses persembuhan luka merupakan suatu proses kompleks yang meliputi proses inflamasi (peradangan), granulasi dan regenerasi sel/jaringan (Singer dan Clark, 1999).

Penggunaan obat pada luka bertujuan untuk mempercepat proses persembuhan. Obat yang digunakan dapat berupa obat modern atau obat alami yang dibuat secara tradisional dari tanaman dan rempah-rempah. Indonesia memiliki 25.000-30.000 jenis tanaman dan sekitar 6.000 di antaranya jenis tanaman tersebut memiliki potensi untuk dijadikan tanaman obat (Kardono *et al.*, 2003).

Kunyit (*Curcuma longa* Linn) telah lama dikenal oleh masyarakat sebagai tanaman yang sangat banyak manfaatnya dan digunakan sebagai obat tradisional. *Curcumin* merupakan bahan terpenting dalam kunyit. Menurut Singh *et al.*, (2002) serta Araujo dan Leon (2001) kunyit berkhasiat sebagai antiradang, obat luka, antioksidan, antiprotozoa, antibakteri, antiviral, antifungi, dan antikanker. Pemberian kunyit dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus yang diinduksi diabetes (Arun dan Nalini, 2002; Hussain, 2002). *Curcumin* dapat mencegah terjadi fibrosis pada jaringan/organ (Chattopadhyay *et al.* 2004). Dalam penelitian ini dikaji potensi salep fraksi etil asetat dan hexan ekstrak etanol rimpang kunyit dalam proses persembuhan luka pada mencit yang diinduksi diabetes.

METODE PENELITIAN

Rimpang Kunyit

Rimpang kunyit yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah kunyit yang dipanen pada umur 9 bulan. Kunyit diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (Balitro) Bogor. Identifikasi tanaman kunyit dilakukan di Herbarium Bogoriensis, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI).

Ekstraksi Rimpang Kunyit

Metode maserasi dengan pelarut etanol 96% digunakan dalam mengekstrak rimpang kunyit. Pelarut etanol 96% ditambahkan pada simplisia kunyit dengan perbandingan 10:1 dan direndam selama 24 jam. Setelah itu dilakukan penampungan filtrat dan dilakukan evaporasi, sehingga dihasilkan ekstrak etanol semi padat.

Fraksi hexan dan etil asetat diperoleh dengan melakukan fraksinasi pada ekstrak etanol. Ekstrak etanol semi solid dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan larutan hexan serta dihomegenisasikan selama 15 menit. Selanjutnya didiamkan sampai terbentuk dua lapisan yaitu fraksi hexan pada bagian atas dan etanol pada bagian bawah. Fraksi hexan dipisahkan dari etanol dan dievaporasi dengan *rotary evaporator*, sehingga diperoleh fraksi hexan kental.

Larutan etil asetat kemudian ditambahkan pada ekstrak etanol dengan perbandingan 1:1 dalam corong pisah. Selanjutnya dikocok selama 15 menit dan didiamkan hingga terbentuk dua lapisan pelarut. Lapisan atas adalah etil asetat, sedangkan lapisan bawah adalah etanol. Fraksi etil asetat kemudian dipisahkan dan dievaporasi, sehingga diperoleh fraksi etil asetat kental.

Induksi Diabetes pada Mencit

Induksi diabetes dilakukan menurut metode Hussain, (2002) dan Srinivanan *et al.*, (2003) yaitu menggunakan streptozotocin (STZ) dengan dosis 40 mg/kg bb secara intraperitoneal. Kemudian dilakukan pemeriksaan kadar glukosa darah setiap dua hari sekali. Mencit dianggap menderita diabetes bila menunjukkan kadar gula darah 200 mg/dl.

Preparasi Sediaan Ekstrak Rimpang Kunyit

Fraksi etil asetat dan fraksi hexan ekstrak etanol rimpang kunyit disajikan dalam bentuk sediaan farmasi salep. Fraksi etil asetat dan hexan masing-masing dengan konsentrasi 10%

dihomogenisasi dengan vaselin kuning menggunakan mortar. Setelah itu disimpan dalam *tube* dan diberi label.

Perlukaan pada Mencit yang Diinduksi Diabetes

Pada penelitian ini digunakan 60 ekor mencit jantan, galur DDY, berumur 2,5 bulan dengan bobot antara 22-25 mg yang dibagi menjadi empat kelompok. Kelompok hewan coba terdiri dari : Kontrol (tidak diinduksi, tidak diobati); kelompok diabetes (II) yaitu diinduksi diabetes, tidak diobati; kelompok etil asetat (III) yaitu diinduksi diabetes dan diberi salep fraksi etil asetat; dan kelompok hexan (IV) yaitu diinduksi diabetes dan diberi salep fraksi hexan. Perlukaan dilakukan pada punggung mencit dengan sayatan sepanjang 2 cm (Halper *et al.* 2003; Chen *et al.* 2005). Sediaan salep fraksi etil asetat dan hexan diberikan secara topikal pada bagian luka dua kali/hari. Pemberian salep fraksi etil asetat dan hexan dilakukan selama 21 hari (Halper *et al.*, 2003)

Pengamatan Patologi Anatomi

Mencit dikorbankan nyawanya (*dieutanasia*) dan dinekropsi pada hari ke 2, 4, 7, 14, dan 21 hari pascaperlakuan (Halper *et al.* 2003). Perubahan patologi anatomi yang diamati adalah merapatnya kulit, keringnya luka, dan keropeng (Winarsih *et al.*, 2010).

Pengamatan Histopatologi

Tiga mencit dari setiap kelompok dinekropsi pada hari ke 2, 4, 7, 14, dan 21 hari pasca perlukaan untuk pemeriksaan histopatologi. Sampel kulit difiksasi dalam larutan buffer normal formalin (BNF) 10%, didehidrasi dengan alkohol berbagai konsentrasi (70%, 80%, 90%, dan alkohol absolut I dan II), *clearing* dengan xylol dan *embedded* dalam parafin. Jaringan dimasukkan ke dalam alat pencetak parafin cair dan dibiarkan sampai parafin mengeras. Jaringan dipotong dengan mikrotom dengan ketebalan lima mikron. Kemudian dilakukan proses rehidrasi dan sediaan diwarnai dengan hematoxilin eosin (HE) dan pewarnaan khusus untuk jaringan ikat kolagen yaitu Masson Trichrome/MT.

Pengamatan histopatologi dengan cara menghitung jumlah sel radang (neutrofil), pembentukan pembuluh darah baru (neovaskularisasi), persentase reepitelisasi, serta persentase luasan jaringan ikat kolagen (Chen *et al.*, 2005; Winarsih *et al.*, 2010). Persentase

reepitelisasi dihitung menggunakan rumus sebagai berikut: panjang luka dengan epitel baru dibagi panjang luka keseluruhan dikalikan 100%. Penghitungan dilakukan pada 10 lapang pandang dengan pembesaran objektif 40 kali kemudian dirata-ratakan.

Analisis Data

Hasil pengamatan patologi anatomis dianalisis secara deskriptif. Pengamatan histopatologi berupa data jumlah sel polimorfonuklear (neutrofil), neovaskularisasi, persentase luasan jaringan ikat kolagen, dan persentase reepitelisasi diuji secara statistika menggunakan uji sidik ragam / Anova yang dilanjutkan dengan uji wilayah berganda Duncan untuk mengetahui hasil yang diperoleh berbeda secara nyata atau tidak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan pada penelitian ini terlihat bahwa pemberian salep fraksi etil asetat dan hexan rimpang kunyit secara topikal dapat memperbaiki proses persembuhan luka bila dibandingkan dengan kelompok diabetes (mencit yang diinduksi diabetes dan tidak diobati). Pada kelompok mencit yang diinduksi diabetes dan diobati salep fraksi etil asetat dan hexan pada hari ke-14 pasca perlukaan, luka sudah tertutup sempurna (Tabel 1). Kelompok diabetes menunjukkan persembuhan yang lebih lambat dibandingkan kelompok lainnya.

Pada pengamatan histopatologi jumlah sel neutrofil pada kelompok salep fraksi etil asetat dan hexan lebih rendah dibandingkan kelompok diabetes (Tabel 2). Pada kelompok salep fraksi etil asetat dan hexan hari ke-2 pasca perlukaan infiltrasi sel radang neutrofil mulai terjadi dan jumlahnya menurun pada hari ke-4 pasca perlukaan. Pembentukan jaringan ikat, pembuluh darah baru dan epitel terjadi pada hari ke-4 pasca perlukaan. Pada hari ke-7 pasca perlukaan, reepitelisasi dan pembentukan folikel rambut mulai terbentuk.

Kelompok diabetes menunjukkan peradangan yang hebat dan berlangsung lama dibandingkan kelompok lainnya (Tabel 2, 3, 4, dan 5). Pada kelompok diabetes hari ke-2 pasca perlukaan infiltrasi sel radang neutrofil mulai terjadi dan jumlahnya terus meningkat sampai pada hari ke-21 pasca perlukaan. Demikian pula jaringan yang mengalami nekrosis meningkat sampai ke bagian dermis kulit. Pembentukan

Tabel 1. Patologi anatomi kulit mencit yang dilukai dan diinduksi diabetes

Kelompok	Perubahan patologi anatomi luka pada hari ke				
	2	4	7	14	21
Kontrol	Panjang luka 1.30 cm, luka basah, merah dan terbuka	Panjang luka 1.10 cm, luka kering dan merah	Luka semakin menutup, panjang luka 0,86 cm	Luka tertutup	Luka tertutup sempurna & ditumbuhi rambut
Diabetes	Luka masih terbuka, basah dan merah Panjang luka 1,5 cm	Luka masih terbuka, basah dan merah Panjang luka 1,35 cm	Luka masih terbuka, basah, merah dan keropeng. Panjang luka 1,25cm	Luka mengering dan keropeng Panjang luka 1,10 cm	Luka mengering dan keropeng Panjang luka 0,98 cm
Salep etil asetat	Luka masih terbuka, basah dan merah Panjang luka 1,20 cm	Luka mulai tertutup & mengering Panjang luka 0,90cm	Luka tertutup Panjang luka 0,80cm	Luka sudah tertutup	Luka tertutup sempurna & ditumbuhi rambut
Salep hexan	Luka masih terbuka, basah dan merah Panjang luka 1,25 cm	Luka mulai tertutup & mengering Panjang luka 1,10 cm	Luka mulai tertutup Panjang luka 0,75 cm	Luka sudah tertutup	Luka tertutup sempurna & ditumbuhi rambut

Tabel 2. Rataan sel neutrofil pada kulit mencit yang diinduksi diabetes

Hari	Kelompok			
	Kontrol	Diabetes	Salep etil asetat	Salep hexan
2	18,78 ± 5,64 ^b	33,65 ± 3,29 ^a	21,67 ± 2,46 ^b	19,67 ± 7,51 ^b
4	9,98 ± 2,20 ^b	34,34 ± 2,24 ^a	8,50 ± 1,19 ^b	7,50 ± 1,42 ^b
7	5,58 ± 2,39 ^b	41,50 ± 3,91 ^a	1,86 ± 1,41 ^b	1,00 ± 0,20 ^b
14	0,00 ± 0,00 ^b	26,00 ± 2,20 ^a	0,00 ± 0,00 ^b	0,00 ± 0,00 ^b
21	0,00 ± 0,00 ^b	36,00 ± 0,82 ^a	0,00 ± 0,00 ^b	0,00 ± 0,00 ^b

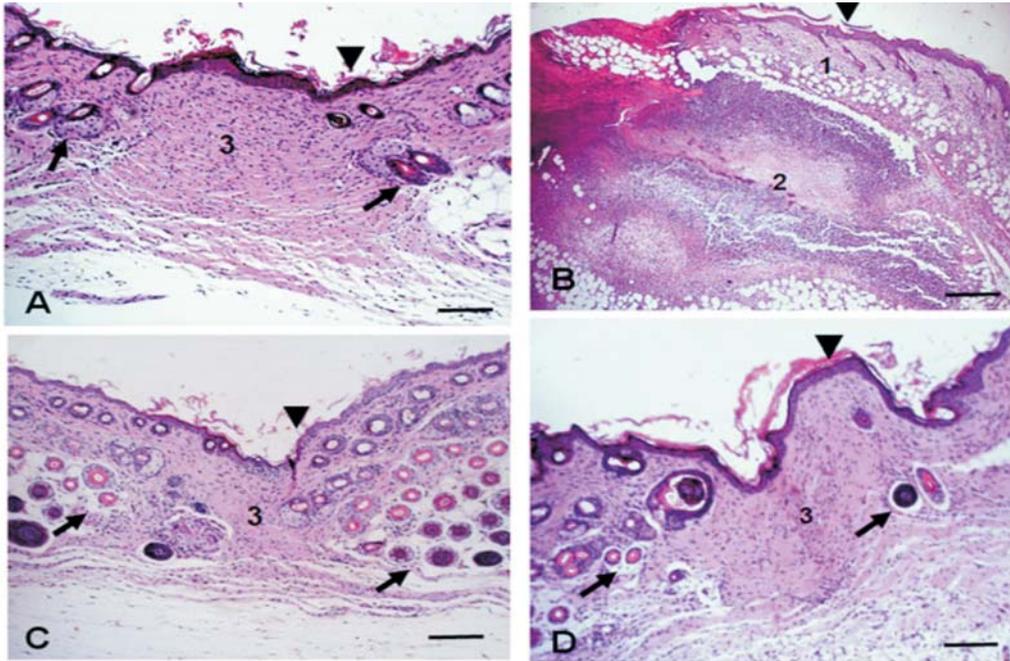
Keterangan: Huruf superscript yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata. ($P > 0.05$)

jaringan ikat baru terlihat pada hari ke-14 pasca perlukaan, sedangkan pembuluh darah baru/neovaskularisasi terjadi pada hari ke-21 pasca perlukaan. Hal tersebut menunjukkan proses peradangan masih terjadi sampai hari ke-21 pasca perlukaan (Gambar 1 dan 2).

Pada penderita diabetes persembuhan luka terhambat akibat banyak faktor antara lain hambatan sirkulasi darah dan oksigen akibat peningkatan kadar gula darah, sehingga terjadi penurunan sintesis kolagen dan fibronectin (Nayak, 2006). Hal ini juga mengakibatkan

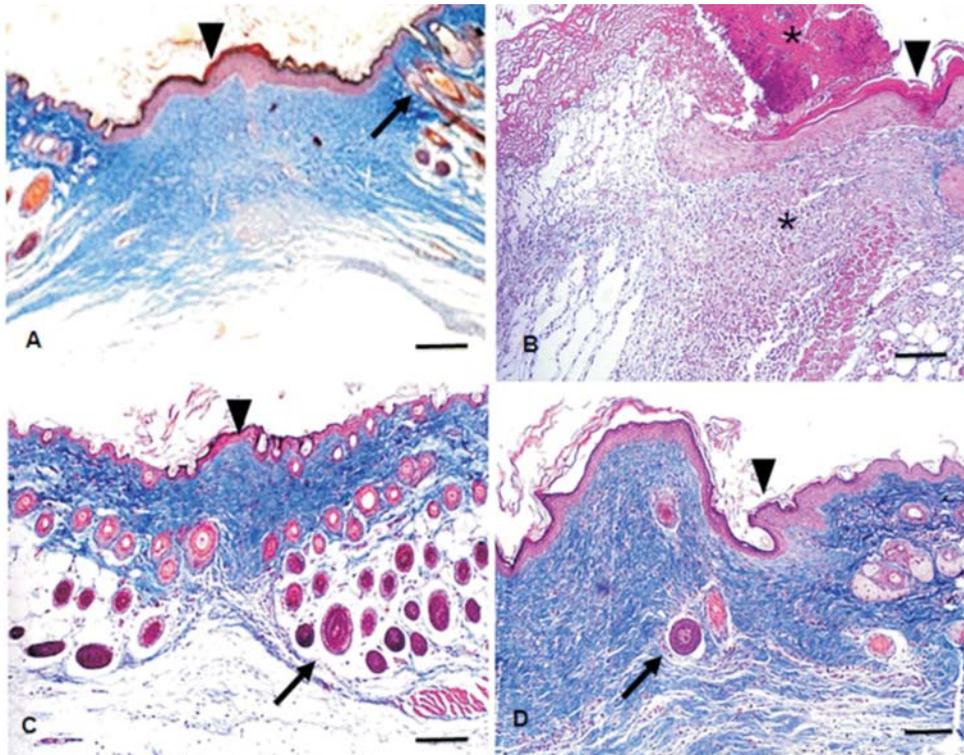
penurunan sistem imun, akibat penurunan fungsi neutrofil yaitu kemampuan migrasi, kemotaksis, aktivitas fagositosis dan bakterisidal.

Proses persembuhan luka pada keadaan normal segera dimulai setelah terjadi perlukaan pada jaringan (Nayak, 2006). Proses persembuhan terdiri dari tiga tahap yaitu inflamasi (peradangan), proliferasi, dan *remodelling*. Proses persembuhan dimulai dengan pembentukan fibrin untuk menutup luka serta infiltrasi sel radang terutama

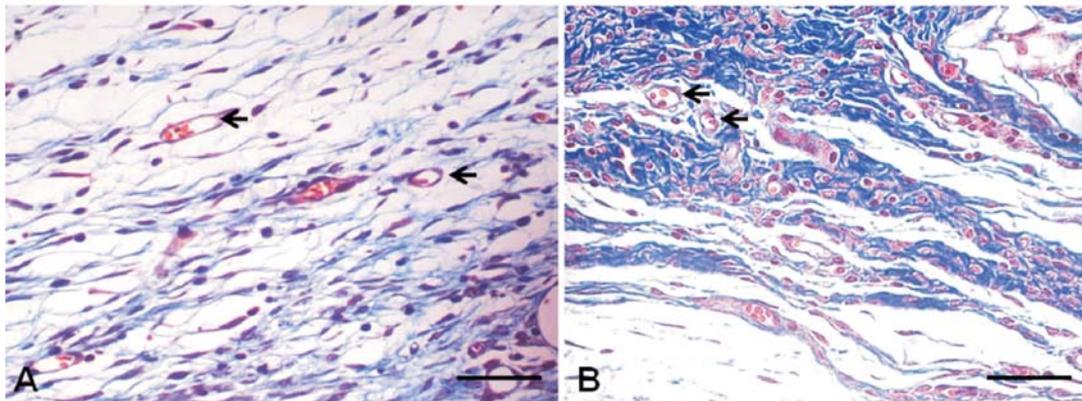


Gambar 1. Kulit mencit, hari 21 pascaperluakaan : Kontrol (A), kelompok diabetes (B), kelompok fraksi etil asetat (C), kelompok fraksi hexan (D) : peradangan pada epidermis (1), peradangan pada dermis (2), jaringan ikat (3), folikel rambut (↗), reepitelisasi (▼), pewarnaan HE, Bar = 200 μm

a



Gambar 2. Kulit mencit, hari 21 pascaperluakaan : Kontrol (A), kelompok diabetes (B), kelompok fraksi etil asetat (C), kelompok fraksi hexan (D) : folikel rambut (↗), reepitelisasi (▼), jaringan nekrotik dan peradangan (*), jaringan ikat kolagen (warna biru), pewarnaan Masson Trichrome, Bar = 200 μm



Gambar 3. Kulit mencit, hari 7 pascaperluakaan : Kontrol (A), kelompok fraksi hexan (B) : neovaskularisasi (↗), pewarnaan Masson Trichrome, Bar = 40µm.

Tabel 3. Rataan neovaskularisasi pada kulit mencit yang diinduksi diabetes

Hari	Kelompok			
	Kontrol	Diabetes	Salep etil asetat	Salep hexan
2	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a
4	0,80±0,66 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	1,00 ± 0,58 ^a	0,33 ± 0,18 ^a
7	8,90±1,35 ^a	0,00 ± 0,00 ^b	7,80 ± 2,73 ^a	10,84 ± 3,12 ^a
14	15,70±3,42 ^a	0,40 ± 0,00 ^b	12,33 ± 2,52 ^a	14,17 ± 2,15 ^a
21	3,20±1,00 ^a	2,17 ± 1,00 ^a	0,83 ± 0,22 ^a	1,20 ± 0,62 ^a

Keterangan: Huruf superscript yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata ($P>0.05$)

neutrofil. Neutrofil, akan membersihkan area luka dari benda asing, sel-sel mati dan bakteri serta mengeluarkan sitokin seperti *Epidermal Growth Factor* (EGF), *Plateled-derived Growth Factor* (PDGF), dan *Transforming Growth Factor beta* (TGF- α) yang mengaktifasi fibroblast lokal dan keratinosit. Infiltrasi neutrofil hanya berlangsung beberapa hari.

Pemberian fraksi etil asetat dan hexan secara topikal pada mencit yang diinduksi diabetes, dapat mempercepat pembentukan pembuluh darah baru/neovaskularisasi (Tabel 3, Gambar 3). Pembentukan pembuluh darah baru sangat mempengaruhi proses persembuhan. Menurut Chen *et al.*, (2005) proses persembuhan luka dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu jaringan yang terlibat, vaskularisasi, infeksi, gizi, umur, suhu dan ukuran jaringan yang rusak. Regenerasi setiap jaringan sangat penting dalam proses persembuhan luka. Neovaskularisasi sangat diperlukan dalam proses persembuhan luka untuk membawa oksigen dan nutrisi yang sangat diperlukan

untuk metabolisme sel dan regenerasi jaringan (Singer dan Clark, 1999). Nayak (2006) melaporkan persembuhan luka tergantung pada sirkulasi darah di daerah yang mengalami luka serta pembentukan dan deposisi kolagen.

Reepitelisasi merupakan salah satu bagian dari proses persembuhan luka yang meliputi beberapa tahapan yaitu migrasi, mitosis, dan diferensiasi sel epitel (Martin, 1997). Semakin cepat proses reepitelisasi terjadi maka semakin cepat pula kulit mencapai kondisi normal. Pada hari ke-2 pasca perlukaan proses reepitelisasi sudah mulai tampak pada kelompok yang diberi salep etil asetat dan hexan (Tabel 4; Gambar 1 dan 2). Hal tersebut sejalan penelitian Sidhu *et al.*, (1998) yang melaporkan bahwa pemberian *curcumin* pada tikus dan marmot dapat mempercepat reepitelisasi dan meningkatkan migrasi sel radang, fibroblas dan myofibroblas pada daerah luka. Menurut Singer dan Clark (1999) reepitelisasi luka dimulai beberapa saat setelah perlukaan. Satu atau dua hari setelah perlukaan, sel-sel epidermal pada tepi luka mulai berproliferasi.

Tabel 4. Rataan persentase reepitelisasi pada mencit yang diinduksi diabetes

Hari	Kelompok			
	Kontrol	Diabetes	Salep etil asetat	Salep hexan
2	34,83 ± 18,67 ^a	0,00 ± 0,00 ^b	28,43 ± 16,28 ^a	33,33 ± 22,42 ^a
4	58,63 ± 33,35 ^a	0,00 ± 0,00 ^b	52,35 ± 38,52 ^a	55,57 ± 50,92 ^a
7	72,80 ± 22,30 ^a	24,32 ± 21,15 ^b	77,80 ± 19,23 ^a	69,56 ± 38,71 ^a
14	86,90 ± 19,33 ^a	32,60 ± 12,30 ^b	91,24 ± 8,90 ^a	88,76 ± 21,40 ^a
21	100,00 ± 0,00 ^a	60,38 ± 8,90 ^b	100,00 ± 0,00 ^a	100,00 ± 0,00 ^a

Keterangan: Huruf superscript yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata ($P > 0.05$)

Tabel 5. Rataan persentase luasan kolagen pada mencit yang diinduksi diabetes

Hari	Kelompok			
	Kontrol	Diabetes	Salep etil asetat	Salep hexan
2	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a
4	20,21 ± 2,10 ^a	0,00 ± 0,00 ^b	18,00 ± 1,80 ^a	21,32 ± 3,46 ^a
7	33,30 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^b	37,23 ± 28,41 ^a	42,57 ± 19,28 ^a
14	89,60 ± 15,33 ^a	23,30 ± 6,70 ^b	78,70 ± 8,40 ^a	72,00 ± 9,20 ^a
21	97,20 ± 12,20 ^a	31,30 ± 8,22 ^b	94,76 ± 38,51 ^a	96,60 ± 19,32 ^a

Keterangan: Huruf superscript yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata ($P > 0.05$)

Pada kelompok salep fraksi etil asetat dan hexan, pembentukan jaringan ikat mulai terjadi pada hari ke-4 pasca perlukaan, sedangkan pada kelompok diabetes jaringan ikat dimulai pada hari ke-14 pasca perlukaan (Tabel 5 dan Gambar 2). Pembentukan jaringan granulasi untuk memperbaiki jaringan yang rusak akibat luka, secara umum dimulai pada hari ke-4 pasca luka (Singer dan Clark, 1999). Proses pembentukan jaringan granulasi dimulai dengan pembentukan kapiler darah baru (neovaskularisasi), infiltrasi sel radang terutama makrofag dan fibroblas (jaringan ikat) pada daerah luka. Sel fibroblas bertanggung jawab terhadap deposisi dan *remodelling* matrix ekstraseluler. Menurut Singer dan Clark (1999) pada tiga minggu awal pembentukan jaringan ikat relatif cepat dan dapat memperkuat jaringan granulasi yang terbentuk. Setelah tiga minggu pembentukan jaringan ikat kolagen menurun. Penambahan curcumin pada uji *in vitro* dapat meningkatkan proliferasi sel myoblas (Joe *et al.*, 2004). Selain itu juga pemberian curcumin dapat meningkatkan pembentukan neovaskularisasi dan deposisi jaringan ikat kolagen pada daerah luka, sehingga proses persembuhan luka berlangsung lebih cepat.

Menurut Kostandova dan Pamula (2005) pemberian curcumin dapat meningkatkan proliferasi sel fibroblas secara *in vitro*. Curcumin juga dapat menekan produksi interleukin-8 (IL-8), sehingga menekan proses peradangan/inflamasi.

Dari pemeriksaan histopatologi terlihat bahwa pada kelompok salep fraksi etil asetat dan hexan proses persembuhan lebih cepat terjadi. Dari uji fitokimia yang dilakukan, fraksi etil asetat mengandung flavonoid dan kuinon. Fraksi hexan mengandung alkaloid, saponin, dan kuinon (Winarsih *et al.*, 2009). Alkaloid mempercepat persembuhan luka dengan meningkatkan *transforming growth factor α1* dan *Epidermal growth factor* (EGF) (Porras-Reyes *et al.* 1993; Dong *et al.* 2005). Flavonoid, alkaloid, tanin, dan triterpenoid diketahui dapat berfungsi sebagai astringensia dan antimikroba, sehingga mengurangi peradangan dan mempercepat proses kontraksi dan reepitelisasi (Nayak dan Pereira. 2006). Sedangkan saponin bersifat sebagai imunostimulator yang menggerakkan tanggapan kebal inang, sehingga mempercepat proses regenerasi dan reepitelisasi (Nayak dan Pereira, 2006; Chokotol dan van Hasselt, 2005).

SIMPULAN

Pemberian salep fraksi etil asetat dan hexan rimpang kunyit dapat mempercepat proses persembuhan luka pada mencit yang diinduksi diabetes. Pemberian fraksi etil asetat dan hexan dapat mengurangi proses peradangan, mempercepat pembentukan pembuluh darah baru (neovaskularisasi), reepitelisasi dan jaringan ikat.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengkaji bentuk sediaan dan dosis efektif fraksi hexan dan etil asetat rimpang kunyit berkaitan dengan potensinya sebagai obat luka diabetes.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dikti yang telah mendanai penelitian ini, staf Bagian Patologi FKH-PB dan semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Araujo CAC, Leon LL. 2001. Biological activities of *Curcuma longa* L. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 96 (5) : 723 – 728
- Arun N, Nalini. 2002. Efficacy of turmeric on blood sugar and polyol pathway in diabetic albino rats. *Biochem Pharmacol* 56 : 1607 – 1614
- Chattopadhyay I, Biswas K, Bandyopadhyay U, Banerjee RK. 2004. Turmeric and curcumin ; biological actions and medicinal applications. *Current Sci* 87 (1) : 44 – 53
- Chen J, Kasper M, Heck T, Nakagawa K, Humpert PM, Bai L, Wu G, Zhang Y Luther, T, Andrassy, M, Sciekofer, S, Hamann, A, Morcos, M, Chen, B, Stern, DM, Nawroth PP, Bierhaus A. 2005. Tissue factor as a link between wounding and tissue repair. *Diabetes* 52 : 2143 – 2154
- Chokotol L, van Hasselt L. 2005. *The use of tannins in the local treatment of burn wounds – a pilot study. Malawi Med J* 17 : 19-20
- Dong Y, He L, Chen F. 2005. Enhancement of wound healing by taspine and its effect on fibroblast. *Zhang Yao Cai* 28 (7) : 579-582 (Abstract)
- Halper J, Leshin LS, Lewis SJ, Li WI. 2003. Wound healing and angiogenic properties of supernatant from *Lactobacillus* cultures. *Exp Biology and Med* 228 : 1329 – 1337
- Hussain HEMA. 2002. Hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant properties of combination of curcumin from *Curcuma longa*, Linn and partially purified product from *Abroma augusta*, Linn in streptozotocin induced diabetes. *Indian J of Clin Biochem* 17 : 33 – 43
- Joe B, Vijaykumar M, Lokesh BR. 2004. Biological Properties of Curcumin-Cellular and Molecular Mechanisms of Action. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 44:97–111
- Kampfer, H., Schmidt, R, Geisslinger, G, Pfeilschifter, J. and Frank, S. 2005. Wound inflammation in diabetic *ob/ob* mice : functional coupling of prostaglandin biosynthesis to cyclooxygenase-1 activity in diabetes-impaired wound healing. *Diabetes* 54 : 1543 – 1551
- Kardono LBS, Artanti, N, Dewiyanti, ID, Basuki, T, Padmawinata, K. 2003. *Selected Indonesian Medical Plant Monograph and Description*. Jakarta. PT Gramedia Widiasarana Indonesia.
- Kostandova N, Pamula, A. 2005. The Effect of Curcumin on Normal Human Fibroblasts and Human Microvascular Endothelial Cells. California State Science Fair (Project Summary)
- Mayfield J. 1998. Diagnosis and classification of diabetes mellitus : new criteria. *American Family Physician* 58 (6) : 1-8
- Martin P. 1997. Wound Healing-Aiming For Perfect Skin Regeneration. *Science Magazine* Vol 276. 4 April 1997[Article]. <http://www.sciencemag.org>. [19 Juni 2007]
- Nayak BS, Pereira LMP. 2006. *Catharanthus roseus* flower extract has wound -healing activity in Sprague Dawley rats. *BMC Complement Altern Med* 2006; 6: 41.
- Nayak S. 2006. Influence of ethanol extract of *Vinca rosea* on wound healing in diabetic rats. *J of Biological Sci* 6 (2) 51-55
- Porras-Reyee BH, Lewis WH, Roman J, Simchowicz L, Mustoe TA. 1993. Enhancement of wound healing by the alkaloid taspine defining mechanism of action. *Proc Soc Exp Biol Med.*:203(1):18-25.

- Singer AJ, Clark RAF. 1999. Cutaneous wound healing. *The New England Journal of Medicine* 341 : 738 – 746
- Sidhu GS, Singh AK, Thaloor D, Banaudha KK, Patnaik GK, Srimal RC, Maheshwari RK. 1998. Enhancement of wound healing by curcumin in animals. *Wound Repair Regen.* 6 (2):167-77
- Singh R, Chandra R, Bose M, Luthra PM. 2002. Antibacterial activity of *Curcuma longa* rhizome on pathogenic bacteria. *Current Sci* 83 :737– 740
- Singh N, Amstrong DG, Lipsky DG. 2005. Preventing foot ulcers in patient with diabetes. *JAMA* 293 (2) : 217 – 228
- Srinivasan A, Menon VP, Periaswamy V, Rajasekaran KN. 2003. Protection of pancreatic b-cell by potential antioxidant bis-o-hydroxycinnamoyl methane, analogue of natural curcuminoid in experimental diabetes. *J Pharm Pharmaceut Sci* 6 : 327 – 333
- Winarsih W, Wientarsih I, Handharyani E. 2009. Kajian aktivitas ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma longa*) dalam proses persembuhan luka pada mencit sebagai model penderita diabetes. Laporan Penelitian Hibah Bersaing XV Perguruan Tinggi. FKH-IPB.
- Winarsih W, Wientarsih I, Handharyani E, Almira RM. 2010. Evaluasi Aktivitas Fraksi Hexan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa*) dalam Persembuhan Luka pada Mencit. *Hemera Zoa* 1 (2) : 37 - 44