

Sinergi Bioaktivitas Daun Tapakdara (*Chatarantus Roseus*) dan Pegagan (*Centella Asiatica*) terhadap Proses Penyembuhan Luka Insisi pada Anjing Kintamani

(*SINERGY BIOACTIVITY OF TAPAKDARA LEAF (CHATARANTUS ROSEUS) AND PEGAGAN LEAF (CENTELLA ASIATICA) TO WOUND HEALING PROCESS ON KINTAMANI DOG*)

Ketut Anom Dada¹, Anak Agung Gde Jayawardhita¹

¹Laboratorium Bedah Veteriner,
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana
Jl.P.B. Sudirman Denpasar Bali, Telp: 0361-223791
e-mail: anomdada@unud.ac.id

ABSTRAK

Obat herbal masih banyak digunakan masyarakat untuk mengobati beberapa penyakit terutama di negara-negara berkembang. Hal ini karena secara budaya mudah diterima dan rendahnya efek samping yang ditimbulkan. Tanaman tapakdara (*Cantharantus roseus*) dan pegagan (*Centella asiatica*) merupakan tanaman obat yang terbukti secara empiris dapat digunakan sebagai obat gangguan pada kulit seperti dermatitis, eksim, jerawat, luka. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi sinergi bioaktivitas ekstrak daun tapakdara dan pegagan dalam proses kesembuhan luka. Hewan coba yang digunakan adalah tikus Wistar sebagai model pengganti anjing kintamani yang dibagi menjadi empat perlakuan yang masing-masing terdiri dari 6 ekor. Masing-masing tikus dibuat luka insisi. Perlakuan I sebagai kontrol normal diberikan salep oxytetrasiklin 3% secara topical sebagai plasebo; Perlakuan II diberikan secara topikal ekstrak daun tapakdara konsentrasi 15% dalam vaselin; Perlakuan III diberikan secara topikal ekstrak daun pegagan konsentrasi 15% dalam vaselin; dan Perlakuan IV merupakan perlakuan kombinasi yang diberikan secara topikal ekstrak daun tapakdara dan pegagan. Sebagai tolak ukur proses penyembuhan luka adalah waktu epitelisasi, angiogenesis, perkembangan kolagen pada jaringan serta ephitelisasi. Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan metode Kruskal Wallis, untuk mengetahui perbedaan yang signifikan diuji dengan Mann-Whitney U test. Hasil penelitian berdasarkan pengamatan secara makroskopis menunjukkan bahwa pemberian salep oxytetrasiklin 3% memberikan kesembuhan paling cepat disusul tapakdara, kombinasi tapakdara dengan pegagan, terakhir pegagan. Tetapi secara mikroskopis pengobatan dengan pemberian kombinasi pegagan dan tapakdara memberikan kesembuhan yang hampir sama dengan oxytetrasiklin 3%. Hal ini menunjukkan kombinasi ekstrak tapakdara dan pegagan dengan konsentrasi 15% dalam vaselin terjadi sinergi dalam proses penyembuhan luka pada tikus Wistar.

Kata kunci: Bioaktivitas; luka insisi; pegagan; penyembuhan; tapakdara

ABSTRACT

Herbal remedies are still widely used by people to treat some diseases especially in developing countries. Culturally, this drug easy to accept and low side effects. The tapakdara (*Cantharantus roseus*) and Pegagan (*Centella asiatica*) are medicinal plants that are proven empirically can be used as medication for skin disorders such as dermatitis, eczema, acne, and wounds. This study aims to evaluate the synergy of bioactivity of tapakdara and pegagan leaf extract

in the wound healing process. The experimental animals to be used are Wistar rats as a substitute model for kintamani dogs, divided into four groups, each consisting of 6 tails. Each rat will be made an incision wound. Group I as a normal control will be given topical oxytetracycline 3% ointment as a placebo; Group II is the treatment to be applied topically 15% tapakdara leaf extract in vaseline; Group III as the treatment to be given topically 15% pegagan leaf extract in vaseline; and Group IV is a combination treatment which will be given topical tapakdara and pegagan leaf extract. As a benchmark the process of wound healing is epithelial time, angiogenesis, development of collagen in tissues and epithelisation. The data analyzed using the Kruskal Wallis method, to determine the significant differences tested with Mann-Whitney U test. The results based on observations by macroscopic showed that giving 3% oxytetracycline ointment provides the quickest recovery followed by tapakdara, a combination of tapakdara with pegagan and the last pegagan. But microscopically the treatment with combination of *Centella asiatica* and tapakdara gives almost the same recovery with 3% oxytetracycline. This indicates that the combination of tapakdara extract and pegagan with 15% concentration in vaseline synergy in wound healing process in Wistar rats.

Keywords: Bioactivity; incision wounds; pegagan; tapakdara; treatment

PENDAHULUAN

Penggunaan obat tradisional baik berupa herbal maupun ekstraknya telah dibuktikan mempunyai khasiat untuk penyembuhan berbagai penyakit. Produk bahan- bahan alami sebenarnya merupakan dasar pembuatan obat-obat modern atau sintesis. Di beberapa belahan dunia seperti India, Cina, termasuk Indonesia penggunaan obat tradisional masih menjadi pilihan, baik untuk menangani penyakit pada manusia maupun hewan (Singh dan Singh, 2001). Salah satu tanaman obat yang secara empiris maupun ilmiah terbukti dapat menyembuhkan berbagai penyakit adalah *Cantharantus roseus* (*C. roseus*). Di Indonesia tanaman ini dikenal dengan nama tapak dara yang biasanya ditanam sebagai tanaman hias. Demikian juga tanaman obat lain yang secara empiris maupun ilmiah terbukti dapat menyembuhkan berbagai penyakit adalah *Centella asiatica* (*C. asiatica*), di Indonesia tanaman ini dikenal dengan sebutan daun pegagan yang umumnya tumbuh sebagai tanaman liar. *Cantharantus roseus* mengandung flavonoid dan triterpenoid yang diketahui sebagai pemicu proses kesembuhan luka karena sifat antimikrobia dan astringen yang dimiliki dapat menyebabkan kontraksi luka dan meningkatkan epithelisasi. Demikian juga daun pegagan yang digerus dan ditambahkan sedikit air dapat digunakan sebagai obat kompres serta obat luka (Scortichini dan Pia Rosi, 1996)

Beberapa penelitian tentang bioaktivitas dari tanaman tapakdara dan daun pegagan telah dilakukan. Nammi *et al.* (2003) telah melakukan penelitian tentang pengaruh pemberian jus segar dari daun tapakdara untuk menurunkan kadar glukosa pada hewan coba penderita diabetes. Hasilnya menunjukkan bahwa jus daun tapakdara bersifat antidiabetik.

Penelitian yang terpisah dilakukan oleh Nayak dan Pereira (2006) tentang kasiat ekstrak bunga tapakdara dalam mempercepat proses penyembuhan luka, namun indikator kesembuhan yang dievaluasi belum sampai mendalam hingga pembentukan epitel dan kolagenasi. Demikian juga penelitian-penelitian tentang khasiat ekstrak daun pegagan hanya melalui indikator makroskopis.

Sampai saat ini belum ada penelitian tentang evaluasi sinergi dari kombinasi dua jenis tanaman yang sama-sama berkhasiat mempercepat kesembuhan luka. Pada penelitian Nayak dan Pereira (2006) sebagai indikator kesembuhan luka hanya mengevaluasi kontraksi luka, berat jaringan granulasi dan efek antimikroba. Sedangkan pada penelitian ini berbagai indikator kesembuhan luka termasuk kolagenasi, pembentukan pembuluh darah baru serta epitelisasi akan diteliti.

Penelitian ini selain mencari bukti ilmiah dari bioaktivitas ekstrak daun tapakdara dan daun pegagan terhadap proses kesembuhan, juga mengevaluasi sinergi bioaktivitas kedua tanaman tersebut terhadap proses kesembuhan luka dalam merangsang angiogenesis dan epitelisasi pada jaringan luka. Secara ilmiah hasil penelitian ini dapat dipakai dasar dalam mempelajari aktivitas tapakdara, pegagan maupun tanaman lain terhadap proses kesembuhan luka. Penelitian ini sangat penting dilakukan untuk mengevaluasi obat-obatan herbal yang digunakan di masyarakat, sehingga dapat direkomendasikan berdasarkan bukti ilmiah yang dapat dipertanggungjawabkan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi sinergi bioaktivitas dari ekstrak daun tapakdara dan pegagan terhadap proses kesembuhan luka pada anjing, dengan tujuan khususnya adalah mengetahui pengaruh kombinasi ekstrak daun tapakdara dan pegagan secara topikal terhadap proses kesembuhan luka, dilihat dari waktu epitelisasi, proses angiogenesis pada jaringan luka dan proses pembentukan kolagen pada luka.

METODE PENELITIAN

Ekstraksi daun Tapakdara dan Pegagan

Daun tanaman tapakdara dan pegagan dikumpulkan kemudian dikeringkan dan digerus sehingga berbentuk serbuk. Masing-masing 50 gram serbuk halus dari daun tersebut ditambahkan 100 ml ethanol dan dibiarkan selama 20 jam dalam suhu kamar. Kemudian disaring dengan kain kasa halus selanjutnya disaring dengan kertas saring

(Whatman No: 1). Filtratnya kemudian ditaruh dalam *waterbath* sampai kering pada suhu 40°C, zat yang tersisa merupakan ekstrak daun tapakdara dan pegagan yang akan digunakan dalam penelitian ini.

Hewan coba dan perlakuan

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus Wistar putih jantan dengan berat 200 – 250 gram sebagai model pengganti anjing kintamani. Tikus dipelihara secara individu dan diadaptasikan selama seminggu, diberikan pakan normal serta air secara *ad libitum*. Hewan coba ditimbang sebelum perlakuan. Selama proses pembuatan luka dilakukan secara steril dan tikus dianestesi dengan ketamin dengan dosis 10 mg/kg. Luka insisi dengan diameter 1 cm dengan kedalaman sampai subkutan dibuat di daerah punggung. Sebelum dibuat luka, kulit di daerah tersebut dilakukan pencukuran.

Hewan coba dibagi menjadi empat perlakuan yang masing masing perlakuan terdiri dari 6 ekor tikus. Keempat perlakuan tersebut adalah: Perlakuan I sebagai kontrol normal yang diberikan salep oxytetrasiklin 3%; Perlakuan II merupakan perlakuan yang diberikan ekstrak daun tapak dara secara topikal dengan konsentrasi 15% dalam vaselin; Perlakuan III merupakan perlakuan yang diberikan ekstrak pegagan secara topikal dengan konsentrasi 15% dalam vaselin; Perlakuan IV merupakan perlakuan yang diberikan kombinasi ekstrak daun tapak dara dan pegagan secara topical dengan konsentrasi 15% dalam vaselin.

Pengobatan secara topical dilakukan dengan mencampur ekstrak tanaman tersebut dengan vaselin kemudian dioleskan pada daerah luka sebanyak dua kali sehari selama 5 hari.

Pembuatan luka pada tikus

Proses pembuatan luka dilakukan secara steril dan tikus dianestesi dengan ketamin dengan dosis 10 mg/kg. Luka insisi dibuat pada punggung dengan diameter 1 cm dengan kedalaman sampai subkutan dengan menggunakan skalpel. Daerah/kulit yang akan dilukai sebelumnya dilakukan pencukuran bulu dan didesinfeksi dengan povidone iodine.

Pemeriksaan luka

Pengamatan luka dilakukan setiap hari sampai hari ke-14 pasca pembuatan luka. Pengamatan luka meliputi adanya tanda-tanda radang antara lain kemerahan, kebengkakan, sensasi nyeri dan keropeng. Waktu yang dibutuhkan sampai tidak dijumpai adanya bekas keropeng dinyatakan sebagai perioda epitelisasi.

Pemeriksaan histologi

Pada hari ke 14 kemudian dilakukan biopsi pada luka. Jaringan biopsi kemudian difiksasi dengan Phosphate Buffer Formalin 10%. Kemudian dilakukan dehidrasi dan diwarnai dengan hematoxylin dan eosin (HE) dan Azan. Jumlah kapiler dihitung pada perparat jaringan yang diwarnai dengan HE, dan kolagen serta epitel pada jaringan yang mengalami granulasi ditentukan dengan skoring, yaitu:

1. Jika jumlah kapiler, kolagen dan epitel sangat sedikit (< 5% dalam jaringan)
2. Jika jumlah kapiler, kolagen dan epitel sedikit (6% - 25%)
3. Jika jumlah kapiler, kolagen dan epitel sedang (26% - 50%)
4. Jika jumlah kapiler, kolagen dan epitel padat (51% - 75%)
5. Jika jumlah kapiler, kolagen dan epitel sangat padat (> 75%)

Analisis Data

Data yang diperoleh kemudian ditabulasi dan dianalisis secara statistik. Data jumlah kapiler, kolagen dan epitel pada jaringan luka yang mengalami kesembuhan di analisis dengan metode Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan Uji Mann Witney bila terdapat perbedaan yang nyata.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan Makroskopis

Sampai dengan hari ke-5 semua perlakuan masih memperlihatkan adanya tanda-tanda radang, pada hari ke-6 tikus dengan perlakuan oxytetrasiklin 3% sudah tidak menunjukkan tanda-tanda radang.

Perlakuan dengan Pegagan dan kombinasi pegagan dan tapak dara sampai dengan hari ke-9 masih tampak kemerahan tetapi kebengkakan dan rasa sakit sudah tidak ada lagi, kesembuhan untuk kedua perlakuan ini mulai terjadi pada hari ke 10. Pada perlakuan dengan tapakdara kesembuhan sudah mulai tampak pada hari ke-8, oxytetrasiklin 3% pada hari ke-6 dan tapakdara pada hari ke-10. Secara makroskopis salep oxytetrasiklin 3% memberi kesembuhan lebih cepat dibandingkan dengan pengobatan dengan salep ekstrak daun pegagan, tapak dara dan kombinasi pegagan dan tapak dara.

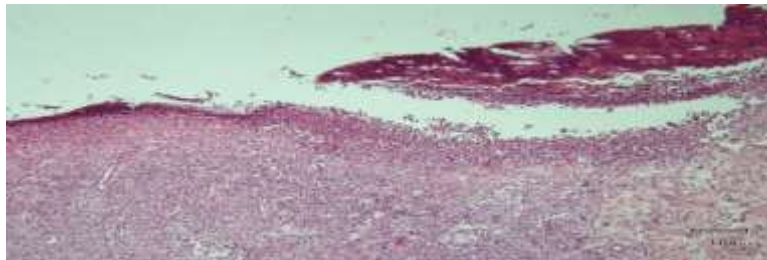
Pengamatan mikroskopis

Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan bahwa keempat perlakuan berpengaruh nyata

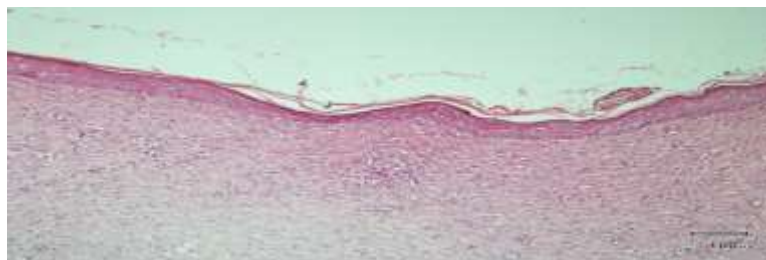
terhadap pembentukan epitel, kolagen dan kapiler. Selanjutnya hasil uji Man Witney menunjukkan hasil sebagai berikut :

Pengobatan dengan pegagan memberikan hasil yang berbeda dengan tapakdara dan oxytetrasiklin 3% tetapi kedua perlakuan ini memberikan hasil yang tidak berbeda dengan kombinasi pegagan dan tapakdara dalam pembentukan epitel. Pengobatan dengan tapakdara memberi pengaruh yang sama dengan kombinasi pegagan dengan tapakdara dan oxytetrasiklin 3% dalam proses epithelisasi.

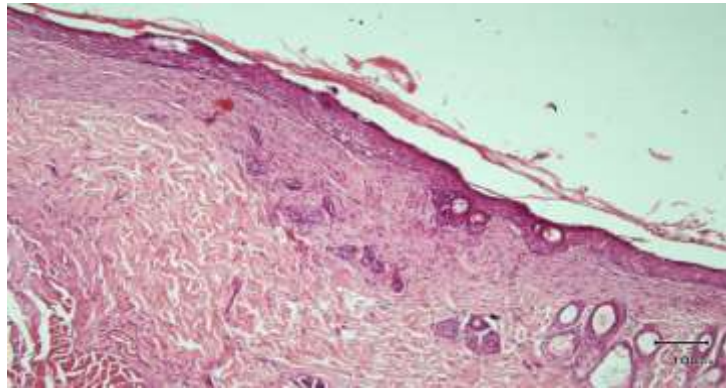
Pada pembentukan kolagen pemberian salep pegagan menunjukkan hasil yang sama dengan tapakdara dan kombinasi tapakdara dengan pegagan dan pemberian oxytetrasiklin 3% menunjukkan hasil yang berbeda dengan ketiga perlakuan. Sedangkan pada pembentukan kapiler pemberian tapakdara dan kombinasi tapakdara dengan pegagan menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata, tapakdara memberikan hasil yang tidak berbeda dengan kombinasi tapakdara dengan pegagan dan pegagan berbeda nyata dibandingkan dengan ketiga perlakuan.



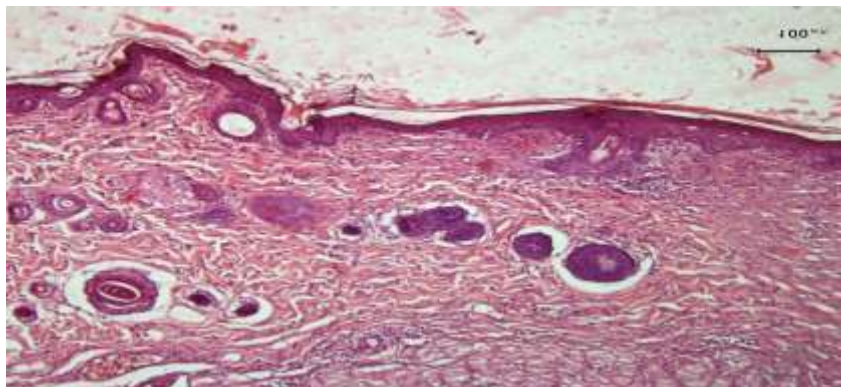
Gambar 1. Gambaran histopatologis luka yang diberi salep pegagan 15% pada hari ke-14; tampak luka masih belum menyatu: epitel, kapiler dan kolagen sangat sedikit



Gambar 2. Gambaran histopatologis luka yang diberi salep tapakdara 15% pada hari ke-14; tampak luka sudah menyatu: epitel, kapiler, dan kolagen dengan jumlah sedang sampai padat



Gambar 3. Gambaran histopatologis luka yang diberi salep kombinasi tapakdara dan pegagan 15% pada hari ke-14; tampak epithel, kapiler dan kolagen terbentuk dalam jumlah yang padat sampai sangat padat



Gambar 4. Gambaran histopatologis luka yang diberi salep oxytetrasiklin 3% pada hari ke-14; tampak epithel, kapiler dan kolagen terbentuk dalam jumlah yang padat sampai sangat padat.

Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi tapakdara dengan pegagan terjadi sinergi dalam mempercepat proses penyembuhan luka, hal ini karena kandungan tapakdara yang terdiri dari tannin, triterpenoid dan alkaloid sedangkan pegagan mengandung glikosida dan juga triterpenoid yang berperan dalam proses penyembuhan luka (Scortichini dan Pia Rosi, 1991; Don, 1999), kombinasi kedua herbal tersebut saling melengkapi sehingga memberikan hasil kesembuhan yang hampir sama dengan salep oxytetrasiklin 3%. Aktivasinya dalam proses penyembuhan luka terjadi akibat sifat antimikroba dan astringen yang dimiliki oleh kandungan tanaman tersebut sehingga dapat menyebabkan kontraksi luka dan meningkatkan epithelisasi (Nayak and Pereira, 2006).

KESIMPULAN

Kombinasi ekstrak daun tapakdara dan pegagan dengan konsentrasi 15% dalam vaselin memberikan hasil kesembuhan luka yang hampir sama dengan salep oxytetrasiklin 3% pada tikus Wistar putih. Kombinasi ekstrak daun tapak dara dan pegagan dengan konsentrasi 15% dalam vaselin dapat direkomendasikan sebagai obat luka pada hewan/anjing kintamani.

DAFTAR PUSTAKA

- Chattopadhyay RR, Sarkar SK, Ganguli S, Banerjee RN, Basu TK. 1991. Hypoglycemic and antihyperglycemic effect of leaves of *Vinca rosea* Linn. *Indian J Physiol Pharmacol* 35: 145-151.
- Cowley RC, Bennett FC. 1928. *Vinca rosea*. *Australation J Pharm* 9:61.
- Don G. 1999. *Catharanthus roseus*. In: Medical plants of The world. Edited by Ross IA. Totowa, New Jersey, *Human Press*; 109-118.
- Gordon SH, Marvin G, Marry RA. 1964. Alkaloids of *Vinca rosea*: A preliminary report on hypoglycemic activity. *Lloydia* 27: 361-63.
- Jaleel CA, Gopi RG, M. Alagulakhsmanan, R. Paneenselvam. 2006. Tridiamefon induced changes in antioxidant metabolism and ajmalicine production, In: *Ctharanthus roseus* G.Don *Plant Science* 171; 271-276.
- Kirtikar KR, Basu BD. 1933. *Vinca rosea*. In: *Indian Medicinal Plants (II ed.) Allahabad, India, Lalit Mohan Basu Publications* 3: 1559.
- Martin P. 1997. Wound healing aiming for perfect skin regeneration. *Science* 276: 75-81.
- Nammi S, MK Boini, SD Lodagala, RBS Behara. 2003. The joice of fresh leaves of *Catharantus roseus* Linn, reduced blood glucose in normal and alloxan diabetic rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 3: 4.
- Natarajan V, Venugopal PV, Menon T. 2003: Effect of azadirachta (neem) on the growth pattern of dermatophytes. *Indian J MedMicrobiol* 21: 98-101.
- Nayak BS, Pereira LMP. 2006. *Catharanthus roseus* flower extract has wound- helaing activity in Sprague Dawley rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 6: 41.
- Nayak BS, Vinutha B, Geetha B, Sudha B. 2006: Experimental evaluation of *Pentas lanceolata* for Wound healing activity in rats. *Fitotherapia* 76: 671-675.
- Pillay PP, Nair CPM, Kumari TNS.1959. *Lochnera rosea* as a potential source of hypotensive and other remedies. *Bull Research Inst Univ Kerala, Ser. A6*, 1:51-4.
- Sastry BN. 1953. The wealth of India. *New Delhi, CSIR, Publication and Information irectorate*: 205.
- Singh A, Singh DK. 2001. Molluscicidal activity of *Lawsonia inermis* and its binary and tertiary combinations with other plant derived molluscicides. *Indian J Exp Biol* 39: 263-268.
- Singh SN, Vats P, Suri S, Shyam R, Kumria MML, Ranganathan S, Sridharan K. 2001. Effect of an antidiabetic extract of *Catharanthus roseus* on enzymic activities in treptozotocin induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 76: 269-77.
- Scortichini M, Pia Rossi M.1991. Preliminary *in vitro* evaluation of the antimicrobial activity

of terpenes and terpenoids towards *Erwinia amylovora* (Burrill). *J Appl Bacteriol*, 71:109-112.

Shivananda Nayak B. 2006. *Cecropia peltata* L (Cecropiaceae) Has Wound Healing potential-A preclinical study in Sprague Dawley Rat model. *International Journal of Lower Extremity Wounds* 5: 20-26.

Tsuchiya H, Sato M, Miyazaki T, Fujiwara S, Tanigaki S, Ohyama M, Tnanka T, Linuma M. 1996. Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Ethnopharmacol* 50: 27-34.