

**Bioaktivitas Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharantus roseus*)
Terhadap Kecepatan Angiogenesis dalam Proses Penyembuhan Luka pada Tikus
Wistar**

MARIANA KRESTY FERDINANDEZ¹, I KETUT ANOM DADA², I MADE
DAMRIYASA³

¹ Laboratorium Bedah, ² Laboratorium Patologi Klinik Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana.
Jl. P.B.Sudirman Denpasar Bali tlp, 0361-223791
Email : drh.mariana@yahoo.com

RINGKASAN

Telah dilakukan penelitian terhadap tikus Wistar untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun tapak dara secara topikal terhadap angiogenesis dalam proses penyembuhan luka. Tapak dara (*Catharantus roseus*) merupakan salah satu obat tradisional, dimana ekstrak dari daun atau bunga digunakan sebagai obat. Ekstrak dari tapak dara mengandung tannin, triterpenoid, dan alkaloid yang berperan dalam penyembuhan luka. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan rancangan *The Randomized Posttest Control Only Group Design*. Penelitian ini menggunakan 32 ekor tikus Wistar jantan yang dilukai bagian punggungnya dengan diameter 1 cm, kemudian dibagi menjadi dua kelompok, masing-masing sebagai kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, dimana kelompok perlakuan adalah kelompok tikus yang diberikan ekstrak daun tapak dara dengan dosis 15% secara topikal sedangkan kelompok tikus kontrol adalah kelompok tikus yang diberikan vaselin (*carboxymethyl cellulose*) secara topikal. Pemeriksaan histopatologi dilakukan pada hari ke-5 dan hari ke-15. Dalam pemeriksaan mikroskopis dilakukan penghitungan jumlah kapiler pada setiap tiga lapang pandang. Setelah dilakukan penelitian, jumlah pembuluh darah pada hari ke-5 tampak lebih banyak pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Tetapi pada hari ke-15, tampak jumlah pembuluh darah pada kelompok perlakuan lebih sedikit daripada kelompok kontrol. Hal ini disebabkan oleh proses kesembuhan yang lebih cepat pada kelompok perlakuan daripada kontrol. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun tapak dara secara topikal dengan dosis 15% terhadap tikus Wistar berpengaruh nyata terhadap angiogenesis pada hari ke-5 ($p < 0,01$). Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh lamanya waktu pemberian ekstrak daun tapak dara dengan menambah lama waktu pengamatan dan jumlah sampel ulangan untuk menentukan dosis optimum ekstrak daun tapak dara yang paling berpengaruh terhadap kecepatan angiogenesis.

Kata Kunci : Daun Tapak Dara, Angiogenesis, Tikus Wistar, Luka

PENDAHULUAN

Luka merupakan keadaan hilang atau rusaknya sebagian jaringan tubuh yang dapat disebabkan oleh trauma benda tajam atau tumpul, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik, atau gigitan serangga (Sjamsuhidajat, 1997). Tubuh yang sehat mempunyai kemampuan alami untuk melindungi dan memulihkan dirinya. Proses kesembuhan luka harus terjadi pada kondisi yang mendukung jaringan tubuh untuk melakukan proses perbaikan dan regenerasi (Taylor, 1997).

Ketika terjadi perlukaan pada jaringan kulit, proses kesembuhan dan regenerasi sel terjadi secara otomatis sebagai respon fisiologis tubuh (Ingold, 1993). Terdapat tiga fase dalam proses kesembuhan luka, yaitu fase inflamatori, fase proliferaatif, dan fase remodeling (Fishman, 2010).

Komponen yang berperan penting dalam proses penyembuhan luka adalah kolagen, angiogenesis dan granulasi. Pembentukan pembuluh darah baru atau angiogenesis merupakan salah satu elemen kunci pada proses penyembuhan luka. Berdasarkan proses kesembuhan luka tersebut, diperlukan terapi efektif yang dapat mengoptimalkan kinerja komponen tersebut (Nugroho, 2005).

Perawatan medis luka termasuk pemberian obat baik lokal atau sistemik adalah usaha untuk membantu memperbaiki luka. Banyak zat seperti ekstrak jaringan, vitamin, dan mineral serta sejumlah produk tanaman telah dilaporkan memiliki efek penyembuhan. Agen penyembuh luka yang berasal dari herbal diketahui mampu melawan infeksi dan mempercepat penyembuhan luka (Udupa *et al*, 1991).

Tapak dara (*Catharanthus roseus*) merupakan salah satu obat tradisional, dimana ekstrak dari daun atau bunga digunakan sebagai obat oleh beberapa masyarakat pedesaan (Nayak, 2006). Ekstrak dari bunga tapak dara mengandung tannin, triterpenoid, dan alkaloid. Salah satu komponen ini berperan dalam penyembuhan luka.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, tumbuhan ini mengandung flavanoid (Nayak, 2006). Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa konstituen fitokimia seperti flavanoid (Tsuchiya *et al*, 1996) dan triterpenoid (Scortichini, 1991) menyebabkan kontraksi luka dan meningkatkan epitelisasi.

Aktivitas penyembuhan luka oleh tumbuhan ini kemungkinan sebagai akibat dari aktivitas antimikroba dan astringen dari komponen kimia tumbuhan tersebut yang menyebabkan kontraksi luka dan meningkatkan epitelisasi.

Beberapa peneliti telah membuktikan bahwa tumbuhan obat seperti *Cecropia pellata* dan *Pentas lanceolata* yang mengandung triterpenoid efektif untuk mempercepat proses penyembuhan luka (Nayak, 2006).

Penelitian ini mengungkap secara ilmiah pengaruh ekstrak daun Tapak dara terhadap angiogenesis dalam kaitannya dengan proses kesembuhan luka.

Dari latar belakang yang telah diuraikan di atas, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut ; Apakah pemberian ekstrak daun tapak dara secara topikal dapat mempengaruhi angiogenesis dalam proses penyembuhan luka pada tikus Wistar?

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun Tapak dara secara topikal terhadap angiogenesis penyembuhan luka pada tikus Wistar.

Hasil penelitian dapat memberikan informasi mengenai pengaruh pemberian ekstrak daun tapak dara terhadap proses penyembuhan luka. sehingga diharapkan dapat digunakan sebagai acuan penelitian lebih lanjut mengenai manfaat-manfaat lain dari pemberian ekstrak daun tapak dara. Selain itu, dengan adanya penelitian ini didapatkan obat alternatif berupa ekstrak daun tapak dara untuk mempercepat proses penyembuhan luka.

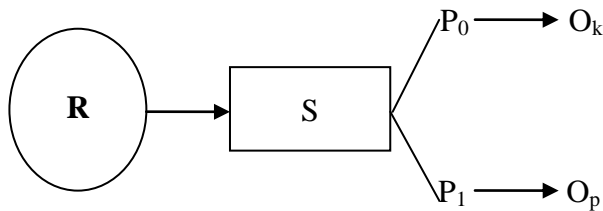
METODE PENELITIAN

MATERI

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah methanol 90%, *Phosphate Buffer Formalin* 10%, ketamil *injection*, Vaseline (*carboxymethyl cellulose*), dan ekstrak daun tapak dara yang didapatkan melalui teknik maserasi. Bahan lainnya adalah tikus Wistar jantan berumur dua bulan dengan berat badan 200-250 gram yang didapatkan dari Balai Besar Veteriner (BBV) Regional VI Denpasar.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah timbangan elektrik, spuit 1 cc, pinset, scalpel, gunting bedah, kan master, blender, toples kaca, mikroskop, mikrotom, kertas saring 227 p, serta rotapavor.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan rancangan *The Randomized Posttest Control Only Group Design* dengan menggunakan hewan percobaan sebagai obyek penelitian, dengan bagan sebagai berikut.



Gambar 3.1 Bagan Rancangan Untuk Mengetahui Kemampuan Ekstrak Daun Tapak

Keterangan :

R = Randomisasi

S = Sampel

Po = Kelompok kontrol

P1 = Kelompok perlakuan pemberian secara topikal ekstrak daun tapak dara

OK = Observasi kontrol

OP = Observasi perlakuan

METODE

Variabel dalam penelitian ini dikelompokkan menjadi empat kelompok yaitu variabel bebas adalah ekstrak daun tapak dara, variabel antara adalah homeostatis dan inflamasi, variabel bergantung adalah angiogenesis, dan variabel kendali adalah spesies, jenis kelamin, umur, berat badan, model luka, suhu, kelembaban dan pakan.

Sampel penelitian adalah tikus Wistar jantan yang dipilih dengan teknik *random sampling* dari keseluruhan tikus yang ditetapkan sebagai populasi terjangkau, setelah memenuhi kriteria yaitu tikus Wistar jantan berumur dua bulan, berat badan 200-250 gram yang didapatkan dari Balai besar Veteriner Denpasar.

Sampel diambil dengan teknik acak sederhana (*simple random sampling*) dengan menggunakan bilangan random yang selanjutnya dikelompokkan dalam masing-masing kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan.

Penelitian ini dilakukan di *Central Study of Animal Disease* (CSAD) Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana Bali. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2011.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan mikroskopik preparat histopatologi berdasarkan bentukan pembuluh darah (angiogenesis) diperoleh hasil seperti tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Mikroskopis Jumlah Angiogenesis per 3 Lapang Pandang Kelompok Tikus Perlakuan dan Kontrol

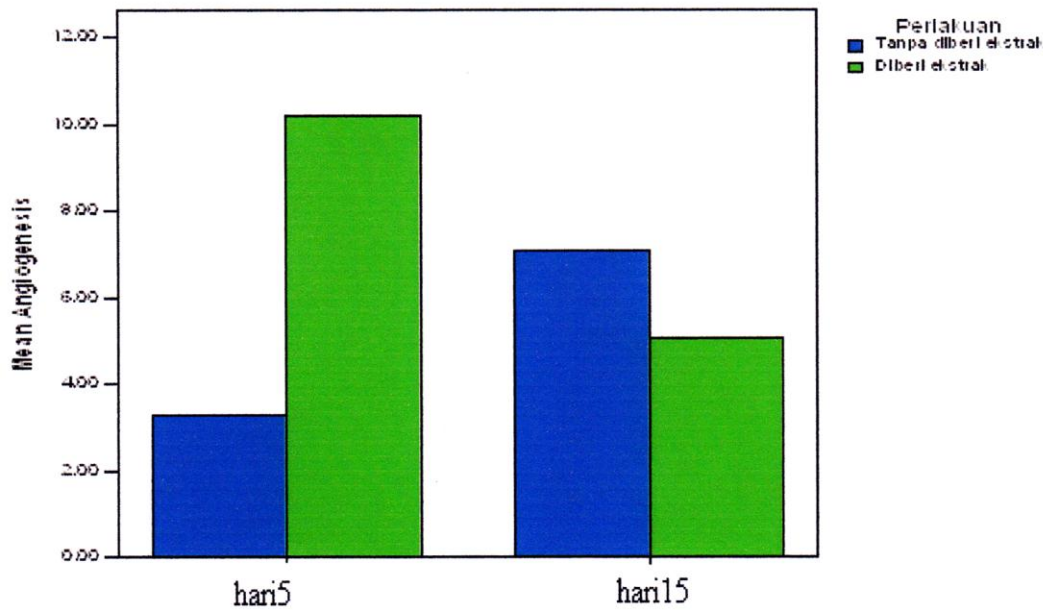
Hari	Kelompok Tikus Kontrol	Kelompok Tikus Perlakuan
Hari ke-5	3,25 ± 1,53	10,19 ± 2,83**
Hari ke-15	7,06 ± 4,92	5,06 ± 3,06

** p < 0,01

Dari data yang disajikan dalam Tabel 1 diketahui bahwa pada hari ke-5 pasca pemberian ekstrak daun tapak dara secara topikal dengan dosis 15 %, terlihat perbedaan yang sangat signifikan ($p < 0.01$) jumlah pembuluh darah antara kelompok tikus kontrol dan kelompok tikus perlakuan. Dari data yang disajikan pada Tabel 1, bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada hari ke-5 ($p < 0,01$).

Dalam Tabel 1 diketahui bahwa pada hari ke-15 pasca pemberian ekstrak daun tapak dara secara topikal dengan dosis 15%, tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) pada jumlah pembuluh darah antara kelompok tikus kontrol dan kelompok tikus perlakuan. Hal ini dibuktikan dengan analisa statistik dengan menggunakan uji T tidak berpasangan seperti ditunjukkan pada Tabel 1.

Profil pembentukan pembuluh darah pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada hari ke-5 dan hari ke-15 dapat digambarkan dalam bentuk grafik seperti tersaji pada Gambar 1.

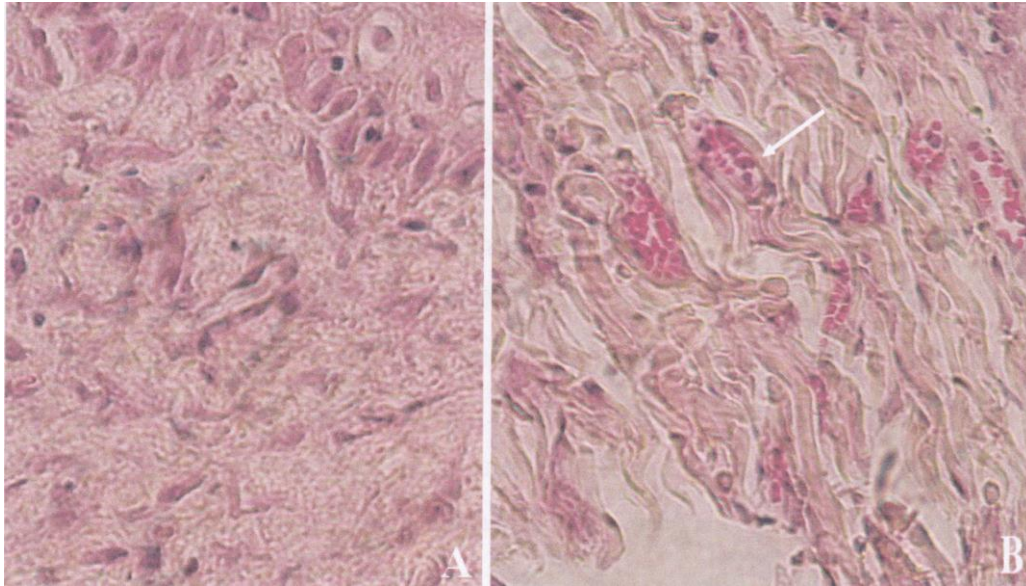


Gambar 1. Profil Pembentukan Pembuluh Darah (Angiogenesis) Kelompok Kontrol dan Perlakuan.

Seperti tersaji dalam Gambar 1 diatas, jumlah pembuluh darah pada hari ke-5 tampak lebih banyak pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun tapak dara (grafik batang berwarna hijau) daripada kelompok kontrol (grafik batang berwarna biru).

Tetapi dapat dilihat pada hari ke-15, tampak jumlah pembuluh darah pada kelompok perlakuan lebih sedikit daripada kelompok kontrol. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh proses kesembuhan yang lebih cepat pada kelompok perlakuan daripada kontrol.

Jumlah pembuluh darah pada hari kelima tampak lebih banyak pada tikus perlakuan dibandingkan dengan tikus kontrol. Tetapi pada hari kelima belas pada tikus perlakuan jumlah pembuluh darah lebih sedikit dari pada tikus kontrol. Perbedaan jumlah pembuluh darah antara tikus kontrol dan tikus perlakuan secara histopatologis tersaji pada Gambar 2



Gambar 2 Gambaran Histopatologi Pembentukan Pembuluh Darah (A) Tikus kontrol, pembentukan pembuluh darah tidak banyak; (B) Tikus perlakuan, tampak pembuluh darah baru (f).

Dari Gambar 1 terlihat ada perbedaan adanya pembuluh darah (angiogenesis), dimana pada kelompok perlakuan (P_1) lebih banyak terdapat pembuluh darah dari pada kontrol (P_0) pada hari ke-5. Sebaliknya pada hari ke-15 pembuluh darah lebih banyak pada kelompok kontrol dari pada kelompok perlakuan.

Penelitian ini menggunakan 32 ekor tikus Wistar jantan berumur dua bulan dengan berat badan 200-250 gram yang dilukai bagian punggungnya dengan diameter luka sebesar 1 cm, kemudian dibagi menjadi dua kelompok, masing-masing sebagai kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, dimana kelompok perlakuan adalah kelompok tikus yang diberikan ekstrak daun tapak dara dengan dosis 15% secara topikal sedangkan kelompok tikus kontrol adalah kelompok tikus yang diberikan vaselin secara topikal.

Ketika terjadi perlukaan pada jaringan kulit, proses kesembuhan dan regenerasi sel terjadi secara otomatis sebagai respon fisiologis tubuh (Ingold, 1993). Terdapat tiga fase dalam proses kesembuhan luka, yaitu fase inflamatori, fase proliferaatif, dan fase remodeling (Fishman, 2010). Komponen yang berperan penting dalam proses penyembuhan luka adalah kolagen, angiogenesis dan granulasi. Pembentukan pembuluh darah baru atau angiogenesis merupakan salah satu elemen kunci pada proses penyembuhan luka.

Fase Proliferatif adalah fase kedua dari proses kesembuhan luka. dimana proses ini berlangsung pada hari ke-5 hingga hari ke-20. Pada fase ini fibroblast membentuk kolagen dan jaringan ikat. Pada saat ini juga terjadi pembentukan kapiler baru yang dimulai saat terjadi peradangan. Tanda-tanda yang dapat diamati dengan jelas adalah terjadi warna merah (*velvety*) dan adanya jaringan granulasi. Proses ini menandakan terjadinya kesembuhan yang dimulai dari adanya pertumbuhan kapiler dan pertumbuhan jaringan granula yang dimulai dari dasar luka.

Dari hasil pengamatan mikroskopis preparat histopatologi berdasarkan bentukan pembuluh darah (angiogenesis), memberikan hasil seperti tersaji pada Tabel 1. Data tabel tersebut menunjukkan bahwa angiogenesis untuk kelompok perlakuan pada hari ke-5 lebih banyak secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol yaitu $10,19 \pm 2,83$ pembuluh darah dibandingkan dengan jumlah rata-rata angiogenesis kelompok kontrol yaitu $3,25 \pm 1,53$ pembuluh darah ($p < 0,01$). Hal ini kemungkinan disebabkan oleh zat aktif yang terkandung dalam ekstrak daun tapak dara yang mempercepat proses pembentukan pembuluh darah terhadap jaringan luka tikus. Ekstrak dari tumbuhan tapak dara mengandung tannin, triterpenoid, dan alkaloid. Salah satu komponen ini berperan dalam penyembuhan luka. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, tumbuhan ini mengandung flavanoid (Nayak, 2006). Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa konstituen fitokimia seperti flavanoid (Tsuchiya *et al*, 1996) dan triterpenoid (Scortichini,1991) menyebabkan kontraksi luka dan meningkatkan epitelisasi.

Aktivitas penyembuhan luka oleh tumbuhan ini kemungkinan sebagai akibat dari aktivitas antimikroba dan astringen dari komponen kimia tumbuhan tersebut yang menyebabkan kontraksi luka dan meningkatkan epitelisasi. Beberapa peneliti telah membuktikan bahwa tumbuhan obat seperti *Cecropia pellata* dan *Pentas lanceolata* yang mengandung triterpenoid efektif untuk mempercepat proses penyembuhan luka (Nayak, 2006).

Tetapi, pada penelitian ini ditemukan bahwa angiogenesis di hari ke-15 untuk kelompok perlakuan ternyata lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol, yaitu $5,06 \pm 3,06$ pembuluh darah dibandingkan dengan jumlah rata-rata angiogenesis kelompok kontrol yaitu $7,06 \pm 4,92$ pembuluh darah, secara berurutan.

Setelah dilakukan analisa statistik menggunakan Uji T, data angiogenesis pada kelompok perlakuan dan kontrol di hari ke-15 ini ternyata secara statistik tidak berbeda secara bermakna, ditunjukkan dengan nilai $p > 0,05$ (Tabel 4.1). Hal ini disebabkan karena pada kelompok perlakuan memberikan proses kesembuhan luka yang lebih cepat dibandingkan dengan kelompok kontrol, sehingga pada kelompok perlakuan tidak terbentuk pembuluh darah baru lagi.

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak daun tapak dara dengan dosis 15% secara topikal dapat mempercepat peningkatan angiogenesis pada jaringan luka tikus.

Setelah dilakukan penelitian didapatkan hasil yaitu ekstrak daun tapak dara yang dicampur vaselin dengan dosis 15% dapat mempercepat peningkatan angiogenesis pada jaringan luka tikus pada hari ke-5 pasca pemberian ekstrak daun Tapak Dara, dimana setelah dilakukan analisa data statistik memberikan hasil seperti tersaji pada Tabel 1. Data tabel tersebut menunjukkan bahwa angiogenesis untuk kelompok perlakuan pada hari ke-5 lebih banyak secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol yaitu 10,19 pembuluh darah dibandingkan dengan jumlah rata-rata angiogenesis kelompok kontrol yaitu 3,25 pembuluh darah, secara berurutan dengan nilai $p < 0,01$.

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan bahwa hipotesis diterima.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun tapak dara secara topikal dengan dosis 15% terhadap tikus Wistar berpengaruh terhadap kecepatan angiogenesis. Pengaruh pemberian ekstrak daun tapak dara secara topikal dengan dosis 15% terhadap tikus Wistar berpengaruh nyata pada hari ke-5 ($p < 0,01$).

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh lamanya waktu pemberian ekstrak daun tapak dara dengan menambah lama waktu pengamatan dan jumlah sampel ulangan untuk analisis data hasil penelitian sehingga dapat dilakukan penentuan dosis optimum ekstrak daun tapak dara yang paling berpengaruh terhadap kecepatan angiogenesis.

DAFTAR PUSTAKA

- Fishman, TD. 2010. *Phases Of Wound Healing*. Website: <http://www.medicaledu.com/phases.htm>. Tanggal Akses: 02 Maret 2011.
- Ingold, W. 1993. *Wound Therapy:Growth Agents As Factor to Promotes Wound Healing. Trends Biotechnol 11, 387-392.*
- Nayak, BS ; Lexley MPP. 2006. *Catharanthus roseus flower extract has wound healing activity in Sprague Dawley rats*. BMC Complementary and Alternative Medicine. Vol 6. Article 41.
- Nayak, BS. 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.
- Nugroho, TS. 2005. *Pengaruh Infiltrasi Levobupivakain 0,25 % Terhadap kuantitas Angiogenesis Tikus Wistar Pada Proses Penyembuhan Luka Insisi Hari Ke-5*. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Schortchini, M, Pia Rossi M. 2006. *Preliminary in vitro evaluation of the antimicrobial activity of terpenes and terpenoids towards Erwinia amylovora (Burril)*. 1991. Journal Appl Bacteriol. 71 : 109-112.
- Sjamsuhidajat, R, Wim de Jong. 1997. *Buku Ajar Ilmu Bedah*. EGC. Jakarta.
- Taylor, J, Johnson CD. 1997. (eds): *Recent advances in surgery*. Churchill Livingstone. Edinburgh.

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

Udupa, SL ; Shaila, HP; Udupa, AL; Ramesh, KV ; Kulkarni, DR. 1991. Biochem Arch, 7:2.