

Aktivitas Penyembuhan Luka oleh Gel Fraksi Etil Asetat Rimpang Kunyit pada Mencit Hiperglikemik

(WOUND HEALING ACTIVITY OF AETHYL ACETATE OF CURCUMA LONGA GEL IN HYPERGLYCEMIC MICE)

Ietje Wientarsih¹, Wiwin Winarsih¹, Lina Noviyanti Sutardi¹

Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi, FKH-IPB,
Kampus Darmaga, Bogor 16680. Telepon 0251-8623940
Corresponding E-mail: wien_tje@yahoo.com

ABSTRAK

Masyarakat Indonesia banyak menggunakan tanaman obat dalam pengobatan tradisional. Tanaman tersebut digunakan untuk mengobati diabetes, luka, dan sebagai antiinflamasi. Salah satu tanaman yang paling banyak digunakan adalah *Curcuma longa*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek penyembuhan luka gel fraksi etil asetat *Curcuma longa* pada mencit hiperglikemik. Penelitian menggunakan tiga puluh ekor mencit yang dibagi dalam tiga kelompok yaitu KP sebagai kontrol positif (Neomisin sulfat), kelompok terapi (GE=gel etil asetat), dan KN (kontrol negatif) tanpa pemberian terapi. Kelompok terapi (GE) memberikan efek yang signifikan dibandingkan dengan Kontrol Negatif (KN) dalam proses penyembuhan luka. Hal ini berarti gel fraksi etil asetat *Curcuma longa* sangat potensial bila digunakan sebagai produk fitokimia dalam proses penyembuhan luka.

Kata kunci: *C. longa*, gel, luka, hiperglikemik

ABSTRACT

Traditional remedies generally use plant based therapies for treatments. The availability of plant for treatments is relatively abundant in Indonesia, whether as treatments for diabetic wounds or anti inflammation. *Curcuma longa* Linn has been reported as an alternative treatment for several diseases including wound healing. The aim of this study was to investigate the possible effect on wound healing of ethyl acetate of *C.longa* gel in skin hyperglycemic mice. The ethyl acetate of *C.longa* gel was evaluated to assess its healing efficiency on excision wound. Thirty mice were used in this study. The mice were divided into three groups i.e.: KN as a negative control (without treatment), KP as a positive control (Neomycin sulfate), and treated groups (GE= ethyl acetate gel). There was a significant effect on histopathological characteristics in wound healing of treated mice with ethyl acetate gel compared with KN mice. It seem that *C.longa* gel is a potential for phyto-therapeutic agent in management of wound healing.

Keywords: *C. longa*, gel, wound, hyperglycemic

PENDAHULUAN

Tanaman merupakan salah satu sumber bahan baku dalam sistem pengobatan tradisional maupun modern. Lebih dari 60% produk farmasi berasal dari tanaman (Jain *et al.*, 2007). Kunyit atau *Curcuma longa* Linn (sinonim *Curcuma domestica* Val) dari famili zingiberaceae adalah tanaman obat yang penting di Indonesia. Kunyit digunakan dalam berbagai bidang seperti kesehatan, kuliner, dan kosmetik. Pada

pengobatan tradisional, kunyit digunakan sebagai antiinflamasi, antiseptik, antiiritansia, anoreksia, luka diabetik, dan gangguan hati (Jain *et al.*, 2007; Chattopadhyay *et al.*, 2004). Menurut Nwozo (2009) pemberian ekstrak kunyit dapat menurunkan kadar gula darah pada kelinci yang diinduksi aloksan. Pada suatu studi, dibuktikan ekstrak rimpang kunyit, mempunyai aktivitas antialergi terutama pada fraksi etil asetat (Yano 1996; 2000). Selain itu kunyit mempunyai aktivitas antibakteri yang

signifikan pada *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* (Jain *et al.* 2007). Pemberian kunyit juga diakui sebagai terapi yang tepat dalam penyembuhan luka. Menurut Pandya 1995; Jain *et al.*, 2007 pemberian secara topikal serbuk kunyit dan ekstrak kunyit efektif dalam menyembuhkan luka pada mencit yang diinduksi *streptozotocin* (STZ). Pada penelitian Winarsih *et al.* (2007) diketahui ekstrak rimpang kunyit dapat memperbaiki proses penyembuhan luka. Fraksi etil asetat dan n-heksan rimpang kunyit mempunyai pengaruh yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi air.

Berdasarkan studi yang telah dilakukan mengenai evaluasi keamanan dari kunyit dan kurkumin diketahui bahwa pada dosis di bawah 100mg/kg BB tidak menimbulkan efek toksik, oleh karena itu kunyit dan kurkumin sangat potensial dikembangkan dalam pengobatan modern untuk terapi berbagai penyakit (Chattopadhyay *et al.*, 2004). Salah satunya adalah penggunaan kunyit secara topikal pada penyakit kaki diabetik karena hiperglikemia kronik.

Hiperglikemia kronik seperti pada kasus diabetes melitus sering menyebabkan terjadinya komplikasi sekunder seperti pada pembuluh darah, ginjal, saraf, gangguan penglihatan dan infeksi. Kerusakan pembuluh darah dapat menyebabkan aliran darah menurun sehingga terjadi kerusakan saraf pada kaki. Hal tersebut dapat meningkatkan kemungkinan terjadinya ulkus pada kaki (kaki diabetik) (Scobie., 2007).

Penyakit kaki diabetik merupakan komplikasi kronik yang terjadi pada hampir 15% dari semua pasien diabetes. Faktor yang berhubungan dengan kesembuhan pasien membutuhkan biaya yang besar. Beberapa penelitian melaporkan bahwa 6–43% pasien dengan kaki diabetik pada akhirnya akan diamputasi. Faktor utama yang menyebabkan ulkus pada kaki adalah terjadinya neuropati. Faktor tersebut akan lebih parah kalau terkena infeksi bakteri seperti *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus pyogenes*, spesies *Bacteroides* (Scobie., 2007). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh gel etil asetat rimpang kunyit pada mencit hiperglikemik dan stabilitas sediaan gel berdasarkan sifat fisik (bau, warna), viskositas, dan nilai pH.

METODE PENELITIAN

Ekstraksi simplisia rimpang kunyit dilakukan dengan metode maserasi selama 72 jam dengan pelarut etanol 96%. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan 50 rpm sampai diperoleh ekstrak kental. Setelah itu dihitung randemennya. Ekstrak etanol dipartisi dengan n-heksan, lapisan n-heksan dipekatkan. Lapisan air kemudian dipartisi dengan etil asetat, lapisan etil asetat dipekatkan sehingga diperoleh fraksi etil asetat rimpang kunyit. Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa yang termasuk dalam metabolit sekunder antara lain: alkaloid, flavonoid, polifenol, kuinon, dan saponin.

Formula sediaan gel dibuat menurut Herdiana (2007) dengan komposisi sebagai berikut: Karbopol sebagai basis gel, trietanolamin sebagai pengatur pH, metil paraben dan propil paraben sebagai pengawet, propilen glikol sebagai humektan dan kosolven, air suling, fraksi n heksan rimpang kunyit sebagai zat aktif. Evaluasi sediaan dilakukan dengan mengamati karakteristik fisika yang meliputi: organoleptik (warna, bau, kejernihan, konsistensi), pH, viskositas. Pengukuran dilakukan untuk masing-masing sediaan pada hari ke 1, 3, 5, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, dan 56.

Pada uji keamanan digunakan metode *patch test*. Pengujian dilakukan terhadap 10 orang relawan. Apabila relawan tidak mengalami iritasi kulit setelah pemakaian gel maka diasumsikan sediaan gel aman digunakan.

Induksi hiperglikemia pada hewan coba menggunakan *Streptozotocin* (Eshrat dan Hussain, 2002), sebelum diinduksi hewan coba dipuaskan semalam, kemudian disuntik dengan STZ secara intraperitoneal (ip). Hewan coba diinjeksi STZ dengan dosis 40 mg/kg BB (Kim *et al.*, 2006; Murundar *et al.*, 2007), kemudian secara interval dilakukan pemeriksaan kadar glukosa darah setiap mencit, untuk mengetahui keberhasilan induksi hiperglikemia. Hewan coba yang digunakan adalah yang mempunyai kadar gula darah 200mg/dl.

Pada penelitian ini digunakan 30 ekor mencit yang dibagi menjadi tiga kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor mencit. Kelompok hewan coba terdiri dari: kelompok KN yaitu kontrol negatif (tidak

diobati), kelompok KP yaitu kontrol positif (obat luka komersial Neomycin sulfat 5%), kelompok GE (sediaan gel fraksi etil asetat).

Perlukaan dilakukan pada punggung mencit dengan membuat sayatan sepanjang 1,5 cm (Halper *et al.* 2003; Chen *et al.* 2005). Sediaan gel fraksi etil asetat rimpang kunyit diberikan secara topikal yaitu dengan cara mengoleskannya pada bagian luka mencit dua kali setiap hari. Pemberian sediaan gel fraksi etil asetat secara topikal pada luka dilakukan dari hari ke 1 sampai hari ke 21 (Halper *et al.* 2003). Sebagai pembanding digunakan kelompok Kontrol Negatif (KN) dan kelompok Kontrol Positif (KP).

Pengamatan histopatologi menggunakan metode Chen *et al.*, 2005 dan Winarsih *et al.*, 2007. Peubah yang diamati adalah jumlah sel radang, dan pembentukan jaringan kolagen.

ANALISIS DATA

Data yang didapat diuji secara statistika menggunakan sidik ragam yang dilanjutkan dengan uji Duncan untuk melihat ada tidaknya perbedaan yang nyata ($P < 0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil determinasi diketahui rimpang kunyit yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari tanaman *Curcuma longa* Linn. Hasil ekstraksi serbuk rimpang kunyit dengan pelarut etanol 96% berupa ekstrak kental berwarna coklat dan berbau khas. Hasil fraksinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dengan pelarut n-heksan dan etil asetat berupa ekstrak kental berwarna coklat dan berbau khas.

Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak dan Fraksi rimpang kunyit

Hasil penapisan fitokimia menunjukkan fraksi etil asetat rimpang kunyit mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, kuinon, dan polifenol. Hasil pengamatan perubahan stabilitas gel secara organoleptis yang meliputi konsistensi, warna, dan bau dari masing-masing formula gel pada penyimpanan selama 56 hari pada suhu 40°C dan 25°C, diketahui bahwa gel tanpa ataupun dengan penambahan rimpang kunyit tidak mengalami perubahan konsistensi, warna maupun bau selama penyimpanan. Hasil pengamatan tersebut menunjukkan bahwa semua sediaan gel yang dibuat, stabil secara fisik. Pada suhu penyimpanan 25°C pH gel tidak mengalami perubahan sedangkan pada suhu 40°C pH gel mengalami penurunan nilai pH. Perubahan pH gel pada suhu 40°C juga dipengaruhi oleh lama penyimpanan dan kemungkinan disebabkan terjadinya hidrolisis senyawa pada ekstrak rimpang kunyit. Secara umum nilai pH gel selama penyimpanan adalah antara 6-8. Nilai tersebut masih sesuai dengan persyaratan pH gel untuk kulit yaitu antara 5-10 (Jones 2008). Secara umum viskositas dari semua formula gel mengalami penurunan.

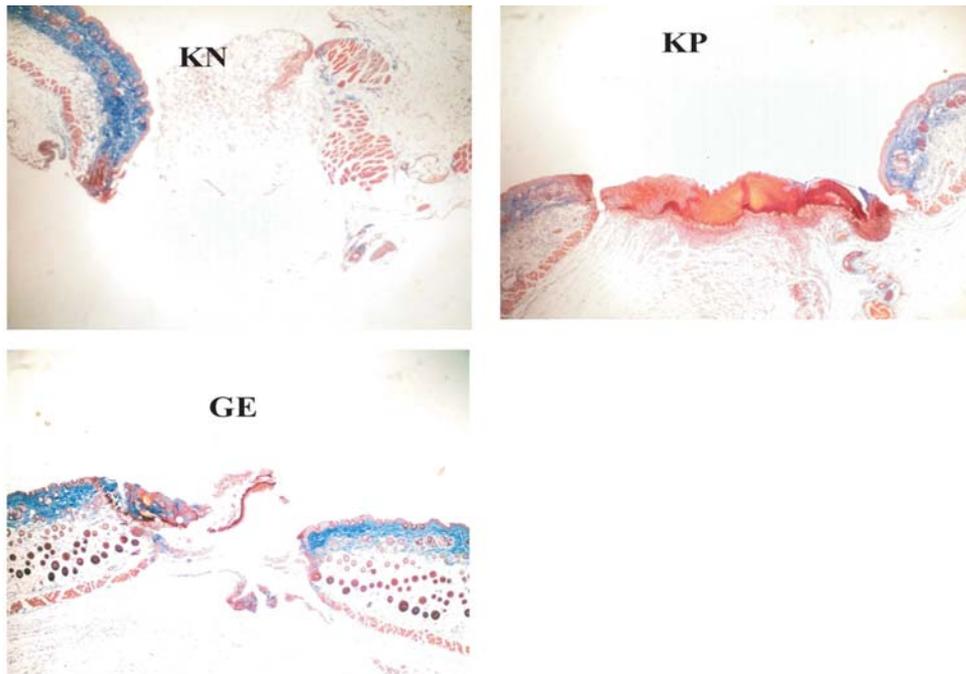
Pada uji keamanan digunakan metode *patch test*. Pengujian dilakukan terhadap 10 orang relawan. Gel yang diuji adalah gel fraksi etil asetat rimpang kunyit. Relawan tidak mengalami iritasi kulit setelah pemakaian gel, dari hasil pengujian dapat disimpulkan bahwa gel rimpang kunyit aman digunakan.

Parameter yang diamati pada pemeriksaan histopatologi adalah jumlah sel-sel radang (neutrofil dan makrofag) dengan preparat yang digunakan adalah preparat yang telah diwarnai dengan pewarna *Hematoxylin-Eosin*, kepadatan jaringan ikat (fibroblas) preparat yang

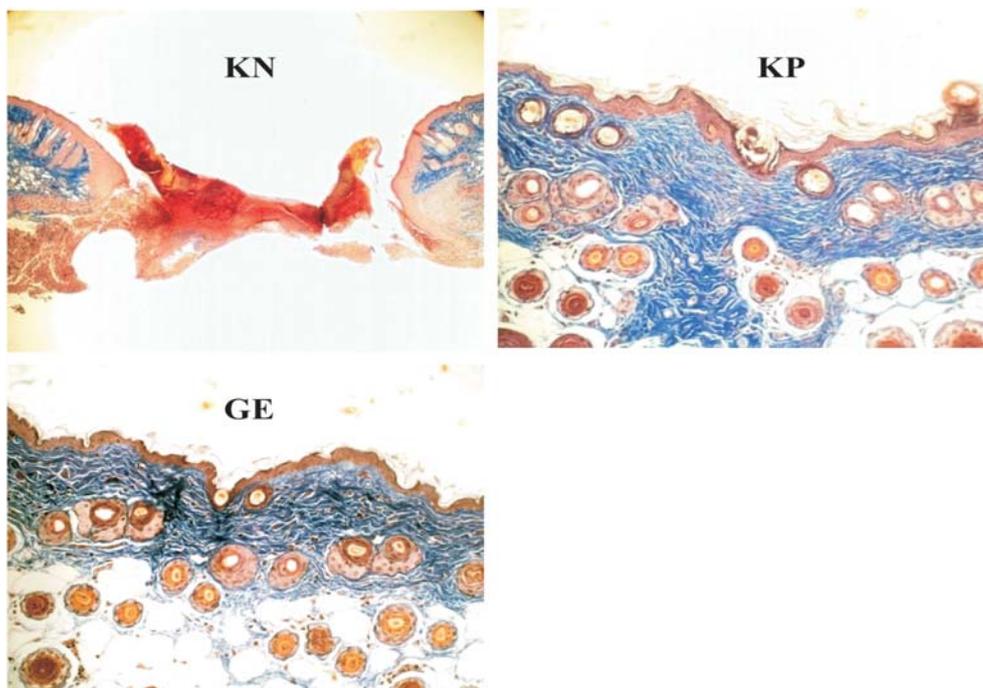
Tabel 1. Rataan Jumlah Sel Radang Neutrofil pada Pemeriksaan Mikroskopis Jaringan Kulit

Hari ke	Kelompok		
	Gel Etil asetat	Kontrol Positif	Kontrol Negatif
2	10,4±6,19 ^{Aa}	31,2 ±122,46 ^{Aa}	93,6 ±31,20 ^{Ba}
4	7,4 ±3,65 ^{Aab}	35,4 ±33,94 ^{Aab}	63,8 ±30,49 ^{Bab}
7	4,6 ±1,52 ^{Aab}	0,8 ±1,23 ^{Aab}	62,4 ±22,68 ^{Bab}
14	1,4 ±0,55 ^{Ab}	4,8 ±2,38 ^{Ab}	14,2 ±9,52 ^{Bb}
21	2,4 ±1,14 ^{Ab}	1 ±0,86 ^{Ab}	1,2 ±2,99 ^{Bb}

Keterangan: *Huruf yang sama pada kolom yang sama menyatakan tidak berbeda nyata $P < 0,05$ (huruf kecil)
 *Huruf yang sama pada baris yang sama menyatakan tidak berbeda nyata $P < 0,05$ (huruf besar)



Gambar 1 Perbandingan re-epitelisasi dan ketebalan jaringan ikat organ kulit pada hari ke 2 pasca perlukaan. Pada kelompok KP (Kontrol Positif), GE (Gel fraksi etil asetat), dan GH (Gel n-heksan) re-epitelisasi dan jaringan ikat mulai terbentuk, sedangkan pada kelompok KN (Kontrol Negatif) re-epitelisasi dan jaringan ikat belum terbentuk. (MT, obyektif 20X)



Gambar 2 Perbandingan re-epitelisasi dan ketebalan jaringan ikat organ kulit pada hari ke 21 pasca perlukaan. Pada kelompok KP (Kontrol Positif), GE (Gel fraksi etil asetat), dan GH (Gel n-heksan) re-epitelisasi 100%, jaringan ikat padat dan kompak (100%), sedangkan pada kelompok KN (Kontrol Negatif) re-epitelisasi 92% dan jaringan ikat belum terbentuk sempurna (45%). (MT, obyektif 20X)

Tabel 2. Rataan Persentase Luas Jaringan Kolagen pada Pemeriksaan Mikroskopis

Hari ke	Kelompok		
	Gel Etil Asetat	Kontrol Positif	Kontrol Negatif
2	5 ±0,00 ^{ABa}	13 ±0,11 ^{ABa}	0 ^{Ba}
4	5 ±0,00 ^{ABa}	10 ±0,00 ^{ABa}	8 ±0,04 ^{Ba}
7	5 ±0 ^{ABb}	28 ±0,04 ^{ABb}	23 ±0,04 ^{Bb}
14	88 ±0,18 ^{ABbc}	65 ±0,21 ^{ABbc}	40 ±0,14 ^{Bbc}
21	100 ±0 ^{ABc}	100 ±0 ^{ABc}	45 ±0,07 ^{ABc}

Keterangan: *Huruf yang sama pada kolom yang sama menyatakan tidak berbeda nyata $P < 0,05$ (huruf kecil)
 *Huruf yang sama pada baris yang sama menyatakan tidak berbeda nyata $P < 0,05$ (huruf besar)

digunakan adalah preparat yang telah diwarnai dengan pewarnaan *Masson Trichrome*.

Neutrofil merupakan sel radang pertama yang dilepaskan segera setelah terjadi luka. Neutrofil memberikan respons imun dengan menghasilkan enzim proteolitik untuk mencerna partikel asing dan membunuh bakteri melalui proses fagositosis dan produksi hidrogen peroksida. Neutrofil akan mengalami apoptosis setelah 24 sampai 48 jam dan digantikan dengan makrofag (Stroncek dan Reichert, 2008).

Berdasarkan Tabel 1 diketahui bahwa terdapat perbedaan pengaruh perlakuan pada setiap kelompok terhadap jumlah neutrofil. kelompok Kontrol Negatif (KN) menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok lain. Hasil pengamatan jumlah neutrofil pada kelompok Gel Etil Asetat (GE), dan Kontrol Positif (KP) tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Pasca perlakuan jumlah neutrofil tinggi, hal ini disebabkan adanya infeksi pada luka terbuka diikuti dengan reaksi peradangan. Jumlah neutrofil pada kelompok Kontrol Negatif paling tinggi karena hanya diberikan sediaan plasebo.

Reepitelisasi dan Luas Jaringan Kolagen

Hasil pengamatan jumlah reepitelisasi dan luas jaringan kolagen dapat dilihat pada Tabel 2, Gambar 1, dan Gambar 2.

Berdasarkan Tabel 2 diketahui bahwa terdapat perbedaan pengaruh perlakuan pada setiap kelompok terhadap luas jaringan kolagen. kelompok Kontrol Negatif (KN) menunjukkan hasil yang berbeda dibandingkan dengan kelompok lain. Hasil pengamatan luas jaringan kolagen pada kelompok GE, dan KP tidak memiliki perbedaan.

Pada Gambar 1 menunjukkan bahwa pada kelompok GE (Gel Fraksi Etil Asetat) dan KP (Kontrol Positif) reepitelisasi dan jaringan ikat mulai terbentuk pada hari kedua pasca perlukaan. Re-epitelisasi mencapai 100%, jaringan ikat padat dan kompak (100%) pada kedua kelompok ini terjadi pada hari ke 21 pasca perlukaan (Gambar 2). Sedangkan kelompok KN (Kontrol Negatif) reepitelisasi hanya mencapai 92% dan jaringan ikat tidak terbentuk sempurna pada hari ke 21 pasca perlukaan (Gambar 2).

Berdasarkan data tersebut dapat diketahui pemberian gel fraksi etil asetat dapat mempercepat proses penyembuhan luka pada mencit hiperglikemik yang diinduksi STZ. Hal tersebut terjadi karena pemberian gel fraksi etil asetat dapat mengurangi proses peradangan (antiinflamasi), dapat mempercepat pembentukan pembuluh darah baru (neovaskularisasi), re-epitelisasi, dan jaringan ikat. Fraksi etil asetat menunjukkan pengaruh pada proses penyembuhan luka. Hal ini mungkin berhubungan dengan senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam fraksi etil asetat. Hasil penapisan fitokimia fraksi etil asetat mengandung flavonoid, kuinon, polifenol. Salah satu senyawa polifenol pada rimpang kunyit adalah kurkumin (Andersen dan Markham 2006). Kurkumin mempunyai aktivitas antiinflamasi dengan menghambat enzim cyclooxygenase-2 (COX-2) dan lipoxigenase (LOX) yang merupakan enzim penting dalam proses inflamasi. Kurkumin mempercepat re-epitelisasi, proliferasi sel, dan sintesis kolagen (Tangapazham *et al.* 2007). Senyawa kuinon bersifat antibakteri.

SIMPULAN

Gel fraksi etil asetat rimpang kunyit memiliki aktivitas dalam proses penyembuhan luka karena dapat mengurangi proses peradangan (antiinflamasi), dapat mempercepat re-epitelisasi, dan jaringan ikat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada LPPM IPB dan Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional, yang telah membiayai melalui Penelitian Hibah Bersaing Tahun Anggaran 2008/2009.

DAFTAR PUSTAKA

- Andersen OM, Markham KR. 2006. *Flavonoids Chemistry, Biochemistry, and Applications*. New York: CRC Press
- 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, Heck M, Nakagawa K, Humpert PM, Bai L, Wu G, Zhang Y, Luther T, Andrassy M, Shicekofer S, Hamann A, Morcos, Chain B, Ster MD, Naworth P, Bierhaus A. 2005. Tissue factor as a link between wounding and tissue repair. *Diabetes* 52: 2143-2154
- Eshrat H, Hussain MA. 2002. Hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant properties of combination of curcuma from *Curcuma longa* Linn and partially purified product from *Abroma augusta* Linn in streptozotocin induced diabetes. *Indian Journal of Clinical Biochemistry.* 17(2) 33-43.
- Fransworth NR. 1966. Biological and Phytochemical Screening of Plants. *J. Pharm.Sci.* 55(3):243-269.
- 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
- Herdiana Y. 2007. Formulasi gel undesilenil fenilalanin dalam aktivitas sebagai pencerah kulit. Makalah tidak dipublikasikan. Universitas Padjadjaran
- Jain S, Shrivasta S, Navak S, Sumbhate S. 2007. PHCOG MAG.: Plant Review Recent trends in *Curcuma Longa* Linn. *Pharmacognosy Reviews* 1: 1.
- Jones D. 2008. *Pharmaceutics Dosage Form and Design*. London: Pharmaceutical Press
- Kim J. 2006. Anti-diabetic Activity of SMK001, a Poly Herbal Formula in Streptozotocin Induced Diabetic Rats: Therapeutic Study. *Biol. Pharm. Bull.* 29(3) 477—482
- Lachman L, Herbert AL, Joseph LK. 1994. *Teori dan Praktek Farmasi Industri*. Ed ke-3. Jakarta: UI Press.
- Murundar P, Pari L. 2007. Protective role of tetrahydrocurcumin on changes in fatty acid composition in streptozotocin-nicotinamide induced type 2 diabetic rats. *J. Appl. Biomed.* 5:31-38.
- Nwozo S, Adaramoye O, Ajaiyeoba E. 2009. Oral administration of extract from *Curcuma longa* lowers blood glucose and attenuates alloxan-induced hyperlipidemia in diabetic rabbits. *Pakistan Journal of Nutrition* 8 (5): 625-628.
- Scobie IN. 2007. *Atlas of Diabetes*. 3rd Ed. United Kingdom: Informa UK Ltd. 74
- Stroncek JD, Reichert WM. 2008. Overview of Wound Healing in Different Tissue Types. Taylor and francis group.
- Tangapazham RL, Sharma A, Maheshwari RK. 2007. Beneficial Role of Curcumin in Skin Diseases in The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease. New York: Springer.
- Winarsih W, Wientarsih I, Handharyani E. 2007. Kajian aktivitas ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma longa*) dalam proses persembuhan luka pada mencit sebagai model penderita diabetes. Laporan Penelitian Hibah Bersaing Tahun Pertama. Institut Pertanian Bogor
- Yano SM, Terai M, Shimizu KL, Futagami Y, Horie S, Tsuchita S, Ikegami F, Sakine T, Yamamoto Y, Fujimori H, Takamoto K, Saito K, Ueno K, Watanabe K.. 2000. Antiallergic activity of *Curcuma longa* (I) Effectiveness of extracts containing curcuminoids. *Nat. Med.* 5(6), 318-324.
- Yano SM. 1996. Antiallergic activity of *C. longa* extracts active component and MDA. *Phytomedicine.* 3(1): 58.