

## JURNAL METAMORFOSA

### Journal of Biological Sciences

eISSN: 2655-8122

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

#### Penyembuhan Luka Sayat Pada Kulit Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Ekstrak Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*)

#### Wound Healing Of Cuts in the Skin of White Rat (*Rattus norvegicus*) Is Given Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) Leaf Extract

Maria Lorita Amfotis<sup>1\*</sup>, Ni Made Rai Suarni<sup>2</sup>, Ni Luh Arpiwi<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>Program studi Magister Ilmu Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Badung, Bali

\*Email: [lorithaamf@gmail.com](mailto:lorithaamf@gmail.com)

#### INTISARI

Daun kirinyuh (*Chromoelana odorata*) merupakan tanaman yang secara tradisional digunakan masyarakat untuk menyembuhkan luka. Daun kirinyuh mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, triterpenoid dan tanin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kirinyuh terhadap penyembuhan luka sayat pada kulit tikus putih. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap, terdiri dari lima perlakuan dan masing-masing perlakuan terdapat enam ulangan. Tikus dibagi dalam lima perlakuan yaitu K- (diberi aquades), K+ (diberi *povidone iodine* 10%), perlakuan P1, P2, P3 yang masing-masing diberikan ekstrak daun kirinyuh 10%, 20%, 30%. Pengamatan secara makroskopis dilakukan pada hari ke-3, 6 dan 9 terhadap hiperemis, kontraksi luka, granulasi, krusta dan produksi pus. Pembuatan sediaan untuk pengamatan secara mikroskopis (ketebalan epidermis, jumlah fibroblas dan jumlah kolagen) dilakukan pada hari ke 10. Data makroskopis selain kontraksi luka dianalisa secara deskriptif. Data kontraksi luka, ketebalan epidermis, jumlah fibroblas dan jumlah kolagen dianalisis menggunakan ANOVA ( $p < 0,05$ ) dan bila terdapat perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan uji *Duncan*. Hasil pengamatan terhadap penyembuhan luka secara makroskopis menunjukkan bahwa konsentrasi 20% paling optimal dalam menurunkan hiperemis dan kontraksi luka. Sedangkan konsentrasi 10% paling optimal dalam pembentukan granulasi, mencegah krusta dan produksi pus. Hasil pengamatan terhadap penyembuhan luka secara mikroskopis menunjukkan bahwa konsentrasi 20% (P2) paling optimal dalam meningkatkan ketebalan epidermis, meningkatkan jumlah fibroblas dan jumlah kolagen. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kirinyuh dapat menyembuhkan luka secara optimal dengan konsentrasi yang berbeda-beda pada setiap tahap penyembuhan.

**Kata kunci:** Kirinyuh, metabolit sekunder, penyembuhan luka, *Rattus norvegicus*.

#### ABSTRACT

Kirinyuh leaves (*Chromolaena odorata*) are traditionally used for wound curing by the community. Kirinyuh leaves contains alkaloids, flavonoids, phenol, saponin, triterpenoid and tannin. The purpose of this study was to determine the effect of kirinyuh leaves extract on wound healing process in rat (*Rattus norvegicus*). This study used the completely randomized design, consisting of 5 treatments with 6 replicates. The mice were divided into five treatments, namely K- (aquades), K+ (*povidone iodine* 10%), treatments P1, P2, P3 is given each extract of leaf kirinyuh 10%, 20%, 30%. Macroscopic observations were made on days 3, 6 and 9 for hyperemia, wound contraction, granulation, crusting, pus production. Preparation for microscopic observation (epidermal thickness, number of fibroblasts and amount of collagen) was made on day 10. Macroscopic data other than wound

contraction were analyzed descriptively. Data on wound contraction, epidermal thickness, number of fibroblasts and the number of collagen were analysed using ANOVA ( $p < 0.05$ ) and if there is a significant difference, then proceed with Duncan test. The observation on macroscopic wound healing showed that the optimal 20% concentration in reducing wound hyperemia and contractions. While the 10% concentration is optimal in the formation of granulation, preventing crusting and pus production. Observations on microscopic wound healing showed that the optimal concentration of 20% (P2) was the most optimal in increasing epidermal thickness, increasing the number of fibroblasts and the amount of collagen. It can be concluded that kirinyuh leaf extract can heal wounds optimally with different concentrations at each stage of healing.

**Keywords:** *Chromoelana odorata*, secondary metabolites, wound healing, *Rattus norvegicus*

## PENDAHULUAN

Luka merupakan rusaknya sebagian struktur sel dan jaringan yang menyebabkan terganggunya fungsi anatomi kulit. Luka sering terjadi pada hewan maupun manusia akibat dari benda tajam atau tumpul, zat kimia, ledakan dan gigitan hewan (Ruswanti dkk., 2014). Rusaknya struktur dan fungsi anatomi kulit maka tubuh akan merespon dan memicu proses penyembuhan luka (Yunanda, 2016).

Penyembuhan luka dapat diartikan sebagai proses fisiologi tubuh untuk menormalkan kembali struktur dan fungsi anatomi kulit. Proses penyembuhan luka melalui tiga tahapan yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase maturasi (Palumpun dan Wiraguna, 2017). Luka akan mengalami kegagalan penyembuhan jika ada faktor yang menghambat. Faktor yang menghambat penyembuhan luka seperti infeksi, hematoma dan benda asing. Pengobatan dari luka bertujuan untuk mengurangi faktor-faktor risiko yang menghambat penyembuhan luka, mempercepat proses penyembuhan dan menurunkan kejadian luka yang terinfeksi (Soni dan Singhai, 2013).

Salah satu alternatif untuk pengobatan penyembuhan luka yaitu menggunakan obat tradisional. Obat tradisional telah menjadi warisan budaya bangsa yang perlu dikembangkan agar dapat dimanfaatkan secara maksimal untuk peningkatan pelayanan kesehatan (Dewi *et al.*, 2014). Tanaman obat memiliki aktivitas biologis dan medis yang luas, memiliki tingkat keamanan yang baik, mudah didapatkan dan penggunaan biaya yang murah (Pradhan dkk., 2013).

Salah satu tanaman obat yang biasa digunakan sebagai obat tradisional untuk penyembuhan luka yaitu kirinyuh. Daun kirinyuh mengandung beberapa senyawa utama seperti tanin, fenol, flavonoid, saponin dan steroid (Yenti dkk., 2011). Daun kirinyuh dalam pengobatan tradisional digunakan sebagai obat luka, obat kumur pada sakit tenggorokan, obat batuk, obat malaria, antimikroba, antihipertensi, antiinflamasi dan menghentikan pendarahan (Barku dan Ayaba, 2013). Yenti dkk. (2011) melaporkan, pemberian formulasi krim ekstrak daun kirinyuh 10% untuk pengobatan luka insisi dapat memberikan efek penyembuhan pada diameter luka lebih cepat dibandingkan dengan konsentrasi 2,5% dan 5%.

Berdasarkan uraian diatas, maka penulis ingin mengkaji lebih dalam manfaat ekstrak daun kirinyuh sebagai obat penyembuhan luka. Kebaharuan penelitian ini dimana melihat penyembuhan luka secara makroskopis dan mikroskopis maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak daun kirinyuh (*Chromolaena odorata*) terhadap penyembuhan luka sayat baik secara makroskopis (hiperemis, kontraksi luka, granulasi, krusta dan produksi pus) dan mikroskopis (ketebalan epidermis, jumlah fibroblas dan jumlah kolagen).

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari kontrol negatif (K-) diberi aquades, kontrol positif (K+) diberi *povidone iodine* 10%, perlakuan 1 (P1) diberi ekstrak daun kirinyuh 10%, perlakuan 2 (P2) diberi ekstrak daun kirinyuh 20% dan

perlakuan 3 (P3) diberi ekstrak daun kirinyuh 30% dengan enam ulangan. Hewan coba yang digunakan adalah 30 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang berumur 3-4 bulan dengan berat 200-250 g.

### Pembuatan Ekstrak Daun Kirinyuh

Ekstraksi daun kirinyuh dilakukan dengan metode maserasi. Daun kirinyuh dewasa yang diperoleh dicuci bersih dipotong kecil-kecil lalu dikering anginkan. Daun kirinyuh kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk. Sebanyak 800 g serbuk daun kirinyuh dimaserasi dengan 4 L etanol 96% selama 72 jam dan sesekali dilakukan pengadukan. Selanjutnya dilakukan filtrasi dengan kertas saring sehingga diperoleh filtrat. Filtrat yang didapat dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40°C dan didapatkan ekstrak kasar.

### Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Daun Kirinyuh

Ekstrak kental yang diperoleh diencerkan dengan aquades agar menjadi konsentrasi 10%, 20% dan 30%. Pembuatan konsentrasi ini dengan menggunakan rumus b/v. Konsentrasi 10% dibuat dengan cara memasukkan 10 g ekstrak daun kirinyuh ke dalam 100 mL aquades. Konsentrasi 20% dibuat dengan cara memasukkan 20 g ekstrak daun kirinyuh ke dalam 100 mL aquades. Konsentrasi 30% dibuat dengan cara memasukkan 30 g ekstrak daun kirinyuh ke dalam 100 mL aquades dan dihomogenkan.

### Perlakuan pada Hewan Coba

Prosedur penelitian ini telah sesuai dengan kode etik yang dikeluarkan oleh Komisi Etik Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana dengan nomor sertifikat 3365/UN14.2.9/PD/2019. Sebelum dilakukan perlakuan, tikus diaklimatisasi pada kandang selama 7 hari. Selama aklimatisasi tikus diberi makan berupa CP551 (PT. Charoen Pokphan, Indonesia) dan air secara *ad libitum* (Fernandez, 2020). Kandang dan tempat minum dibersihkan secara berkala. Sebanyak 30 ekor tikus dianestesi dengan menggunakan *ketamin* 10 mg/kg dan *xylasin* 20 mg/kg dengan cara

intramuskuler. Bagian punggung tikus dicukur seluas 3 cm x 2,5 cm sampai licin kemudian dibersihkan dengan alkohol 95% dan diberi tanda 2 cm pada daerah yang akan disayat. Daerah yang ditanda, disayat dengan scalpel steril dengan panjang 2 cm (Yunanda dkk., 2016). Luka dibersihkan menggunakan alkohol. Setelah 10 menit bagian luka diberi perlakuan yaitu K- diberi aquades sebanyak 0,5 mL, K+ diberi *povidone iodine* 10% sebanyak 0,5 mL, P1 diberi ekstrak daun kirinyuh 10% sebanyak 0,5 mL, P2 diberi ekstrak daun kirinyuh 20% sebanyak 0,5 mL, dan P3 diberi ekstrak daun kirinyuh 30% sebanyak 0,5 mL. Pemberian perlakuan 2 kali sehari yaitu pagi jam 08.00 dan sore jam 18.00.

### Pemeriksaan Makroskopis

Pengamatan secara makroskopis pada hari ke-3, 6 dan 9 terhadap hiperemis, kontraksi luka (pengukuran panjang luka), granulasi, krusta dan produksi pus pada daerah luka. Hiperemi sebagai salah satu penanda inflamasi ditandai dengan warna merah yang terlihat pada daerah luka. Luka diamati dan diberi nilai positif (+) jika terlihat dan negatif (-) jika tidak terlihat hiperemi. Pembentukan granulasi diamati dengan melihat jaringan berwarna kemerahan yang berbenjol halus pada tepi luka dan krusta dinilai dengan melihat terbentuknya pengeringan eksudat, diberi nilai positif (+) bila terlihat dan negatif (-) bila tidak terlihat. tidak terdapat diberi nilai negatif (-). Kontraksi luka diukur dengan melihat penyempitan ukuran luka menggunakan mistar lalu dicatat (Yunanda dkk., 2016). Persentase kontraksi luka dihitung dengan rumus sebagai berikut (Handayani dkk., 2016).

$$\% = \frac{(\text{Panjang luka hari ke 0} - \text{panjang luka hari ke n})}{\text{panjang luka hari ke 0}} \times 100\%$$

### Preparasi Histologi Kulit

Pembuatan sediaan histologi kulit dilakukan dengan metode parafin dan pewarnaan *Harris-Hematoxylin Eosin*.

## Pengamatan Histologi

Pengukuran ketebalan epidermis dengan menggunakan metode morfometri dengan perbesaran 400x. Pengukuran dilakukan dari permukaan epidermis sampai lapisan paling bawah yang berbatasan dengan dermis.

Jumlah fibroblas dihitung dengan cara mencari sebaran fibroblas yang merata dengan menggunakan mikroskop kemudian di foto dengan perbesaran 100x. Dengan menggunakan bantuan Image Raster dibuat kotak dengan ukuran 50  $\mu\text{m}$  x 50  $\mu\text{m}$ , lalu dihitung jumlah fibroblas di dalam kotak yang sudah dibuat secara manual.

Penghitungan jumlah kolagen dengan menggunakan piranti lunak Adobe Photoshop CS3 versi 9.0 dan Image Raster dengan perbesaran 400x. Jumlah kolagen dihitung sebagai persentase pixel area kolagen yang berwarna merah dibandingkan pixel area seluruh jaringan.

$$\% = \frac{\text{pixel area kolagen}}{\text{pixel area seluruh kolagen}} \times 100\%$$

## Analisis Data

Data makroskopis seperti hiperemis, krusta, granulasi dan produksi pus dianalisis secara deskriptif. Kontraksi luka, ketebalan epidermis, jumlah fibroblas dan jumlah kolagen dianalisis menggunakan metode varian satu arah (ANOVA) dengan program SPSS 22 for windows, Jika terdapat perbedaan nyata antar perlakuan dilanjutkan dengan uji *Duncan* dengan uji taraf kepercayaan 0,05.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Makroskopis Hiperemis

Hasil analisis deskriptif hiperemis pada hari ke-3, 6 dan 9 menunjukkan bahwa pada K- masih tampak hingga hari ke-9. Hiperemis pada K+ dan P1 tampak hingga hari ke-6, sedangkan pada P2 dan P3 hiperemis hanya tampak pada hari ke-3. Ini artinya, pemberian ekstrak daun kirinyuh dengan konsentrasi 20% sudah mampu menghilangkan hiperemis pada hari ke-6.

Ketika terjadi luka atau kerusakan pada sel, maka akan terjadi kerusakan pada membran sel yang tersusun atas *phospholipid*. Kerusakan membran sel tersebut nantinya akan menginduksi diekspersikannya *phospholipase*. Enzim ini akan mengubah *phospholipid* menjadi asam arakidonat. Sebagian asam arakidonat nantinya akan diubah menjadi mediator pro-inflamasi dan prostaglandin oleh bantuan enzim siklooksigenase dan sebagian lagi dengan bantuan enzim lipoksigenase. Senyawa flavonoid pada ekstrak berfungsi sebagai antiinflamasi akan menghambat enzim fosfolipase, sehingga fosfolipid yang berada pada membran sel tidak dapat diubah menjadi asam arakidonat. Hal ini akan menghambat jalur siklooksigenase dan lipoksigenase sehingga menyebabkan terganggunya sintesis prostaglandin dan leukotrin. Terganggunya prostaglandin dan leukotrin sebagai mediator inflamasi dapat mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah sehingga sel radang berkurang dan terjadi penurunan kemerahan pada fase inflamasi (Fithriyah *et al.*, 2013).

### Produksi Pus dan Krusta

Ekstrak daun kirinyuh mampu mencegah terjadinya produksi pus dan krusta. Hasil analisis secara deskriptif bahwa pada hari ke-3, pada P1, P2 dan P3 sudah tidak terdapat produksi pus dan krusta. Hal ini berarti ekstrak daun kirinyuh dengan konsentrasi 10% (P1) sudah mampu menghambat produksi pus dan krusta pada hari ke-3. Hal ini karena senyawa dalam ekstrak daun kirinyuh berperan sebagai antimikroba. Eksotoksin dan sel-sel debris yang terdapat dalam eksudat dapat memperlambat penyembuhan luka dengan memperpanjang proses inflamasi. Krusta yang berlebihan pada daerah luka akan memperlambat penyembuhan dan meningkatkan resiko terjadinya infeksi (Yunanda, 2016). Senyawa flavonoid dan tanin dapat melawan mikroorganisme. Flavonoid membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler sehingga merusak membran sel bakteri (Bontjura dkk., 2015). Senyawa tanin menyerang mikroorganisme dengan merusak membran sel bakteri dan mengerutkan dinding

sel bakteri yang ada pada luka sehingga akan mengganggu permeabilitas sel bakteri yang menyebabkan pertumbuhan sel bakteri terlambat dan bahkan akan mati (Retnaningsih dan Dayanti, 2017).

### Granulasi

Granulasi pada P1, P2 dan P3 pada penelitian ini sudah terbentuk pada hari ke-3 sedangkan pada KN granulasi terbentuk pada hari ke-9 dan KP granulasi terbentuk pada hari ke-6. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kirinyuh dengan konsentrasi 10% (P1) sudah mampu mempercepat pembentukan granulasi jika dibandingkan dengan kontrol. Hal ini karena senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun kirinyuh yang berfungsi sebagai antioksidan dengan konsentrasi 10% (P1) sudah mampu membentuk granulasi pada hari ke-3. Proses penyembuhan luka dimulai dengan adanya jaringan granulasi baru yang tumbuh. Semakin cepat terbentuknya jaringan granulasi maka akan cepat menutup permukaan luka (Nugraha *et al.*, 2016). Stres oksidatif akibat luka akan menyebabkan ketidakseimbangan antara *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan antioksidan endogen. Kadar malondialdehid pada luka akan meningkat sesuai intensitas oksidatif, tetapi malondialdehid akan berkurang bila sistem pertahanan baik (Gayatri dkk., 2010). Mekanisme pembentukan jaringan granulasi terjadi melalui pencegahan terbentuknya ROS oleh senyawa flavonoid yang terkandung pada ekstrak daun kirinyuh.

Flavonoid dapat menangkap secara langsung senyawa radikal bebas (Dewi dkk., 2020). Senyawa flavonoid memiliki aktifitas biologi sebagai antioksidan yang dapat meredam radikal bebas dengan cara mendonorkan satu atom hidrogen ( $H^+$ ) kepada radikal bebas sehingga dapat memperbaiki jaringan yang rusak.

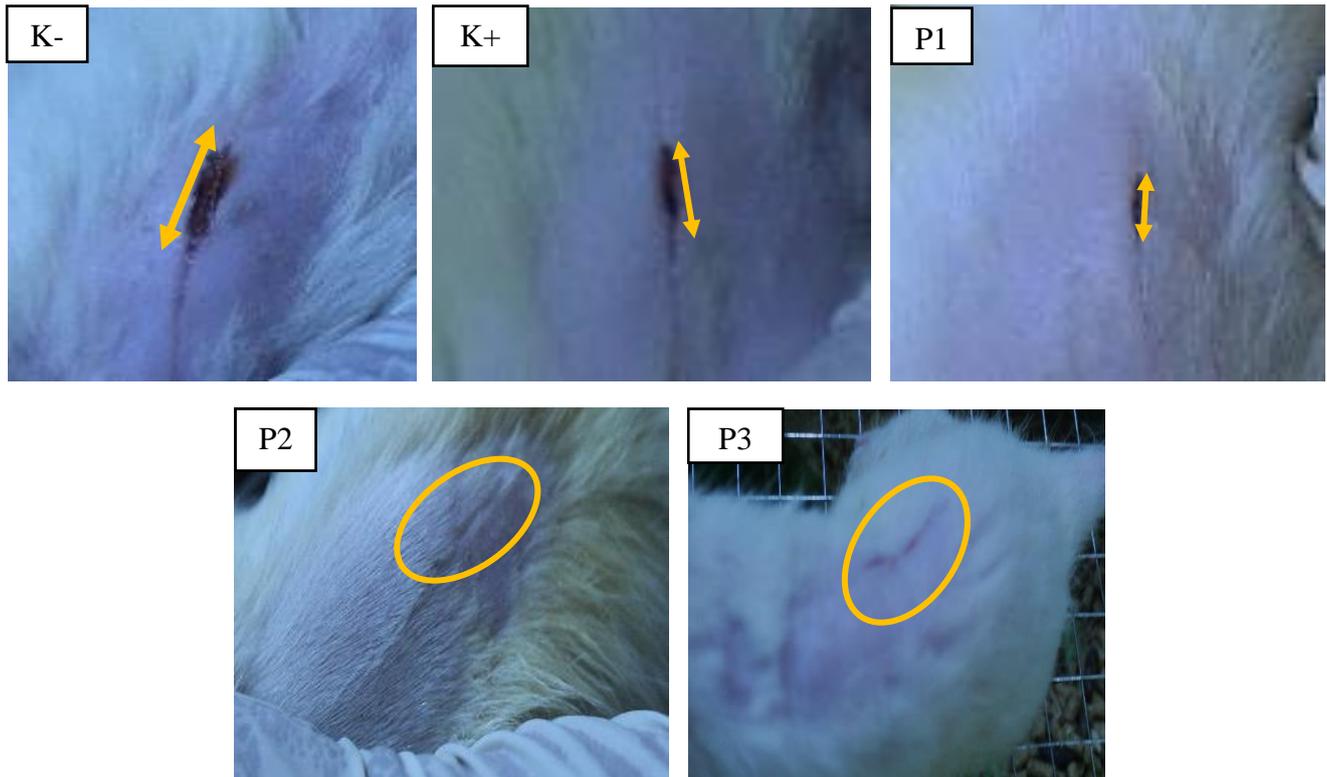
### Kontraksi Luka

Berdasarkan hasil uji statistik kontraksi luka K- pada hari ke-3, 6 dan 9 berbeda nyata dengan K+, P1, P2 dan P3. *Povidone iodone* 10% (K+) pada hari ke-3, 6 dan 9 secara signifikan ( $P<0,05$ ) meningkatkan persentase kontraksi luka tikus putih jika dibandingkan dengan kontrol negatif (K-). Pemberian perlakuan ekstrak daun kirinyuh dengan konsentrasi 10%, 20% dan 30% (P1, P2 dan P3) pada hari ke-3, 6 dan 9 secara signifikan ( $P<0,05$ ) dapat meningkatkan persentase kontraksi luka jika dibandingkan dengan K-. Hasil pengamatan kontraksi luka pada hari ke 3 dan ke 6 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka kemampuan penyembuhan luka semakin baik. Hasil pengamatan pada hari ke-9, P1 berbeda nyata dengan P2 dan P3 sedangkan P2 tidak berbeda nyata dengan P3. Ini berarti sampai hari ke-9 senyawa aktif dalam konsentrasi 20% ekstrak daun kirinyuh (P2) sudah mampu menyembuhkan luka dengan baik (Tabel 1) dan (Gambar 1).

**Tabel 1.** Persentase kontraksi luka sayat tikus putih hari ke-3, 6 dan 9

Perlakuan	Kontraksi luka (%) pada pengamatan hari ke		
	3	6	9
K-	5,83±3,76 <sup>a</sup>	15,00±4,47 <sup>a</sup>	35,00±4,47 <sup>a</sup>
K+	23,33±4,08 <sup>b</sup>	46,67±6,05 <sup>b</sup>	77,50±5,24 <sup>b</sup>
P1	31,67±4,08 <sup>c</sup>	66,67±4,08 <sup>c</sup>	90,83±3,76 <sup>b</sup>
P2	60,00±5,47 <sup>d</sup>	84,17±3,76 <sup>d</sup>	100±0 <sup>c</sup>
P3	91,67±4,08 <sup>e</sup>	100±0 <sup>e</sup>	100±0 <sup>c</sup>

Keterangan: nilai (mean ± standar deviasi) yang diikuti huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $P<0,05$ )



**Gambar 1:** Kontraksi luka pada tikus sebelum biopsi (hari ke-9). Keterangan: tanda panah menunjukkan sisa panjang luka hari ke-9 dan tanda lingkaran menunjukkan bekas luka (luka yang sudah sembuh). K- : diberi aquades, K+ : *povidone iodine* 10% , P1 : diberi ekstrak daun kirinyuh 10%, P2 : diberi ekstrak daun kirinyuh 20%, P3 : diberi ekstrak daun kirinyuh 30%.

Myofibroblas merupakan fibroblas yang telah terdiferensiasi, bertugas melakukan kontraksi jaringan dan membantu hingga terjadi *remodelling* (Sgonc dan Gruber, 2013). Dari Tabel 1 dapat terlihat dengan kandungan ekstrak daun kirinyuh memiliki aktivitas penyembuhan luka dengan perbedaan signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif ( $P < 0,05$ ). Perbedaan secara fisik terhadap panjang luka pada hari ke-9 dapat terlihat (Gambar 1). Pada awal masa penyembuhan, kemampuan fibroblas untuk berkontraksi atau yang disebut myofibroblas akan menarik tepi luka sehingga kedua tepi melekat atau epitel menuju pusat luka sehingga terjadi pengurangan ukuran luka (Muralidhar *et al.*, 2013). Senyawa flavanoid mampu merangsang pembentukan sel epitel dan mendukung proses re-epitelisasi serta meningkatkan aktivitas myofibroblas. Saponin dapat meningkatkan fibronektin, kemudian gumpalan fibrin yang terbentuk akan menjadi dasar dalam re-epitelisasi pada jaringan. Maka

dari itu bila gumpalan fibrin cepat terbentuk, maka fibroblas akan segera berproliferasi ke area luka untuk segera mengadakan pemulihan jaringan (Indraswary, 2011).

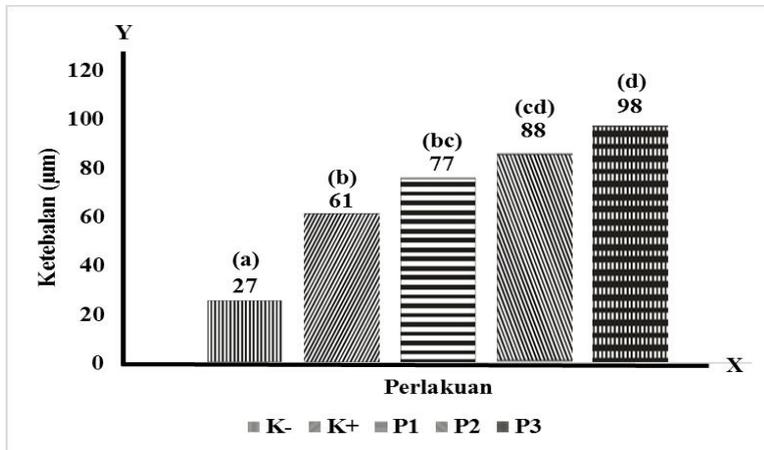
### Mikroskopis

#### Ketebalan Epidermis

Berdasarkan uji statistik ketebalan epidermis menunjukkan bahwa pada P1 tidak berbeda nyata dengan P2 namun berbeda nyata dengan P3 sedangkan P2 tidak berbeda nyata dengan P3. Pada K+ tidak berbeda nyata dengan P1 namun berbeda nyata dengan P2 dan P3 sedangkan K-, P1, P2 dan P3 berbeda nyata dengan K-. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun kirinyuh dengan konsentrasi 10% sudah mampu meningkatkan ketebalan epidermis menyamai obat yang sudah umum digunakan (K+) walaupun hasil yang terbaik adalah P2. Hal ini berarti senyawa flavonoid dan saponin dalam ekstrak daun kirinyuh dapat merangsang pertumbuhan epidermis dan membantu re-

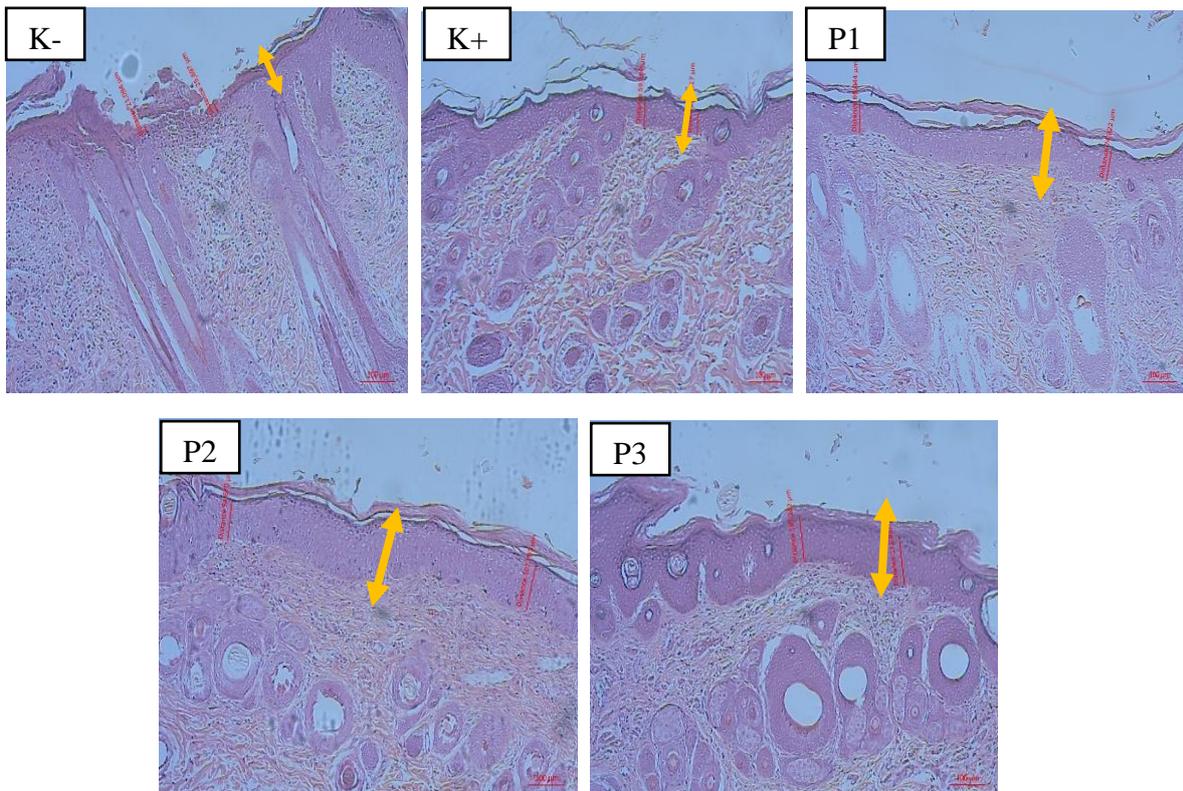
epitelisasi dengan baik hanya dengan konsentrasi 10% (Gambar 2). Perbedaan yang nyata antara kontrol dan perlakuan yaitu P1, P2

dan P3 re-epiteisasi tampak sempurna dan terlihat fibrosis dengan kerapatan tinggi (Gambar 3).



**Gambar 2.** Ketebalan epidermis (µm)

Keterangan: Nilai diikuti oleh huruf superskip yang sama merupakan nilai rata-rata yang tidak berbeda nyata ( $P>0,05$ ). K- : diberi aquades, K+ : *povidone iodine* 10% , P1 : diberi ekstrak daun kirinyuh 10%, P2 : diberi ekstrak daun kirinyuh 20%, P3 : diberi ekstrak daun kirinyuh 30%.



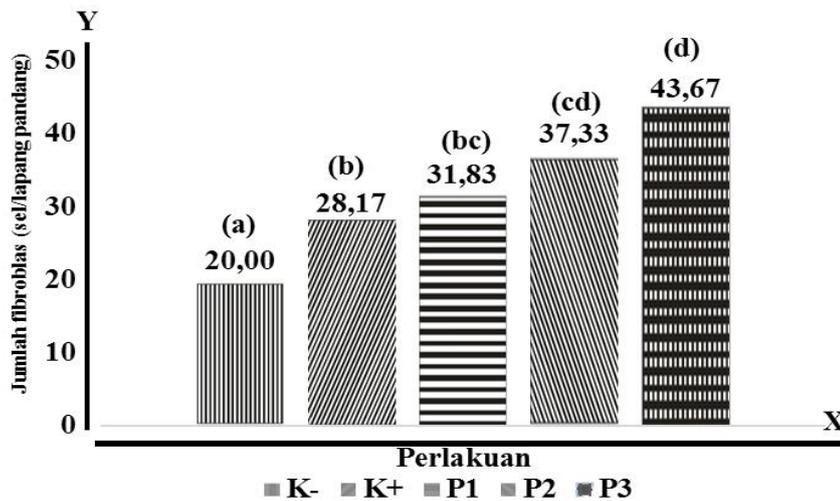
**Gambar 3:** Histologi epidermis pada kulit tikus. Keterangan: tanda panah menunjukkan lapisan epidermis, K- : diberi aquades, K+ : *povidone iodine* 10% , P1 : diberi ekstrak daun kirinyuh 10%, P2 : diberi ekstrak daun kirinyuh 20%, P3 : diberi ekstrak daun kirinyuh 30%. (Pewarnaan Harris-Hematoksilin Eosin, perbesaran 400x, bar 100 µm).

Penyembuhan luka sangat dipengaruhi oleh re-epitelisasi, karena semakin cepat proses re-epitelisasi semakin cepat pula luka tertutup. Kecepatan dari penyembuhan luka dapat dipengaruhi dari zat-zat yang terdapat dalam obat yang diberikan, yang mampu merangsang lebih cepat pertumbuhan sel-sel baru pada kulit (Gambar 3). Menurut Parampasi dan Soemarno (2013), saat terjadi luka, sel-sel epitel bergerak dari tepi luka disepanjang tepi sayatan dan akan meninggalkan komponen-komponen membran basal sepanjang perjalanannya. Sel-sel ini menyatu digaris tengah dibawah keropeng permukaan, menghasilkan lapisan epitel yang menutup luka. Proliferasi sel epitel ini yang menyebabkan lapisan epidermis menebal. Senyawa tanin membantu merangsang pertumbuhan epidermis karena berperan dalam transkripsi dan translasi *vascular endothelial growth factor* (VEGF). VEGF bertindak secara parakrin tidak hanya dalam endotel vaskular kulit, tetapi meningkatkan re-epitelisasi sehingga lapisan epidermis semakin menebal (Pastar *et al.*, 2013). Palumpun dan Wiraguna

(2017) menyatakan bahwa senyawa tanin berfungsi meningkatkan regenerasi jaringan luka, merangsang pertumbuhan epidermis dengan membantu re-epitelisasi dengan cara mengendapkan lipid protein kompleks.

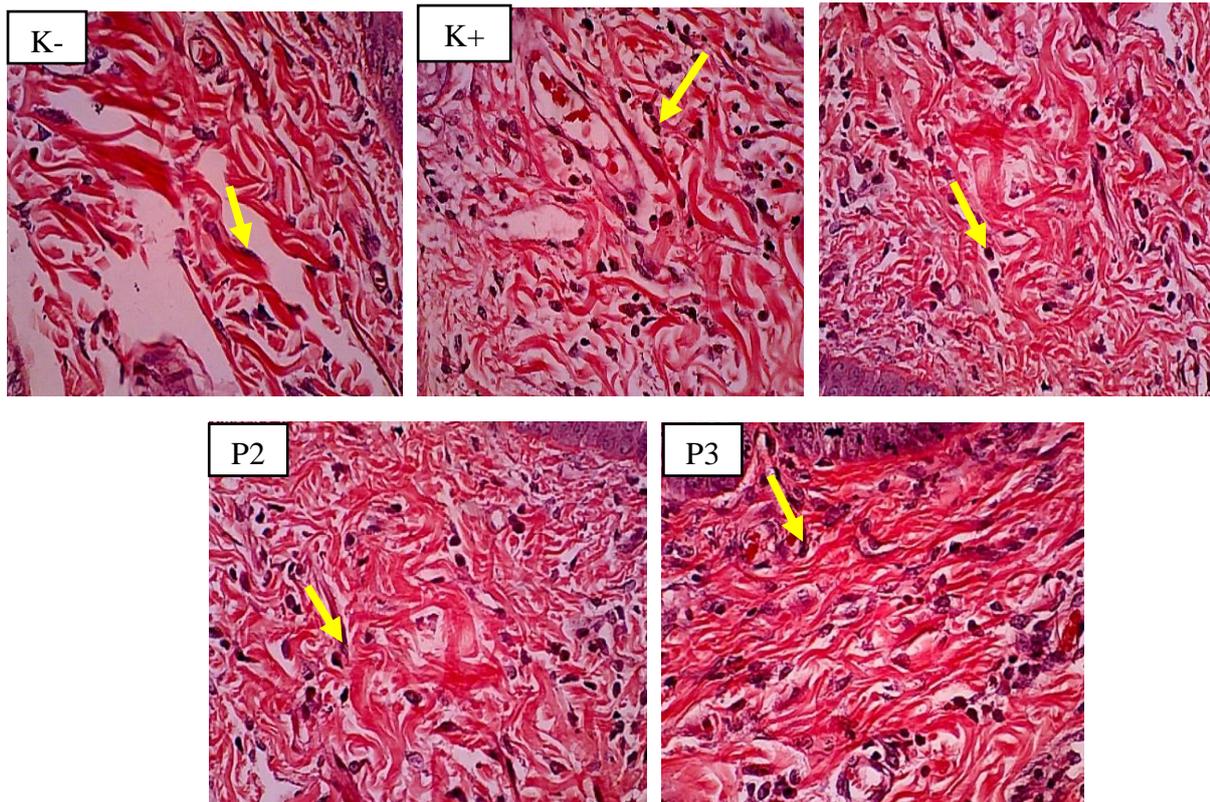
**Jumlah Fibroblas**

Berdasarkan hasil uji statistik jumlah fibroblas P1 tidak berbeda nyata dengan P2 namun berbeda nyata dengan P3 sedangkan P2 tidak berbeda nyata dengan P3. Pada K+ tidak berbeda nyata dengan P1 namun berbeda nyata dengan P2 dan P3 sedangkan K-, P1, P2 dan P3 berbeda nyata dengan K- (Gambar 4). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun kirinyuh dengan konsentrasi 10% sudah mampu meningkatkan jumlah fibroblas lebih cepat dibandingkan dengan K-. walaupun hasil yang optimal adalah P2, dimana P2 tidak berbeda nyata dengan P3 (Gambar 4). Ini berarti senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun kirinyuh pada P2 dalam penelitian ini sudah optimal untuk meningkatkan jumlah fibroblas.



**Gambar 4:** Jumlah fibroblas. Keterangan : Nilai diikuti oleh huruf superskip yang sama merupakan nilai rata-rata yang tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ). K- : diberi aquades, K+ : *povidone iodine* 10% , P1 : diberi ekstrak daun kirinyuh 10%, P2 : diberi ekstrak daun kirinyuh 20%, P3 : diberi ekstrak daun kirinyuh 30%.

P1

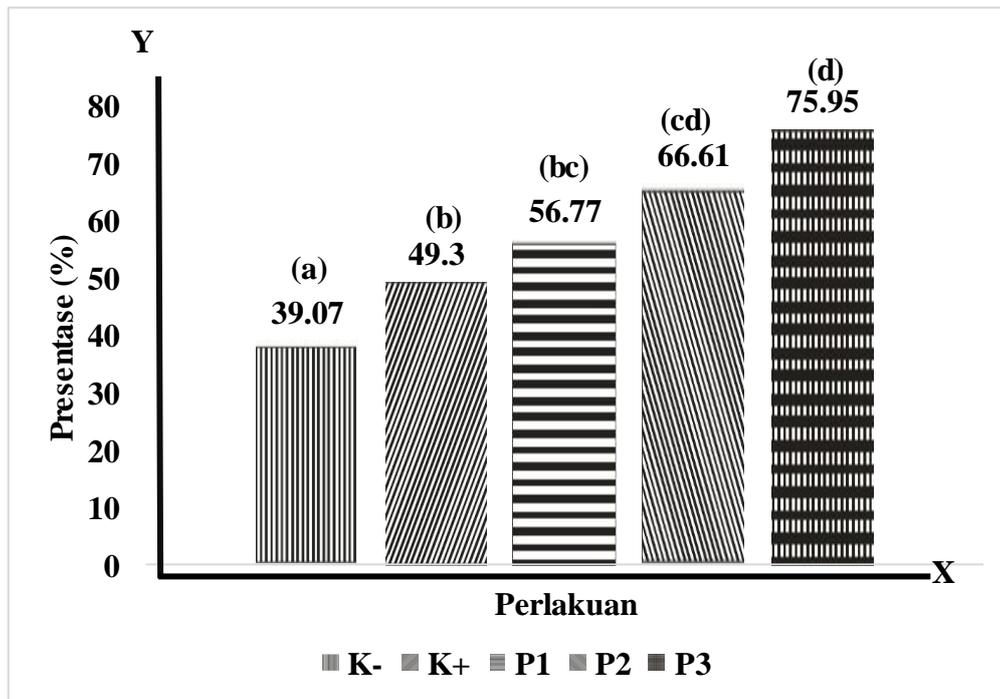


**Gambar 5:** Histologi kulit tikus yang memperlihatkan struktur fibroblas. Keterangan: tanda panah menunjukkan fibroblas, K- : diberi aquades, K+ : *povidone iodine* 10% , P1 : diberi ekstrak daun kirinyuh 10%, P2 : diberi ekstrak daun kirinyuh 20%, P3 : diberi ekstrak daun kirinyuh 30%. (Pewarnaan Harris Hematoksilin-Eosin, perbesaran 100x).

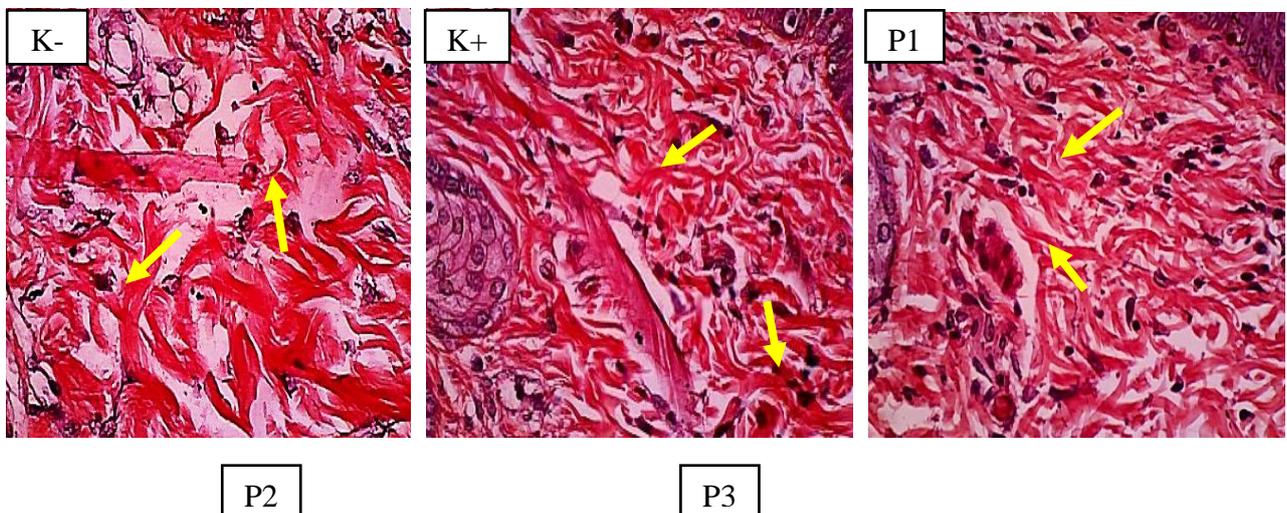
Fibroblas adalah sel berbentuk pipih dan panjangnya bervariasi diantara serabut-serabut kolagen. Pada pewarnaan HE fibroblas berwarna ungu tua diantara serabut-serabut kolagen berwarna merah. Fibroblas tampak merata pada perlakuan ekstrak daun kirinyuh (Gambar 5). Yuliana (2012), menyatakan bahwa pemberian ekstrak daun kirinyuh dapat meningkatkan jumlah sel fibroblas. Senyawa flavonoid mempunyai efek langsung terhadap fibroblas yaitu meningkatkan jumlah makrofag. Flavonoid mampu menstimulasi makrofag sehingga meningkatkan produksi *growth factor* seperti *Transforming growth factor* (TGF) yang mempunyai peran menstimulasi fibroblas, meningkatkan matrik ekstraseluler (ECM) dan meningkatkan kolagenasi untuk proses penyembuhan luka (Anindyajati dkk., 2013).

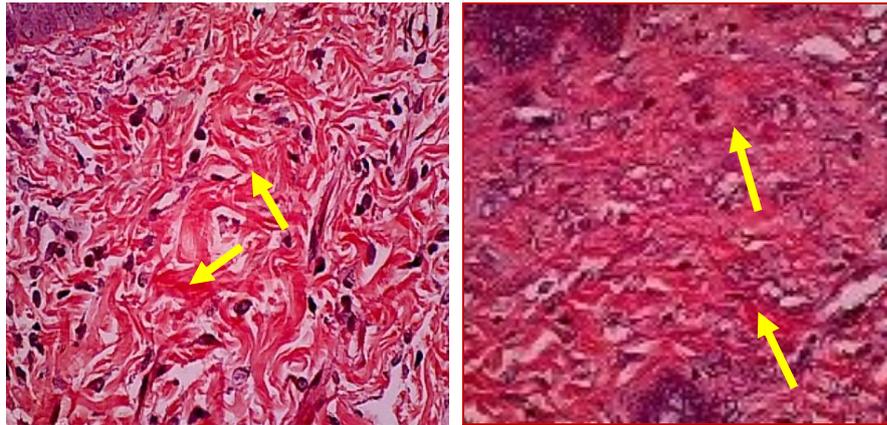
#### Jumlah Kolagen

Jumlah kolagen P1 tidak berbeda nyata dengan P2 namun berbeda nyata dengan P3 sedangkan P2 tidak berbeda nyata dengan P3. Pada K+ tidak berbeda nyata dengan P1 namun berbeda nyata dengan P2 dan P3 sedangkan K-, P1, P2 dan P3 berbeda nyata dengan K- (Gambar 6). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun kirinyuh yang berperan dalam mensintesis kolagen dengan konsentrasi 10% sudah mampu menyembuhkan luka dengan meningkatkan jumlah kolagen jika dibandingkan dengan K- namun hasil yang optimal yaitu P2 karena P2 tidak berbeda nyata dengan P3 (Gambar 7). Ini berarti senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun kirinyuh pada P2 dalam penelitian ini sudah optimal untuk meningkatkan kolagen.



**Gambar 6:** Jumlah kolagen pada masing-masing kontrol dan perlakuan. Nilai diikuti oleh huruf superskrip yang sama merupakan nilai rata-rata yang tidak berbeda nyata ( $P>0,05$ ), K- : diberi aquades, K+ : *povidone iodine* 10% , P1 : diberi ekstrak daun kirinyuh 10%, P2 : diberi ekstrak daun kirinyuh 20%, P3 : diberi ekstrak daun kirinyuh 30%.





**Gambar 7:** Histologi kolagen pada kulit tikus. Keterangan : tanda panah menunjukkan kolagen, K- : diberi aquades, K+ : *povidone iodine* 10% , P1 : diberi ekstrak daun kirinyuh 10%, P2 : diberi ekstrak daun kirinyuh 20%, P3 : diberi ekstrak daun kirinyuh 30%. (Pewarnaan Harris Hematoksilin-Eosin, perbesaran 400x).

Histologi kulit pada perlakuan yang diberi ekstrak daun kirinyuh, kolagen tampak padat, teratur dan jaringan terisi penuh (Gambar 7). Kolagen disintesa terutama oleh fibroblas dengan menghasilkan bahan dasar serat kolagen yang akan mempertautkan tepi luka. Migrasi fibroblas pada area perlukaan distimulasi oleh transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) (Hamid dkk.,2019). Senyawa saponin dapat meningkatkan proliferasi monosit yang dapat meningkatkan jumlah makrofag. Makrofag akan menghasilkan faktor-faktor pertumbuhan seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF), *fibroblast growth factor* (FGF), *epidermal growth factor* (EGF), dan *transforming growth factor- $\beta$*  (TGF- $\beta$ ). Faktor TGF- $\beta$  akan mempengaruhi proliferasi fibroblas dan pembuluh darah sehingga dapat menarik lebih banyak fibroblas ke daerah luka dan mensintesis kolagen (Ardiana dkk., 2015). Saponin dalam ekstrak daun kirinyuh dapat mengaktifkan jalur sinyal TGF- $\beta$ . Semakin banyak TGF- $\beta$  yang teraktivasi maka jumlah fibroblas yang bermigrasi ke area luka akan semakin banyak sehingga kolagen yang dihasilkan juga akan semakin banyak (Sucita dkk., 2019). Kandungan flavonoid berfungsi untuk meningkatkan sintesis kolagen (Shanmugam et al., 2010). Flavonoid bekerja mengaktifkan sel T, berdiferensiasi, dan berproliferasi menjadi TH1, TH2, dan TH3. Sel TH3 akan menghasilkan Transforming Growth Factor- $\beta$

(TGF- $\beta$ ) yang dapat memacu proliferasi fibroblas sehingga (Dashputre and Naikwade, 2010)

## KESIMPULAN

Ekstrak daun kirinyuh mampu menyembuhkan luka sayat. Hal ini ditunjukkan dengan adanya percepatan penyembuhan pada makroskopis (hiperemis, granulasi, krusta, produksi pus dan kontraksi luka). Konsentrasi 20% paling optimal dalam menurunkan hiperemis dan kontraksi luka. Sedangkan konsentrasi 10% paling optimal dalam pembentukan granulasi, mencegah krusta dan produksi pus. Konsentrasi 20% paling optimal dalam meningkatkan ketebalan epidermis, jumlah fibroblas dan jumlah kolagen.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anindyajati, T.P., dan W. Harsini. 2013. Pengaruh konsentrasi ekstrak kulit jambu mente dalam bahan kumur terhadap proliferasi sel fibroblas pada penyembuhan luka (in vitro). *Proc. The International Symposium an Oral and Dentist Science*. 2013: 36-42.
- Ardiana, T., A.R.P. Kusuma, dan M.D. Firdausy. 2015. Efektifitas pemberian gel binahong (*Anredera cordifolia*) 5% terhadap jumlah sel fibroblas pada soket paca pencabutan gigi marmut (*Cavia*

- cobaya). *ODONTO Dental Journal*. 2 (1):64-70.
- Barku, V.Y.A., dan S. Ayaba. 2013. Phytochemical screening and assessment of wound healing activity of the leaves of *anogeissus leiocarpus*. *European Journal of Experimental Biology*. 3 (4) : 25.
- Bontjura, S., O.A. Waworuntu, dan K.V. Siagian. 2015. Uji efek antibakteri ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT*. 4(4): 96-101.
- Dashputre, N.L., dan N.S. Naikwade. 2010. Preliminary immunomodulator activity of aqueous and ethanoli leaves extract of *Oimum Basilum linn* in mice. *International Journal PharmTech Res*. 2(2):1342-1349.
- Dewi, I.A.R P., N.I. Wiratmini, dan I. Setywati. 2020. Hepatoprotektor rumput laut *Eucheuma cottonii* pada tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan yang diinduksi natrium nitrit (NaNO<sub>2</sub>). *Jurnal Metamorfosa*. 7(2):86:96
- Dewi, Y.F., M.S. Anthara, dan A.A.G. Dharmayudha. 2014. Efektifitas ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) yang diinduksi aloksan. *Buletin Veteriner Udayana*. 6(1):73-79.
- Fernandez, M.A.M., N.I. Wiratmini., dan N.M.R. Suarni. 2020. Kadar hormon estrogen dan ketebalan endometrium tikus (*Rattus norvegicus*) betina ovariektomi setelah pemberian ekstrak daun lamtoro (*Leucaena leucocephala* Lam. De Wit). *Jurnal Metamorfosa*. 7(2): 116-125.
- Fithriyah, N., S. Arifin, dan E. Santi. 2013. Lumatan daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap lama penyembuhan luka bakar derajat II pada kelinci (*Cavia cobaya*). *Jurnal kedokteran*. 1(1):24–31.
- Gayatri. 2010. Metode penelitian pendidikan. Jakarta: Gaung Persada Press.
- Hamid, I.S., J. Ekowati, dan M.T.E. Purnama. 2019. *Kaempferia galanga* L. inhibiting effect on vascular endothelial growth factor (VEGF) and cyclooxygenase-2 (Cox-2) expression on endothelium of chorioallantoic membrane. *Indian Veteriner Journal*. 96(9):80-82.
- Indraswary, R. 2011. Efek konsentrasi ekstrak buah adas (*Foeniculum vulgare* Mill) topikal pada epitelisasi penyembuhan luka gingiva labial tikus Sprague Dwaley in vivo. *Jurnal Majalah Ilmiah Sultan Agung*. Vol 49, No 124
- Muralidhar, A., K.S. Babu, T.R. Sankar, P. Reddanna, and J. Latha. 2013. Wound healing activity of flavonoid fraction isolated from the stem bark of *Butea monosperma* (Lam) in albino wistar rats. *European Journal of Experimental Biology*, 3(6):1-6.
- Nugraha., dan K. Patimah. 2016. Rencana asuhan keperawatan medikal bedah diagnosis nanda -I 2015-2017 intervensi NIC dan hasil NOC. Jakarta: EGC.
- Palumpun, E.F., dan A.A.G.P. Wiraguna. 2017. Pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle*) secara topikal meningkatkan ketebalan epidermis, jumlah fibroblas, dan jumlah kolagen dalam proses penyembuhan luka pada tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*). *Jurnal E-Biomedik (eBm)*, 5 (1):1-7.
- Parampasi, N., dan T. Soemarno. 2013. Pengaruh pemberian ekstrak daun pepaya dalam etanol 70% pada proses penyembuhan luka insisi. *Majalah Patologi*. 22(1): 31-36.
- Pastar, I., L. Wong, A.N. Egger, and M. Tomic-Canic. 2013. Descriptive vs mechanistic scientific approach to study wound healing and its inhibition: *Exp Dermatol.* ;27(5):551–62.
- Pradhan, D., K. Suri, dan P. Biswasroy. 2013. Golden heart of the nature: *Piper betle* L. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1 (6):147–167.
- Retnaningsih, A., dan R. Dayanti, 2017. Uji daya hambat ekstrak etanol tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendes*) terhadap jamur *Candida Albicans* dan bakteri *Escherichia coli* dengan metode

- sumur difusi. *Jurnal Analis Farmasi*, 2 (2) 136-145.
- Ruswanti, E.O., Cholll, dan B.I. Sukmana. 2014. Efektivitas ekstrak daun pepaya (*Carica papaya*) 100% terhadap waktu penyembuhan luka, tinjauan studi pada mukosa mulut mencit (*Mus musculus*). *Dentino (Jur. Ked.Gigi)* 2: (2) 162-166.
- Sgonc, R., and J. Gruber. 2013. Age-related Aspects of cutaneous wound healing: A MiniReview', *Gerontology*, 59, 159-164.
- Shanmugam, S., T.S. Kumar, dan K.P. Selvan. 2010. *Laboratory handbook on biochemistry*. PHI Learning Pvt. New Delhi. 20-23.
- Soni, H., dan A.K. Singhai. 2013. A recent update of botanicals for wound healing activity. *Int Res J Pharm*, 3(7):1-6.
- Sucita, R.E., I.S. Hamid, dan F. Fikri, M.T.E. Purnama. 2019. Ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) secara topikal efektif pada kepadatan kolagen masa penyembuhan luka insisi tikus putih. *J. Med. Vet*, 2(2):119-126.
- Umar, A., D. Krihariyani, dan D.T. Mutiarawati. 2012. Pengaruh pemberian ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap kesembuhan luka infeksi *Staphylococcus aureus* pada mencit. *Jurnal Analisis Kesehatan*, 1 (2).
- Yenti, R., dan L. Afriani. 2011. Formulasi krim ekstrak etanol daun kirinyuh (*Euphatorium odoratum* L) untuk penyembuhan luka. *Majalah Kesehatan Pharma Medika*, 3(1):277-230.
- Yuliani, N.S., dan V. Lenda. 2012. Efek ekstrak etanol daun (*Chromolaena odorata*) terhadap kesembuhan luka insisi pada tikus sprague dawley. *Jurnal Kajian Veteriner*. Vol. 3 (2) : 93-99.
- Yunanda,V., dan R. Tristia. 2016. Aktifitas penyembuhan luka sediaan topikal ekstrak bawang merah (*Allium cepa*) terhadap luka sayat kulit mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Veteriner*, 17 (4): 606-614.