



Efektifitas Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) Terhadap Ketebalan Epitelisasi Pada Luka Insisi Mencit

Susi Yanuari Mustikasari¹, Ignatius Hapsoro Wirandoko¹, Ika Komala¹

¹ Fakultas Kedokteran Universitas Swadaya Gunung Jati Cirebon

ABSTRAK

Latar Belakang: Luka adalah hilang atau rusaknya sebagian jaringan tubuh. Penyembuhan luka terdapat tiga fase yaitu fase inflamasi, proliferasi, dan remodeling. Proses penyembuhan luka dapat dipercepat oleh obat tradisional, salah satunya daun afrika (*Vernonia amygdalina*). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) terhadap ketebalan epitelisasi pada luka insisi mencit. **Metode:** Penelitian ini menggunakan rancangan *post test only control group design*. Subyek penelitian ini menggunakan 25 ekor mencit (*Mus musculus*) dibagi lima kelompok, yaitu kelompok K(-), kelompok K(+), Perlakuan 1 (ekstrak daun afrika dosis 9%), perlakuan 2 (ekstrak daun afrika dosis 11%), perlakuan 3 (ekstrak daun afrika dosis 13%). Setelah itu jaringan kulit dibuat preparat untuk diamati ketebalan epitel. Uji statistik menggunakan *One Way ANOVA* untuk menguji rata-rata ketebalan epitel pada kelompok. **Hasil:** Dari hasil penelitian ini terdapat perbedaan secara bermakna antara kelompok perlakuan *p value* (0,00) dari hasil uji Anova. Rerata ketebalan epitelisasi terendah kelompok K(-) sebagai yang paling rendah, K(+), P1, dan P2 rerata ketebalan epitelisasi sedang, P3 sebagai yang paling tinggi. **Simpulan:** Terdapat perbedaan pemberian ekstrak daun afrika antara dosis 9%, 11% dan 13% dibandingkan kelompok kontrol terhadap ketebalan epitelisasi dan dosis 13% ekstrak daun afrika paling efektif.

Kata Kunci: Daun Afrika, Penyembuhan Luka, Ketebalan Epitelisasi.

ABSTRACT

Introduction: Wound is the loss or destruction of some tissues. Wound healing can be divided into three phases there are inflammation, proliferation, and remodeling phase. The wound healing process can also be accelerated by using traditional medication, one of them Africa leaf (*Vernonia amygdalina*). The aim of this study was to know the effectiveness of Africa leaf (*Vernonia amygdalina*) extract toward epithelial thickness on mice incision wound. **Methods:** This study used *post test control group only design*. Subject of this research used 30 mice (*Mus musculus*) divided to five groups, there were K group (-), K (+) group, P1 (African leaf extract dose 9%) group, P2 (African leaf extract dose 11%) group, P3 (African leaf extract dose 13%) group. Then the skin tissues were cut into preparations to be observed epithelial thickness. Statistical test used *One Way ANOVA* to test the average of epithelial thickness in the group. **Results:** The results showed significant difference between treatment groups *p value* (0,00) from Anova test result. The lowest average of epithelial thickness was K (-) group, the medium of epithelial thickness was K (+), P1, and P2 group, and the highest was P3 group. **Conclusions:** There were differences of giving Africa leaf extract between 9%, 11%, and 13% doses compared with control group toward epithelial thickness and the most effective of Africa leaf extract was 13% doses. **Keywords:** Africa leaf, Wound healing, epithelial thickness.

Latar Belakang

Luka adalah hilang atau rusaknya sebagian jaringan, keadaan ini dapat disebabkan oleh trauma atau ruda paksa. Luka dapat terjadi dalam kegiatan sehari-hari. Bentuk luka bermacam-macam bergantung penyebabnya, misalnya luka sayat atau *vulnus scissum* disebabkan oleh benda tajam, sedangkan luka tusuk yang disebut *vulnus punctum* akibat benda runcing. Proses penyembuhan luka terdiri dari

tiga fase yaitu fase inflamasi, fase proliferasi, fase *remodeling*.⁽¹⁾ Penyembuhan luka akan berhenti setelah terbentuk jaringan parut yang tidak sekuat jaringan awal. Saat ini pengobatan luka sudah banyak penelitian dengan menggunakan herbal tradisional, salah satunya daun afrika (*Vernonia amygdalina*) yang memiliki kandungan alkaloid, tannin, saponin, flavonoid dan senyawa tersebut memiliki efek

sebagai antioksidan yang mampu menyembuhkan luka.⁽²⁾

Survey *World Health Organization* (WHO) melaporkan bahwa angka kejadian infeksi luka operasi berkisar sekitar 15- 34%.⁽³⁾

Saat ini pengobatan luka insisi sudah banyak penelitian dengan menggunakan herbal tradisional, salah satunya daun afrika (*Vernonia amygdalina*) yang memiliki kandungan alkaloid, tannin, saponin, flavonoid dan senyawa tersebut memiliki efek sebagai antioksidan dan vitamin A yang mampu dalam menyembuhkan luka,⁽²⁾

Menurut *World Health Organization* (WHO), 80% populasi di Negara Asia dan Afrika menggunakan cara pengobatan tradisional yaitu obat herbal Karena lebih murah dan efek samping minimal.⁽⁴⁾

Karena latar belakang di atas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian terdapat efektivitas ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) terhadap ketebalan epitelisasi pada luka insisi mencit.

Tujuan penelitian ini adalah Untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) terhadap ketebalan epitelisasi pada luka insisi mencit.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *post test only control grup design*. Mencit dilakukan luka insisi pada bagian punggungnya, mencit diterminasi dan dilihat jaringan histopatologisnya pada hari ke 10. Penelitian ini menggunakan sampel 30 mencit (*Mus musculus*) jantan yang berumur antara 2-3 bulan dan dengan berat badan antara 20-30 gram.

Penelitian ini menggunakan 5 kelompok, yaitu 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan dilakukan secara *Simple random sampling* terdiri dari:

1. Kelompok 1 sebagai kontrol negatif yaitu mencit yang dilukai dan diberi Na CMC.+ glyserin ad
2. Kelompok 2 sebagai kontrol positif yaitu mencit yang dilukai dan diberi *povidone iodine* dengan dosis 10% + Na CMC + glyserin ad
3. Kelompok 3 sebagai kelompok perlakuan 1 yaitu mencit yang diberi ekstrak daun

Afrika dengan dosis 9 % + Na CMC + glyserin ad

4. Kelompok 4 sebagai kelompok perlakuan 2 yaitu mencit yang diberi ekstrak daun Afrika dengan dosis 11% + Na CMC + glyserin ad

5. Kelompok 5 sebagai kelompok perlakuan 3 yaitu mencit yang diberi ekstrak daun Afrika dengan dosis 13% + Na CMC + glyserin ad

Besar sampel yang diambil menurut WHO adalah 5 ekor tiap kelompok dan perkiraan *drop-out* 10%, jadi pada penelitian ini memakai jumlah sampel sebanyak 6 ekor tiap kelompok perlakuan.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pangan dan Gizi Pusat Antar Universitas (PAU) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta (UGM). Pembuatan ekstrak daun afrika dilakukan di Lansida Yogyakarta. Pengamatan Histopatologi di lakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Prosedur Penelitian

1. Pengumpulan Sampel Daun Afrika
Sampel berupa daun afrika segar didapatkan dari daerah Desa Losari. Sebanyak 4 kg daun afrika segar yang tidak terserang hama, penyakit, dan pencemar lainnya. Daun afrika dibawa ke Lansida Yogyakarta
2. Pembuatan Ekstrak Daun Afrika
Sampel daun Afrika dibersihkan dengan air mengalir hingga bersih, kemudian ditiriskan. Daun dipotong menjadi bagian bagian kecil dan dikeringkan dibawah sinar matahari. Daun afrika yang sudah kering dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi selama 3x24 jam dengan menggunakan pelarut etanol 70% oleh tenaga Laboratorium di lansida. Setelah dilarutkan disaring dengan kertas saring, filtrat ekstrak pelarut masing- masing yang diperoleh kemudian dievaporasi sehingga semua pelarut terpisah dari ekstrak dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator*.

Formulasi sediaan ekstrak daun afrika mengacu pada penelitian Ernawati dengan judul Uji Efek Penyembuhan Sediaan Gel

Ekstrak Etanol Daun Afrika Pada Mencit Jantan. Formulasi sebagai berikut

Tabel 1. Formula Ekstrak Etanol Daun Afrika

	Formula		
	EEDA 9%	EEDA 11%	EEDA 13%
EEDA	9 g	11 g	13 g
Na CMC	200 mg	200 mg	200 mg
Glyserin ad	100	100	100

EEDA= Ekstrak Etanol Daun Afrika

3. Pengadaptasian Mencit

Sebelum dilakukan perlakuan, semua mencit diadaptasikan di laboratorium PAU Universitas Gadjah Mada selama satu minggu di lingkungan barunya dan ditempatkan pada kandang dalam ruangan tertutup secara berkelompok dengan ventilasi yang cukup dan pencahayaan yang memadai, suhu berkisar 27°C, selama diadaptasi seluruh mencit diberi makan sesuai pakan standar.

4. Pembuatan Luka Insisi pada Mencit

Sejumlah 30 ekor mencit yang telah disiapkan kemudian bulu disekitar punggung mencit diolesi dengan alkohol. Selanjutnya mencit dianestesi dengan Lidocain 0,2cc hal ini bertujuan untuk menghilangkan rasa sakit. Punggung mencit kemudian dibuat sayatan dengan pisau belah steril (*scalpel*) dengan panjang 2 cm dengan ketebalan luka 2 mm.

5. Pemberian Ekstrak Daun Afrika

Mencit yang telah diinduksi luka sayat, dipisahkan secara random dibagi menjadi 5 kelompok. Mencit akan diberikan perlakuan dengan pemberian salep ekstrak daun Afrika masing-masing kelompok dengan dosis 9%, 11%, dan 13%. Pemberian gel tersebut dilakukan dengan cara mengoleskan di bagian luka pada punggung mencit, yaitu pada pagi pukul 08.00 WIB dan sore pukul 18.00 WIB dilakukan hingga hari ke 10 setelah perlakuan. Pada kelompok kontrol negatif (K-) yang hanya diberi Na CMC, kelompok positif (K+) diberikan olesan *povidone iodine* 10%. Untuk kelompok perlakuan (Kp1) diberikan ekstrak Daun Afrika dengan cara dioleskan dengan dosis 9%, kelompok perlakuan (KP2) diberikan ekstrak daun Afrika dengan cara dioleskan

dosis 11%, kelompok perlakuan (KP3) diberikan ekstrak daun afrika dengan cara dioleskan dengan dosis 13%.

6. Prosedur Pembuatan Preparat Histologi

Pada hari ke 10 mencit diterminasi dengan metode dislokasi servikal untuk dilakukan pemeriksaan histopatogisnya. Dilakukan eksisi pada seluruh ketebalan jaringan kulit yang diambil dari lokasi luka. Sediaan difiksasi dengan menggunakan larutan formalin 10% untuk dilakukan pewarnaan *Hematoksillin Eosin*.

7. Pengamatan Preparat Histopatologi

Pengamatan mikroskopis menggunakan mikroskop cahaya binokuler Leica DM500 dengan perbesaran 400x dengan alat bantu optilab. Ketebalan re epitelisasi dihitung dalam 3 lapang pandang setiap preparatnya pada tiap-tiap kelompok perlakuan. Pengukuran dilakukan pada tiga area berbeda yaitu sisi kiri, pertengahan, kanan. Setelah mendapat hasil pengukuran ketiga area tersebut diambil nilai rata-rata.

Penelitian ini telah disetujui Komisi Etika Penelitian Fakultas Kedokteran Unswagati dengan 84/EC/FK/XI/2017.

Hasil

1. Analisis Statistik

Tahap pertama dalam melakukan uji statistik adalah dengan melakukan uji normalitas yaitu dengan uji *Shpapiro Wilk* karena data yang diuji <50. Dari hasil uji normalitas didapatkan distribusi data normal karena memiliki $p=$ value $p>0.05$. Setelah dilakukan uji normalitas selanjutnya dilakukan uji homogenitas, hasilnya data tidak memiliki varian yang sama karena nilai $p<0.05$. Maka dilanjutkan dengan uji beda parametrik yaitu One Way ANOVA, kemudian dilanjutkan dengan uji Post Hoc Tamhane karena pada uji homogenitas didapatkan data tidak homogen yang bertujuan untuk mengetahui kelompok mana saja yang yang berbeda.

Tabel 2. Uji Normalitas Distribusi

Kelompok	N	P	Keterangan
K- (CMC)	5	0.340	Normal
<i>Povidone iodine</i>	5	0.263	Normal
P1 (9%)	5	0.740	Normal
P2 (11%)	5	0.431	Normal
P3 (13%)	5	0.355	Normal

Pada Tabel 2. Uji *Shpahiro Wilk* didapatkan *p value* yang didapatkan $p > 0,05$, maka dapat diambil kesimpulan bahwa kelima kelompok tersebut berdistribusi normal.

2. Uji One Way Anova

Tabel 3. Uji *One Way Anova*

Ketebalan Epitelisasi	Rerata	F	Sig
Between Group	2465,29	91,20	0,00
Within Group	27,03		

Berdasarkan tabel diatas, didapatkan nilai signifikan 0,00 atau $< 0,05$ artinya paling tidak terdapat dua kelompok yang mempunyai perbedaan rerata ketebalan epitelisasi yang berbeda bermakna. Untuk mengetahui perbedaan ketebalan epitelisasi antara kelompok maka dilanjutkan uji *Post Hoc*.

Tabel 4. Uji *Post Hoc Tamhane*

Kelompok	Perbedaan Rerata	Sig	
K-	K+	-3,60	0,51
	P1	-3,86	0,36
	P2	-23,33*	0,20
	P3	-52,93*	0,00
K+	K-	-3,60	0,51
	P1	-0,26	1,00
	P2	-19,73*	0,48
	P3	-49,33*	0,00
P1	K-	3,86	0,36
	K+	0,26	1,00
	P2	-19,46	0,61
	P3	-49,06*	0,01
P2	K-	23,33*	0,20
	K+	19,73*	0,48
	P1	19,46	0,61
	P3	-29,60*	0,03
P3	K-	52,93*	0,00
	K+	49,33*	0,00
	P1	49,06*	0,01
	P2	29,60*	0,03

Kelompok kontrol positif dan perlakuan 2, perlakuan 3 menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan karena nilai $p = 0,48$ dan $0,00$ ($p > 0,05$). Kelompok perlakuan 1 dan perlakuan 3 menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan karena nilai $p = 0,01$ ($p < 0,05$). Kelompok perlakuan 2 dan kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan 3 menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan karena nilai $p = 0,20$, $0,48$, $0,03$ ($p < 0,05$). Kelompok perlakuan 3 dan kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan 1, perlakuan 2 menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan karena nilai $p = 0,00$, $0,01$ ($p < 0,05$).

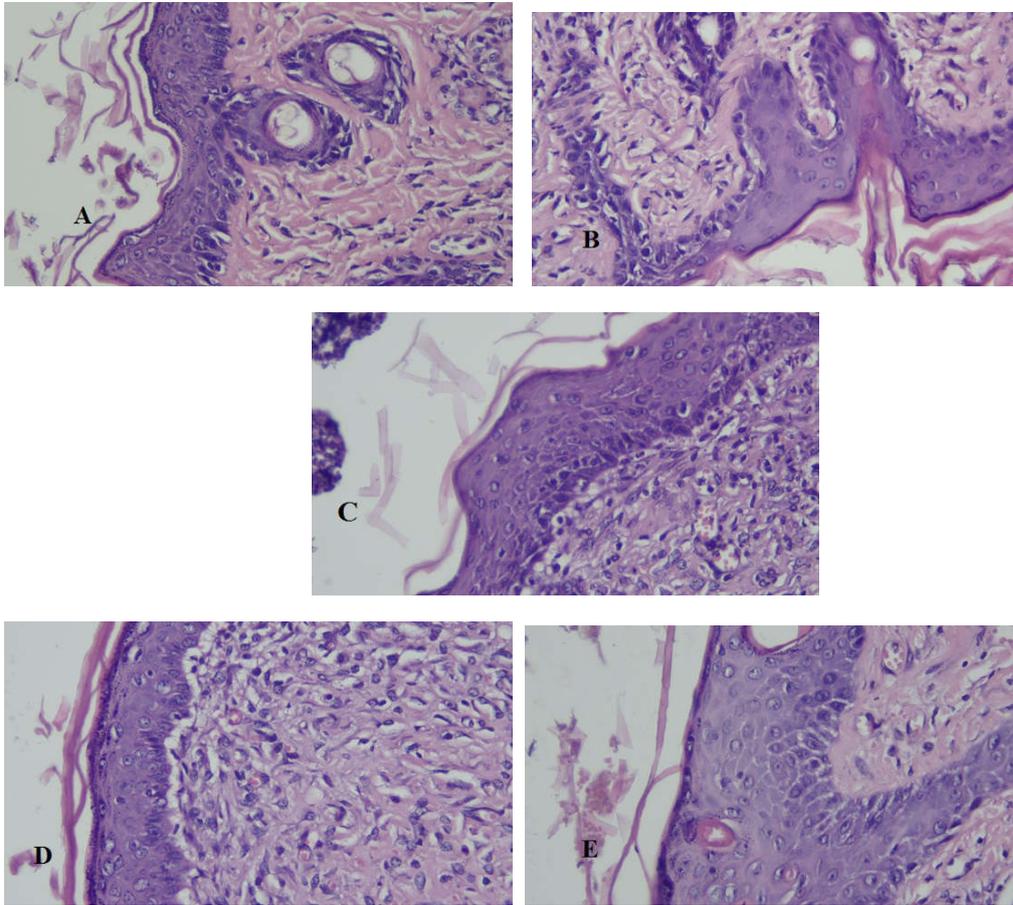
3. Rerata Ketebalan Epitelisasi pada Mencit yang diberi Ekstrak Daun Afrika dengan dosis bertingkat pada luka insisi

Tabel 5. Rerata Ketenalan Epitelisasi

Kelompok	Rerata Ketebalan Epitel	Simpang Baku	Interval Kepercayaan 95%	
			Batas Bawah	Batas Atas
K-	15,33	3,03	11,56	19,10
K+	18,93	2,27	16,10	21,76
P1 dosis 9 %	19,20	0,95	18,00	20,39
P2 dosis 11 %	38,66	8,37	28,26	49,06
P3 dosis 13 %	68,26	20,81	59,52	77,01

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan rerata ketebalan epitelisasi pada masing-masing kelompok mengalami kenaikan. Didapatkan hasil pada kelompok kontrol negatif sebesar $15,33 \mu\text{m}$, kelompok *povidone iodine* memiliki rerata sebesar $18,932 \mu\text{m}$, kelompok ekstrak daun afrika dengan dosis 9% memiliki rerata sebesar $19,20 \mu\text{m}$, kelompok ekstrak daun afrika dengan dosis 11 % memiliki rerata sebesar $38,66 \mu\text{m}$ dan kelompok ekstrak daun afrika dengan dosis 13% memiliki rerata sebesar $68,26 \mu\text{m}$.

4. Pengamatan Mikroskopis



Gambar 1. Gambaran Mikroskopis Histopatologi Bekas luka Insisi Mencit

Keterangan: Gambar A (Gambaran mikroskopis bekas luka Insisi dengan kontrol negatif); Gambar B (Gambaran mikroskopis bekas luka insisi dengan povidone iodine); Gambar C (Gambaran mikroskopis bekas luka Insisi dengan ekstrak daun afrika dosis 9%); Gambar D (Gambaran mikroskopis bekas luka Insisi dengan ekstrak daun afrika dosis 11%); Gambar E (Gambaran mikroskopis bekas luka Insisi dengan ekstrak daun afrika dosis 13%).

Pembahasan

Proses re-epitelisasi akan menghasilkan kembali lapisan epidermis yang utuh untuk menutup luka sehingga dapat terlindungi dari lingkungan luar. Proses reepitelisasi terdiri dari fase migrasi, proliferasi dan diferensiasi keratinosit.⁽⁵⁾ Pada penelitian ini menggunakan ekstrak daun afrika (*vernonia amygdalina*) dengan dosis 9%,11%,13%. Daun Afrika memiliki kandungan senyawa kimia yaitu flavonoid, tannin, saponin, glikosida, senyawa tersebut berperan terhadap anti inflamasi dan juga antioksidan, Tannin, flavonoid yang mampu menunjukkan hasil positif terhadap bakteri dan

memiliki aktivitas antibakteri dan juga bertanggung jawab terhadap peningkatan ketebalan epitelisasi.^{(6),(7)}

Hasil penelitian dari kelompok negatif, dengan ketebalan epitelisasi yang tipis karena mencit hanya diberi gel dengan basis dasar Na CMC dan glyserin ad. Na CMC dan glyserin yang tidak memiliki senyawa aktif seperti anti inflamasi dan anti mikroba dalam proses penyembuhan luka. Na-CMC digunakan sebagai *gelling agent* dan merupakan basis yang berperan dalam muco adhesive dan menyerap air.⁽⁸⁾

Hasil yang tidak jauh berbeda yang didapatkan pada kelompok pemberian povidone iodine rerata ketebalan epitelisasi sebesar 18,93 μm . Povidone iodine yang tidak memiliki anti inflamasi hanya sebagai antiseptik untuk mencegah tidak terjadi infeksi dan tidak dapat memilih sel mikroba saja maka sel-sel sehatpun menjadi sasaranhal ini dapat berakibat pada tergangguya sintesis kolagen menjadi bahan toksis pada fibroblast, dan mengganggu migrasi sel-sel epitel. Terganggunya sintesis kolagen, fibroblast, serta migrasi sel-sel epitel, secara langsung berpengaruh pada penurunan epitelisasi yang akan berakibat pada tipisnya ketebalan epitelisasi.⁽⁹⁾

Pada kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak daun afrika memiliki rerata ketebalan epitelisasi yang paling tebal dibandingkan kelompok kontrol. Daun afrika mempunyai kandungan senyawa aktif dalam ketebalan epitelisasi salah satunya flavonoid, tannin, saponin yang memiliki sifat antimikroba, dan antioksidan. Saponin dan tannin merupakan senyawa aktif bersifat fenol yang memiliki sifat antibakteri yang mempercepat dalam proses penyembuhan luka. Selain itu daun afrika memiliki kandungan senyawa kimia lainnya yaitu vitamin A. Vitamin A berperan pada fase proliferasi dan epitelisasi.⁽¹⁰⁾

Struktur kulit (epitelisasi) pada kelompok perlakuan mengalami percepatan dibandingkan dengan kelompok kontrol karena pada kelompok perlakuan terdapat kandungan senyawa saponin juga membantu merangsang pembentukan sel epitel yang baru dan mendukung proses reepitelisasi Hal demikian juga diperkuat dengan teori, pada fase proliferasi.⁽¹⁰⁾

Daftar Pustaka

1. Sjamsuhidajat R. *Buku Ajar Ilmu Bedah*. Edisi III. Jakarta: EGC; 2010.88-100.
2. Kusuma F. Efek Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) Pada Mencit Swiss Webster Jantan. *African J Biotechnol*. 2015;2(1):45-55.
3. WHO. *Research Guidelines for Evaluating the Safety and Efficacy of Medicines*. Who; 1993.
4. WHO. Surgical Care at District Hospital. *Who*. 2013;39(222):78.
5. Kalangi SJR. Peran Integrin pada Angiogenesis Penyembuhan Luka. 2011;38(177-179).
6. Ijeh II, Ejike CECC. Current perspectives on the medicinal potentials of *Vernonia amygdalina* Del. *J Med Plants Res*. 2011;5(7):1051-1061.
7. Barku VY. Phytochemical screening and assessment of wound healing activity of the leaves of *Anogeissus leiocarpus*. *Pelagia Res Libr*. 2013;3(4):18-25.
8. Rowe RC. *Handook of Pharmaceutical Excipient*. Edisi IV. London: Phamaceutical Press; 2009.

Kandungan saponin berperan dalam mekanisme penyembuhan luka pada fase proliferasi dengan cara menstimulasi produksi kolagen I yang mana akan berperan penting dalam penutupan luka dan peningkat re-epitelisasi jaringan. Pada kelompok penelitian yang diberi saponin memperlihatkan migrasi sel-sel keratosit dibandingkan kelompok kontrol positif. Hasil penelitian tersebut bahwa saponin meningkatkan kecepatan sel keratosit yang berperan dalam epitelisasi.⁽¹¹⁾

Tannin berperan dalam proses penyembuhan luka sayat karena bermanfaat sebagai astir-gen yang menyebabkan permeabilitas mu-kosa akan berkurang dan ikatan antar mukosa menjadi kuat sehingga mikroorganisme dan zat kimia iritan tidak dapat masuk ke dalam luka. Senyawa anti-bakteri tersebut membantu mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga menghambat permeabilitas bakteri untuk berkembang.⁽¹¹⁾

Flavonoid memiliki sifat antioksidan, senyawa fenol yang ber-sifat sebagai antiinflamasi, minyak atsiri dari daun sirih juga dapat digunakan sebagai antijamur dan antioksidan.⁽¹⁰⁾

Simpulan

Hasil penelitian didapatkan ada perbedaan rerata ketebalan epitelisasi ($p < 0,05$) pada mencit yang diberi ekstrak daun Afrika yaitu (P1 19,20 μm), (P2 38,66 μm), (P3 68,26 μm), dan kelompok kontrol positif rerata sebesar 18,93 μm . Ekstrak daun Afrika dengan dosis 13% lebih efektif dibandingkan dengan dosis 9% dan 11% terhadap ketebalan epitelisasi

9. Sibbald R, Leaper D, Queen D. Iodine Made Easy. *Wounds Int.* 2011;2(2):1-6.
10. Yeap SK. Vernonia amygdalina, an ethnoveterinary and ethnomedical used green vegetable with multiple bio-activities. *J Med Plants Res.* 2010;4(25):2787-2812. http://www.academicjournals.org/article/article1380714162_Yeap%2520et%2520al.pdf.
11. Imas S. Pengaruh Tumbukan Daun Sirih Terhadap Proses Percepatan Penyembuhan Luka iNsisi. *sun.* 2015;2(4): 5-7