

EFIKASI KRIM EKSTRAK BUAH BERENUK (*Crescentia cujete L.*) TERHADAP HISTOPATOLOGI LUKA INSISI PADA KULIT TIKUS *Sprague Dawley*

Farel Tedyan Akbar Putra Ma'arie 1*

^{1*} Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya
email: farel123@gmail.com

Abstract

*Wounds are one of the cases that are often found in clinics and one type of wound that often occurs is incisional wounds. Healing wounds requires serious treatment, one of which is with berenuk fruit (*Crescentia cujete L.*). This study aims to determine the efficacy of berenuk fruit extract cream on the histopathology of incisional wounds on the skin of Sprague Dawley rats. This research is a type of experimental research with a sampling technique using a Completely Randomized Design (CRD). This study used 20 male Sprague Dawley rats. Mice were divided into several groups, namely K- (healthy mice), K+ (rats incised without therapy), T1 (rats incised + 1% berenuk fruit extract), and T2 (incised mice + 2% berenuk fruit extract). Mice were treated for 14 days and the skin was taken on the 15th day. The skin was processed histopathologically with Hematoxylin and Eosin staining. Data were analyzed using the Kruskal Wallis and Mann Whitney U tests. The results showed that the highest wound inflammation parameter scores occurred in the K and T2 groups, the lowest was K+. The results of inflammation score analysis using the Mann-Whitney method showed that the concentration of berenuk fruit extract in the T2 group was different from K+ and T1 (P0.05). The conclusion of this research is that berenuk fruit extract has the potential to be used as a microscopic therapy for incisional wounds in mice.*

Keywords: *angiogenesis, inflammation, berenuk fruit extract cream, incisional wounds, re-epithelialization*

PENDAHULUAN

Luka merupakan salah satu kasus yang sering ditemukan ditempat praktek atau klinik dokter hewan. Abdurrahmat (2014), menyatakan bahwa luka merupakan suatu keadaan yang ditandai dengan rusaknya integritas jaringan tubuh. Salah satu jenis luka yang sering terjadi adalah luka insisi. Luka insisi adalah rusaknya jaringan tubuh yang disebabkan oleh trauma benda tajam. Luka yang tidak diobati akan menyebabkan infeksi, pendarahan dan kematian.

Penyembuhan luka adalah regenerasi jaringan, yang terdiri dari lima fase dalam penyembuhan luka. Fase penyembuhan tersusun atas hemotasis, inflamasi, proliferasi,

maturasi dan remodeling. Hemotasis adalah proses pembekuan darah untuk mencegah pendarahan (young and McNaught, 2011). Inflamasi yaitu mekanisme peningkatan aliran darah disertai dengan inflamasi sel radang poli morponuklear pada jaringan luka (Orsted, 2018). Proliferasi merupakan mekanisme deposisi kolagen jaringan luka. Maturasi yaitu mekanisme pendewasaan sel pada jaringan luka. Remodeling adalah mekanisme akhir kesembuhan jaringan ditandai dengan perbaikan jaringan luka agar menyerupai jaringan sebelum kondisi terbentuknya luka.

Buah berenuk (*Crescentia cujete L*) merupakan salah satu tanaman yang dapat menyembuhkan luka. Buah berenuk mengandung senyawa fenol, tanin, saponin, alkaloid, flavonoid, antrakuinon, kardenolida,

florotanin. Senyawa ini berperan penting dalam membantu penyembuhan luka. Selain itu, senyawa flavonoid yang ditemukan dapat bertindak sebagai antioksidan dan melindungi sel-sel tubuh dari radikal bebas (Ejelonu *et al.*, 2011).

Berenuk telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional, baik bagian daging buah, daun, kulit batang, maupun akarnya (Alay-ay *et al.*, 2016). Ekstrak buah berenuk memiliki senyawa fitokimia yang penting bagi aktivitas biologis tanaman terhadap kesembuhan luka. Salah satu contohnya flavonoid yang berperan dalam melindungi makhluk hidup dari radikal bebas (Syaefudin *et al.*, 2014, Sulistiyani *et al.*, 2014). Flavonoid juga dapat berperan sebagai antibakteri (Parvin *et al.*, 2015). Saponin dikenal sebagai antibiotik alami dan antiinflamasi (Ejelonu *et al.*, 2011). Tanin berperan dalam penyembuhan selanjutnya mencegah terjadinya infeksi bakteri (Ogbuagu, 2008). Steroid khususnya senyawa α -spinasterol, berfungsi sebagai analgesik, antiinflamasi dan antiedematogenik (Freitas *et al.* 2009, Lee *et al.* 2012, Trevisan *et al.* 2012, Borges *et al.* 2014).

Senyawa yang terkandung pada buah berenuk diharapkan dapat berpotensi dalam mendukung kesembuhan luka insisi pada tikus *Sprague Dawley*. Berdasarkan latar belakang di atas maka penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efikasi krim ekstrak buah berenuk terhadap histopatologi luka insisi pada kulit tikus *Sprague Dawley*.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya. Dan Penelitian dilakukan selama 1 bulan. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang untuk hewan coba, tempat makan dan minum, scapel, pinset, gunting bedah, timbangan gram, penggaris, spuit 1cc, kassa steril, pinset, blander, nampan, gelas ukur, oven, mikroskop, object glass, autoclave, kliper. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah cover glas, sarung tangan glove, tikus *Sprague Dawley*, silet, sebanyak 20 ekor dengan berat 120- 150 gram dengan kriteria sehat dan aktif, pakan pelet, air minum, sekam, alcohol 70%, jaringan

kulit tikus, formalin 10%, ekstrak buah berenuk *Crescentia Cujute L*, ketamin, Vaseline.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan teknik pengambilan sampel menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini menggunakan tikus *Sprague Dawley* yang dibagi menjadi beberapa kelompok ulangan dan perlakuan yaitu Kontrol negatif Tikus *Sprague Dawley* yang tidak diinsisi, dan tidak diberikan terapi ekstrak buah berenuk *Crescentia kujute L*. Kontrol positif Tikus *Sprague Dawley* yang di insisi dan tidak diberikan terapi ekstrak buah berenuk *Crescentia kujute L*. Terapi 1 Tikus *Sprague dawley* yang diinsisi serta dilakukan terapi ekstrak buah berenuk *Crescentia Cujute L* dengan konsentrasi 1%. Terapi 2 Tikus *Sprague Dawley* yang diinsisi serta dilakukan terapi ekstrak buah berenuk *Crescentia kujute L* dengan konsentrasi 2%.

Berdasarkan uraian dalam penelitian terdapat 3 variabel, maka dalam hal ini peneliti menggunakan 3 variabel penelitian sebagai berikut: variabel bebas yaitu konsentrasi krim buah berenuk, variabel terikat yaitu perlekatan luka dan panjang luka, variabel kontrol yaitu berat badan dan umur tikus putih, pengukuran luka. Jumlah sampel dihitung dengan Rumus Federer = $(n-1) k \geq 16$. Keterangan = n: Ulangan, k: Kelompok perlakuan. Hasil perhitungan Rumus Federer sebagai berikut = $(n-1) k \geq 16 = (n-1) 4 \geq 16 = 4n-4 \geq 16 = 4n \geq 16 = n = 5$ ekor.

Untuk persiapan hewan coba, tikus di adaptasi di Laboratorium Farmakologi FKH UWKS selama 7 hari. Sebelumnya dilakukan pencukuran bulu pada bagian punggung berbentuk kotak. Kemudian dilakukan desinfeksi dengan alcohol 70%. Prosedur indikasi luka, tikus di anastesi dengan Ketamin, (dosis 50 mg/kgBB) dan Xylazine (dosis 4 mg/kgBB). Selanjutnya, tikus diletakkan rebah ventral. Bagian punggung tikus diinsisi dengan blade sepanjang 1 cm. Insisi dilakukan secara Full Thickness. Luka dibiarkan terbuka tanpa dressing.

Proses Pembuatan krim dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya Buah berenuk dikupas, dipotong, dimasukkan ke dalam blender untuk dan diekstraksi dengan alcohol 70%. Ekstrak

buah berenuk dibuat menjadi krim dengan konsentrasi 1% sd 2%. Krim dibuat dari campuran ekstrak buah berenuk, asam stearat, kalium hidroksida (KOH), gliserin, metil paraben, propil paraben, dan air. Dengan cara maserasi kemudian krim di timbang seberat 0,167 0,25 0,375 yang di larutkan dalam 10 gram basis biocream. Luka insisi diterapi dengan krim berbagai konsentrasi. Terapi dilakukan sebanyak 1 kali 1 hari pada pukul 09.00 WIB. Terapi dilakukan sesuai dengan kelompok perlakuan (Tabel 3.1). Terapi dilakukan selama 14 hari.

Pembuatan preparat histopatologi dilaksanakan di laboratrium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Wijaya Kusuma Surabaya. Cara pembuatannya melalui beberapa tahap sebagai berikut: Spesimen yang telah dikumpulkan disimpan dalam bufer netral formalin 10%, didehidrasi, diblok dalam parafin, dan dipotong menggunakan mikrotom untuk pewarnaan H&E dan IHC. Pewarnaan IHC menggunakan antibody monoklonal untuk CD4+ (anti tikus CD4+, Novocastra, RTU-CD4-1F6, Cat. number PA0427) dan CD8+ (anti-rat CD8+, Novocastra, RTU-CD8-295, Cat. Number PA0183).

Parameter yang di ukur adalah adanya perubahan pada gambaran histopatologi kulit dengan kondisi luka insisi dengan membandingkan kelompok pelakuan. Parameter yang diamati yaitu infalamasi, reepitilisasi, dan angiogenesis. Metode pengamatan dilakukan dengan skor Metode skor dilakukan sebagai berikut skor 1 TAP/Normal, skor 2 Terjadi perubahan di 1-30% arah luka, skor 3 Terjadi perubahan di 31-60% arah luka, dan skor 4 Terjadi perubahan di > 60% arah luka. Analisis data dilakukan dengan SPSS versi 26. Uji statistik dilakukan dengan uji Kruskal Wallis dan Mann Whitney U test. Derajat kepercayaan yang dijawab yaitu 95% dengan $X = 0,05$

HASIL

Hasil penelitian memperlihatkan hasil skor parameter inflamasi luka tertinggi terjadi pada kelompok K- dan T2, yang terendah pada K+. Hasil analisis skor inflamasi menggunakan metode Mann-Whitney menunjukan bahwa

konsentrasi ekstrak buah berenuk pada kelompok T2 berbeda dengan K+ dan T1 ($P < 0,05$). Skor angiogenesis tertinggi di tunjukan oleh kelompok K+, sedangkan yang terendah yaitu pada kelompok K- ($P < 0,05$). Hasil analisis memperlihatkan hasil skor angiogenesis, reepitelisasi memiliki pola serupa dengan memperlihatkan jika kelompok T2 mendukung reepitelasi yang terbaik ($P < 0,05$). Secara kualitatif histopatologi kulit pasca terapi dengan krim buah berenuk (Gambar 4.1). Rerata dan standar deviasi skor inflamasi, angiogenesis dan reepitelisasi pasca terjadi.

Tabel 1. Rerata dan standar deviasi skor histopatologi kulit tikus pasca terjadi dengan krim ekstrak krim buah berenuk

	Inflamasi	Angiogenesis	Reepitilisasi
K-	1.00 ± 0.00 ^a	1.00 ± 0.00 ^a	1.00 ± 0.00 ^a
K+	2.200 ± 4.4721 ^b	2.200 ± 4.4721 ^b	3.600 ± 5.4772 ^b
T1	1.800 ± 4.4721 ^c	1.400 ± 5.4772 ^a	2.400 ± 5.4772 ^c
T2	1.00 ± 0.00 ^a	1.00 ± 0.00 ^a	1.00 ± 0.00 ^a

Keterangan : K- = tikus yang sehat dan tidak di beri perlakuan, K+ = tikus yang di insisi dan di beri terapi krim ekstrak buah berenuk, T1 = tikus di insisi dan di beri krim ekstrak buah berenuk 1%, T2= tikus di insisi dan di beri terapi krim ekstrak buah berenuk 2%. A,B,C superskip berbeda menunjukan perubahan yang nyata ($P < 0,05$)

PEMBAHASAN

Fase inflamasi terbagi dua yaitu haemotasis dan fase inflamasi akhir pada saat jaringan luka pembuluh darah telah membentuk. Pada fase homeostasis, tubuh berusaha menghentikan pendarahaan dengan cara membuat koagulasi intrinsik dan ekstrinsik yang mengarah pada agregasi platelet dan formasi clot vasokonstriksi (Johnson dan Wilgus, 2013). Fase ini selanjutnya di ikuti dengan fase inflamasi (Orsted, 2018). Fase inflamasi ini dimulai setelah terjadinya trauma sampai hari ke-5 pasca trauma. Tujuan fase ini adalah menyingkirkan jaringan yang mati dan mencegah kolonisasi agen mikrobial (Guther, 2007). Neutrofil akan menginvasi daerah radang melisiskan semua debris dan bakteri. Neutrofil, limfosit dan makrofag adalah sel radang yang pertama kali akan mencapai pada

daerah luka dengan fungsi utama untuk melawan infeksi dan membersihkan debris matriks seluler dan benda-benda asing (Landén et al., 2016). Angiogenesis adalah proses pembentukan pembuluh darah baru pada jaringan luka. Pada saat angiogenesis, terjadi pertumbuhan pembuluh kapiler yang saling terhubung dan membentuk vaskular yang bersifat tidak tepat pada jaringan yang mengalami luka. Faktor yang menghambat mekanisme angiogenesis pada penyembuhan luka antara lain tingginya kadar laktat, pH, ROS, dan penurunan tekanan oksigen jaringan (Rohmah et al., 2016).

Sitokin dan faktor pertumbuhan yang terlibat dalam proses angiogenik termasuk 6-fibroblas Growth factor (bFGF), Transforming Growth Factor- B ($TGF\alpha$, $TGF\beta$), Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) (Ramasastry et al., 2005). Fase proliferasi meliputi angiogenesis dan re-epitelisasi untuk mengembalikan integritas kulit. Pada tahap akhir, jaringan luka mengalami remodeling, yaitu pematangan jaringan, dan kulit dikembalikan ke keadaan normal sesuai dengan kondisi kulit sebelum luka (Broughton et al., 2006). Kegagalan dalam salah satu langkah penyembuhan, terutama pada proses angiogenik, mengakibatkan luka tidak sembuh sempurna sehingga mengakibatkan luka kronis (Johnson dan Wilgus, 2013). Proses angiogenesis dikendalikan oleh perubahan tingkat molekul pro dan anti-angiogenik yang ada di lingkungan mikro di sekitar pembuluh darah. Agen anti-angiogenik termasuk angiostatin, dan trombospondin-1. Kelangsungan hidup pembuluh darah diperkirakan terjadi selama fase remodeling. Cedera kulit merangsang angiogenesis melalui peningkatan produksi beberapa mediator proangiogenik, termasuk VEGF (Johnson dan Wilgus, 2014). Fase proliferasi, epitelisasi, merupakan faktor penting yang menjadi parameter penentu keberhasilan penyembuhan luka. Jika luka tidak mengalami reepitelisasi,

Abdurrahmat, A. S. 2014., Luka, Peradangan dan Pemulihan. *Junal Entropi*. 1 (9). Andreollo NA, Santos EF, Araújo MR, Lopes 144 LR ., 2012. Rat's age versus human's age: what is the relationship?. *Arq Bras Cir Dig*. 25:49–51. doi:10.1590/s0102- 67202012000100011.

maka luka tersebut tidak dianggap sembuh. Re-epitelisasi adalah tahap perbaikan luka yang melibatkan rekrutmen, migrasi, mitosis, dan diferensiasi sel epitel (Isrofah, 2013). Mekanisme ini mengembalikan integritas kulit yang hilang. Inisiasi re-epitelisasi kulit terjadi melalui migrasi sel epitel dari tepi jaringan normal menuju jaringan yang rusak. Penyembuhan luka sangat dipengaruhi oleh reepitelisasi. Hal ini dikarenakan semakin cepat proses re-epitelisasi terjadi, maka semakin cepat pula penyembuhan luka. Epitelisasi terjadi, maka semakin cepat pula penyembuhan luka. Kecepatan penyembuhan luka dapat dipengaruhi oleh zat yang terkandung dalam obat yang diberikan, jika obat tersebut mempunyai kemampuan untuk mempercepat penyembuhan dengan merangsang pertumbuhan cepat sel-sel baru di dalam kulit (Isrofah, 2013). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian krim ekstrak buah berenuk mempunyai efek penyembuhan luka. Pemberian krim ekstrak buah berenuk konsentrasi 1% (T1) memiliki efektifitas penyembuhan luka yang hampir sama dengan perlakuan krim berenuk konsentrasi 2 %. Kelompok tanpa perlakuan menunjukkan tingkat kesembuhan luka paling lambat di dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain. Skor histopatologi kesembuhan luka dengan krim ekstrak berenuk 2 % hampir sama dengan tikus dengan kulit sehat. Adapun hasil uji pemberian krim konsentrasi berbeda ini menunjukkan bahwa krim ekstrak buah berenuk dengan konsentrasi 1% dapat di jadikan obat alternatif herbal karena potensinya yang baik dan konsentrasinya yang kecil.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian di simpulkan bahwa terdapat efikasi krim ekstrak buah berenuk terhadap histopatologi luk Insisi pada kulit tikus *Sprague Dawley*.

REFERENSI

Ejelonu B. C., Lasisi A.A., Olaremu A. G., and Ejelonu OC., 2011. The chemical constituents of calabash (*Crescentia cujete* L.). *African Journal of Biotechnology*. Academic Journals .10(84): 19631-19636. Etanol Daun Berenuk Terhadap Sel Kanker. *Farmasains*. 2 (4), 191-194.

- Freitas CS, Baggio CH, Dos Santos AC, Mayer B, Twardowschy A, Luiz AP, Marcon R, Soldi C, Pizzolatti MG, Dos Santos EP, Marques MC, Santos ARC., 2009. Antinociceptive properties of the hydroalcoholic extract, fractions and compounds obtained from the aerial parts of *Baccharis illinita* DC in mice. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*. 104(4):285.
- Ogbuagu, M. N., 2008. The Nutrivite and Antinutrivite Composition of Calabash. *Journal of animal and veterinary advances*. 7 (9): 1069-1072.
- Parvin N. S., Das N., J. M. Akhter M.A., 2015. Evaluation of in vitro antiinflammatory and antibacterial potential of *Crescentia cujete* leaves and stem. *BMC res notes* 8(1): 412 DOI: 10.1186/s13104-015-1384,2012-08.
- Syaefudin, Wahyuni WT, Artika IM, Sulistiyani., 2014. Antioxidant activity of flavonoid from *Guazuma ulmifolia* Lamk. leaves and apoptosis induction in yeast cells. *Journal of Biological Sciences*. 4(4):305-30
- Young, A., dan McNaught, C.E., 2011. The physiology of wound healing. *Surgery*. 29 (10): 475-47.