

## UJI EKSTRAK GETAH BIDURI (*Calotropis gigantea*) TERHADAP SEL FIBROBLAS GINGIVA TIKUS WISTAR PADA PENYEMBUHAN LUKA

\*Zahara Meilawaty

\*Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

### Abstrak

Biduri merupakan tanaman obat di Indonesia, yang getahnya bisa digunakan sebagai obat sakit gigi dengan cara meneteskan getahnya pada bagian yang sakit, dan juga dapat menyembuhkan luka. Luka merupakan kerusakan atau hilangnya hubungan antar jaringan. Sebagai respon terhadap cedera/luka, fibroblas berproliferasi dan lebih aktif mensintesis komponen matriks. Adanya proliferasi fibroblas dan serabut kolagen pada daerah luka menyebabkan jaringan di atasnya berwarna kemerahan dan luka mulai menutup. **Tujuan:** Untuk mengetahui potensi ekstrak getah biduri (*Calotropis gigantea*) terhadap jumlah fibroblast gingiva tikus wistar pada proses penyembuhan luka. **Bahan dan cara:** Penelitian ini menggunakan tikus putih *strainwistar* jantan sebanyak 48 ekor, umur 3 bulan. Perlukaan dibuat dengan cara melakukan *punch biopsy* ( $\varnothing$  2,5 mm) pada mukosa gingiva rahang bawah dengan cara diputar sampai menyentuh tulang. Selanjutnya dibagi menjadi 4 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 12 tikus: (a) kelompok kontrol negatif (-), tidak diberi terapi; (b) kelompok kontrol positif (+), diberi ibuprofen dosis 108 mg/kg BB; (c) diberi ekstrak getah biduri 50 mg/KgBB; (d) diberi ekstrak getah biduri 500 mg/kg BB. Tiga ekor tikus dari tiap kelompok didekaputasi pada hari ke-2, ke-4, ke-8, dan ke-15 setelah perlukaan. Selanjutnya diambil rahang bawahnya untuk dibuat sediaan jaringan untuk pengamatan histologis. **Hasil:** Rerata sel fibroblas tertinggi pada hari ke-2 dan ke-4 terdapat pada kelompok ekstrak getah biduri 500 mg/KgBB, sedangkan pada hari ke-8 dan ke-15 rerata sel fibroblas tertinggi terdapat pada kelompok kontrol (+). **Kesimpulan:** pemberian ekstrak getah biduri memiliki potensi terhadap peningkatan jumlah sel fibroblas.

**Kata Kunci :** Biduri, Luka, Fibroblas

### Abstract

*Biduri is a medicinal plant in Indonesia, the sap can be used as a toothache remedy by way of dripping sap on the sick, and can also heal wounds. Injuries is damage or loss of network relationships. In response to injury/ wound, fibroblasts proliferate and synthesize more active matrix components. Presence of fibroblast proliferation and collagen fibers in the injured area causing redness tissue on it and the wound closed. Objective: To determine the potential of sap extract Biduri (*Calotropis gigantea*) against the number of fibroblasts in the wound healing process in experimental animals gingiva. Material and methods: This study used male Wistar strain rats as much as 48 individuals, aged 3 months. Injury was made by means of punch biopsy ( $\varnothing$  2.5 mm) on the mandibular gingiva mucosa rotated by touching the bone. Further divided into 4 groups, each group consisting of 12 rats: (a) negative control group (-), no treatment was given; (b) the positive control group (+), given a dose of ibuprofen 108 mg / kg; (c) given Biduri sap extract 50 mg/KgBW; (d) given Biduri sap extract 500 mg / kg. Three rats from each group were decapitation on the 2nd day, the 4th, 8th, and 15th after injury. Subsequently taken to his lower jaw tissue preparations were made for histological observation. Results: The mean highest fibroblast cells on the 2nd and 4th day are those of sap extract Biduri 500 mg / KgBW, whereas on 8th and the 15<sup>th</sup> day highest average fibroblasts present in the control group (+). Conclusion: Biduri sap extract has the potential to increase the number of fibroblast cells.*

**Keywords :** Biduri, Wounds, Fibroblasts

## PENDAHULUAN

Penggunaan tanaman atau ekstrak tanaman untuk pengobatan telah berlangsung lama, herbalisme serta obat rakyat baik yang kuno maupun yang modern merupakan sumber terapi yang banyak gunanya. Tanaman biduri (*C. gigantea*) merupakan salah satu tanaman obat di Indonesia yang dapat digunakan sebagai obat alternatif untuk antiinflamasi dan sakit gigi. Tanaman biduri banyak ditemukan di daerah bermusim kemarau panjang, seperti padang rumput yang kering, lereng-lereng gunung yang rendah, dan pantai berpasir. Biduri merupakan tanaman bergetah, getah dari tanaman ini akan keluar jika salah satu bagiannya dilukai. Getah biduri mengandung enzim bakteriolitik, kalaktin glikosida yang sangat toksik (pada penambahan konsentrasi untuk membasmi serangga dan belalang), kalotropin DI, kalotropin DII, kalotropin FI, kalotropin FII, dan enzim proteolitik kalotropin yang tidak toksik (2-3%) yang menyerupai papain, serta mengandung glikosida jantung atau kardenolid yang menyerupai digitalis.<sup>1,2</sup> Getah biduri biasanya digunakan untuk pengobatan bisul, eksim, dan luka di kaki secara lokal, serta bisa digunakan sebagai obat sakit gigi dengan cara meneteskan getahnya pada bagian yang sakit. Getah biduri juga bisa digunakan untuk menyembuhkan luka.<sup>1,2,3</sup> Getah biduri mengandung enzim bakteriolitik, kalotropin (enzim proteolitik yang menyerupai papain) yang memperlihatkan anti tumor terhadap sel epidermis karsinoma nasoparing dan juga berperan pada proses inflamasi serta juga

dapat menurunkan waktu koagulasi plasma sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan.<sup>1,4</sup> Tetapi mekanisme kerja getah biduri itu sendiri terhadap penyembuhan luka sampai saat ini belum diketahui.

Luka merupakan kerusakan atau hilangnya hubungan antar jaringan (*discontinuous tissue*) seperti jaringan kulit, jaringan lunak, jaringan otot, jaringan pembuluh darah, jaringan saraf dan tulang. Luka ini dapat disebabkan oleh trauma benda tajam atau tumpul, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik, atau gigitan hewan.<sup>5</sup> Perukaan yang biasanya terjadi di kedokteran gigi adalah luka pada jaringan lunak, contohnya pada gingiva yang terjadi karena pencabutan gigi ataupun biopsi.

Proses yang kemudian terjadi pada jaringan yang luka atau rusak ialah penyembuhan luka. Penyembuhan luka melibatkan proses dasar biokimia dan seluler. Proses fisiologis penyembuhan luka meliputi 4 fase utama, yaitu fase inflamasi akut, fase destruktif, fase proliferasi, dan fase maturasi. Dalam kenyataannya, fase-fase penyembuhan tersebut saling tumpang tindih dan durasi dari setiap fase serta waktu untuk penyembuhan yang sempurna tergantung dari banyak faktor. Proses awal setelah terjadinya luka mencakup hemostasis, pelepasan histamine dan mediator lain dari sel yang rusak, dan migrasi sel darah putih (leukosit polimorfonuklear dan makrofag) ke tempat yang rusak. Setelah itu terjadi pembersihan jaringan yang mati dan yang mengalami devitalisasi oleh leukosit polimorfonuklear dan

makrofag. Selain itu, sel-sel tersebut juga merangsang aktifnya fibroblas di dalam jaringan. Sebagai respon terhadap cedera, fibroblas berproliferasi dan lebih aktif mensintesis komponen matriks. Fibroblas meletakkan substansi dasar dan serabut-serabut kolagen, serta pembuluh darah baru mulai menginfiltrasi luka. Adanya proliferasi fibroblas dan serabut kolagen pada daerah luka menyebabkan jaringan di atasnya berwarna kemerahan dan luka mulai menutup.<sup>6</sup>

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak getah biduri (*Calotropis gigantea*) terhadap jumlah fibroblast pada proses penyembuhan luka pada gingiva hewan coba.

## **BAHAN DAN METODE**

Penelitian ini telah mendapatkan kelaikan etik (*ethical clearance*) dari Komisi Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*.<sup>7</sup>

### **1. Pembuatan Ekstrak Metanolik Getah Biduri**

Sebelum dilakukan pembuatan ekstrak, tanaman biduri yang diperoleh dari daerah sekitar candi Prambanan Yogyakarta, terlebih dulu diidentifikasi di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Pembuatan ekstrak dilakukan secara maserasi menggunakan pelarut metanol. Getah

biduri diperoleh dengan cara memotong batangnya, kemudian getah direndam dalam metanol, dan disimpan selama 3 hari. Hasil rendaman disaring menggunakan kertas saring, kemudian diuapkan di atas kompor menggunakan *water bath* sampai didapatkan ekstrak kental.

### **2. Pembuatan Perlukaan**

Tikus dianastesi menggunakan ketalar secara intra muscular. Perlukaan dibuat dengan cara melakukan *punch biopsy* (Ø 2,5 mm) pada mukosa gingiva rahang bawah. *Punch biopsy* ditekan sambil diputar pada mukosa gingiva sampai menyentuh tulang.

### **3. Pelaksanaan Penelitian**

Penelitian ini menggunakan tikus putih *strainwistar* jantan sebanyak 48 ekor, umur 3 bulan, berat badan 200-300 gram. Tikus dibagi menjadi 4 kelompok: a. Kelompok kontrol negatif (-) perlukaan pada mukosa gingivanya dan tidak diberi terapi apapun; b. Kelompok kontrol positif (+), perlukaan pada mukosa gingivanya, dan diberi ibuprofen dengan dosis 108 mg/kg BB.; c. Kelompok perlakuan (1), perlukaan pada mukosa gingivanya dan diberi ekstrak getah biduri 50 mg/KgBB; d. Kelompok perlakuan (2), perlukaan pada gingivanya dan diberi ekstrak getah biduri 500 mg/kg BB.

Selanjutnya, tiga ekor tikus putih dari tiap kelompok didekaputasi pada hari ke-2, ke-4, ke-8, dan ke-15 setelah perlukaan. Dekaputasi dilakukan dengan cara menganastesi terlebih dahulu tikus putih

secara intra muskular menggunakan ketalar. Selanjutnya diambil rahang bawahnya untuk dibuat sediaan jaringan untuk pengamatan histologis.

#### **4. Pengamatan Histologi Jumlah Fibroblas**

Preparat histologi diamati di bawah mikroskop cahaya binokuler dengan perbesaran 400 kali dan 1000 kali untuk memperjelas bentukan fibroblas. Jumlah fibroblas dibaca dengan cara menghitung jumlahnya pada tiga lapang pandang untuk masing-masing tiga potongan sampel jaringan yang telah diambil.

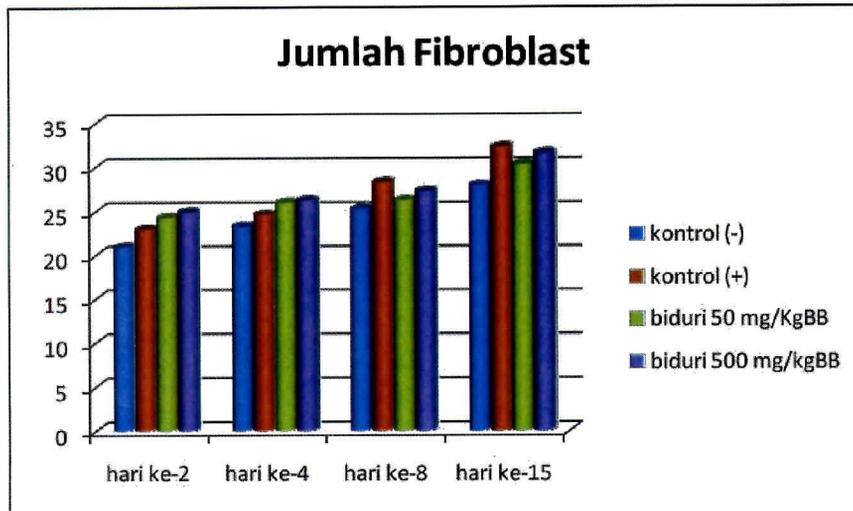
#### **5. Analisis Data**

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan jumlah fibroblast merupakan data yang berskala rasio. Hasil ini diuji secara statistik dengan menggunakan *One-way Anova* untuk melihat perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Perbedaan jumlah fibroblas antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada setiap dosis dan lama pemberian ekstrak dianalisis dengan menggunakan uji *Least Significant Difference (LSD)*.<sup>8</sup>

#### **HASIL PENELITIAN**

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa rerata sel fibroblas tertinggi pada hari ke-2 dan ke-4 terdapat pada kelompok perlakuan (2) yang diberi ekstrak getah biduri 500 mg/KgBB, sedangkan pada hari ke-8 dan ke-15 rerata sel fibroblas tertinggi terdapat pada kelompok kontrol (+) (Gambar1).

Dari data rerata tersebut selanjutnya dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Hasil uji normalitas menggunakan uji *Shapiro wilk* didapatkan nilai  $p > \alpha = 0,05$ , menunjukkan data terdistribusi normal. Hasil uji homogenitas dengan uji Levene juga didapatkan nilai  $p > \alpha = 0,05$  yang menunjukkan bahwa varian data bersifat homogen. Selanjutnya dilakukan uji parametrik, yaitu uji *One-way Anova*. Hasil uji *One-way Anova* (tabel 1) didapatkan  $p = 0,000$  ( $p < \alpha = 0,005$ ). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna yang berarti terdapat perbedaan pengaruh pemberian ekstrak getah biduri terhadap jumlah sel fibroblas pada penyembuhan luka. Selanjutnya dilakukan uji lanjutan menggunakan uji LSD. Hasil uji LSD juga didapatkan perbedaan yang signifikan hampir pada semua kelompok perlakuan ( $p < \alpha = 0,005$ ).



**Gambar 1. Diagram batang rerata jumlah fibroblas pada masing-masing kelompok**

**Tabel 1. Hasil Uji *One-way Anova* Jumlah Fibroblas**

Dependent Variable: Jumlah Fibroblas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	438.583(a)	15	29.239	13.896	.000
Intercept	33602.083	1	33602.083	15969.307	.000
PERLAKUAN	438.583	15	29.239	13.896	.000
Error	67.333	32	2.104		
Total	34108.000	48			
Corrected Total	505.917	47			

## PEMBAHASAN

Hasil uji *One way Anova* (tabel 1) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah fibroblas yang signifikan atau bermakna ( $p < \alpha = 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak metanolik getah biduri memberikan efek terhadap jumlah fibroblas pada penyembuhan luka.

Pada penelitian ini, jumlah fibroblas yang paling tinggi pada hari ke-2 dan ke-4 terdapat pada kelompok yang diberi ekstrak getah biduri 500 mg/kgBB. Hal ini diasumsikan karena semakin besar dosis maka semakin efektif terhadap peningkatan jumlah fibroblas. Sedangkan jumlah tertinggi pada hari ke-8

dan ke-15 terdapat pada kelompok yang diberi ibuprofen. Hal ini diduga karena kerja ibuprofen lebih lama daripada kerja ekstrak getah biduri dalam meningkatkan jumlah fibroblas, sehingga keefektifannya baru terlihat setelah hari ke-4.

Proses penyembuhan luka merupakan suatu proses yang saling berkaitan dan terbagi dalam beberapa fase. Fase paling awal adalah fase inflamasi, dimana seluruh sel radang keluar untuk memfagosit bakteri dan membersihkan jaringan yang mati pada daerah luka.<sup>6</sup> Keluarnya sel radang tersebut juga merangsang keluarnya fibroblas untuk mensintesis kolagen guna perbaikan jaringan

ikat. Sel-sel epitel pun mulai bermitosis dan migrasi di atas jaringan ikat tersebut.<sup>9</sup>

Ekstrak getah biduri mampu meningkatkan jumlah fibroblas pada proses penyembuhan gingiva tikus diduga karena adanya zat aktif yang terkandung di dalamnya, seperti *calotropin* (enzim protease yang menyerupai papain), namun mekanismenya belum sepenuhnya diketahui secara pasti. Secara farmakologis, ekstrak dasar getah biduri merupakan suatu bahan yang dapat mempengaruhi perdarahan, ekstrak ini dapat menurunkan waktu koagulasi plasma dari 150 menjadi 47 detik dan memicu terjadinya koagulasi darah. Prokoagulasi dan hidrolisis jendalan darah merupakan hal penting dalam proses penyembuhan luka.<sup>10</sup>

Getah biduri dapat meningkatkan proses penyembuhan yang ditandai dengan peningkatan kolagen, sintesis *DNA* dan protein, serta epitelisasi yang berperan untuk mengurangi terjadinya luka. Bahan-bahan yang terkandung dalam getah biduri mempunyai aktifitas prokoagulan, serta dapat menghidrolisis *blood clot*, sehingga mempercepat penyembuhan luka.<sup>4,10</sup>

Enzim proteolitik yang terkandung dalam getah biduri berperan pada proses inflamasi melalui banyak mekanisme, diantaranya dapat mengaktifkan sistem komplemen yang berfungsi sebagai mediator inflamasi yang penting, mengurangi pembengkakan membran mukosa, menurunkan permeabilitas kapiler, dan dapat mengurangi pembentukan fibrin pada daerah luka. *Blood clot* yang menipis juga menyebabkan sirkulasi darah pada daerah luka menjadi lebih baik. Hal ini

mengakibatkan suplai oksigen dan nutrisi ke daerah luka menjadi lebih banyak sehingga nantinya dapat mempercepat proses penyembuhan.<sup>11,12</sup>

Enzim proteolitik bekerja dengan memotong rantai protein, apabila tubuh atau jaringan mengalami luka maka tubuh akan merespon dengan terjadinya inflamasi. Inflamasi yang berlebihan akan menyebabkan proses penyembuhan menjadi terhambat. Enzim proteolitik dapat mengurangi inflamasi yang terjadi dengan menetralkan bradikinin dan eukasinoid *pro-inflammatory* ke level dimana proses repair dan regenerasi jaringan yang luka dapat dimulai, serta dapat memicu terjadinya koagulasi darah.<sup>10,12</sup>

Proses proliferasi sel dalam jaringan yang terluka dimulai adanya FGF (*Fibroblasts Growth Factor*). Fibroblas yang teraktivasi akan menyekresikan matriks ekstraselular, mengikat unsur matriks ekstraselular untuk membentuk jaringan granulasi.<sup>13,14</sup> Luka yang diberi ekstrak getah biduri akan lebih cepat merangsang proliferasi fibroblas sehingga jumlah fibroblas pada daerah luka akan lebih banyak dan luka akan cepat menutup. Terbentuknya jaringan granulasi yang sempurna akan menutup permukaan luka. Pembentukan jaringan granulasi mengakhiri fase proliferasi proses penyembuhan luka dan mulailah pematangan dalam fase remodeling.<sup>5,14</sup>

## KESIMPULAN

Kesimpulan yang bisa diambil dari penelitian ini adalah pemberian ekstrak getah biduri dapat meningkatkan jumlah fibroblast pada

proses penyembuhan luka gingiva tikus yang diberi perlakuan dengan *punch biopsy*. Dosis ekstrak getah biduri yang lebih efektif dalam meningkatkan jumlah fibroblast adalah 500 mg/KgBB.

#### SARAN

Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa aktif getah ataupun bagian tanaman biduri lainnya yang dapat mempercepat proses penyembuhan luka, serta perlu dilakukannya uji toksisitas agar bisa diaplikasikan pada manusia.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Muscle, Rub J. 2002. Herbal Monograp. <http://www.himalayahealthcare.com>,
2. Dalimartha S. 2005. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jakarta: Trubus Agriwidya.
3. Hariana A. 2006. Tumbuhan Obat dan Khasiatnya, Seri 3, Jakarta: Penebar Swadaya.
4. Rajesh R, Gowda, CDR, Nataraju A, Dhananjaya BL, Kemparaju K, Vishwanath BS. 2005. Procoagulant activity of *Calotropis gigantea* latex associated with fibrinolytic activity. <http://www.sciencedirect.com>, accessed March 14 2013.
5. Sjamsuhidajat R, Jong WD. 2005. Buku Ajar Ilmu Bedah. Edisi 2. Jakarta: Penerbit Buku kedokteran EGC.
6. Morison MJ. 2004. Seri Pedoman Praktis Manajemen Luka. Jakarta: Penerbit Buku kedokteran EGC.
7. Pratiknya AW. 2000. Dasar-dasar Metodologi Penelitian dan Kesehatan, Edisi III. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
8. Dahlan M.S. 2006. Statistika Untuk Kedokteran dan Kesehatan, Cetakan ke-2, Jakarta: Arkans.
9. Sabiston JRD C. Buku Ajar Bedah Bagian I. Alih bahasa oleh Petrus Andrianto dan Timan I. S. 1995. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
10. Rasik AM, Raghubir R, Gupta A, Shukla A, Dubey MP, Srivastava S, Jain HK, Kulshrestha DK. 1999. Healing potensial of *Calotropis procera* on dermal wounds in Guinea pigs. *Journal of Ethnopharmacology*.
11. Lenard L, Dean W, English J. 2000. Controlling Inflammation with Proteolytic Enzymes. <http://www.allergyresearchgroup.com>. Accessed May 14 2013.
12. Baron J. 2003. Enzymes: Part 3 of 3, <http://www.rd.bcentral.com>. Accessed May 14 2013.
13. Nuringtyas. Glikonjugat: Proteoglikan, Glikoprotein, dan Glikolipid. <http://elisa.ugm.ac.id/files/chimera73/hEAc8NaIGlycan,Proteoglycan,%20Glycoprotein,%20glycolipid.pdf>. Accessed May 16 2013.
14. Johnson, KE. 2011. Quick Review Histologi dan Biologi Sel. Tangerang Selatan: Binarupa Aksara.