



## Persembuhan luka incisi kulit mencit (*Mus musculus*) dengan pemberian ekstrak etanol teripang getah (*Holothuria leucospilota*)

Srivikaya R.W.Ollu<sup>1</sup>, Putri Pandarangga<sup>2</sup>, Nemay A. Ndaong<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana, Kupang

<sup>2</sup>Laboratorium Patologi Sistemik, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana, Kupang

<sup>3</sup>Laboratorium Kimia, Fakultas Keguruan Ilmu dan Pendidikan Universitas Nusa Cendana

### **Abstract**

<p><b>Riwayat Artikel:</b>  Diterima:  22 Januari 2019  Direvisi:  24 Januari 2019  Disetujui:  1 Februari 2019</p>	<p><i>The purpose of this research is to compare the effect of the ethanol black sea cucumber (<i>Holothuria leucospilota</i>) extract with betadine in the healing wound process of incised skin of mice (<i>Mus musculus</i>) through observation of gross pathology and histopathology. This research used mice with age of 6-8 weeks, male and divided into three groups, which were negative control (aquades), the positive control (betadine), and the treatment (ethanol black sea cucumber extract). All mice were incised by surgical blade in the middle of the back with the depth of up to layer of dermis. Furthermore, the wounds were lubricated directly by aquades, betadine and ethanol black sea cucumber extract. The gross pathology data were obtained in eight days through the observation of color, dry cuts, the closing time, the scab formation and the increase the length of hair around and the wound size. The parameters used in histopathology analysis of healing wounds process were the presence of increasing number of cells fibroblast, angiogenesis, and the number of the inflammation cells around the wound. The results showed that the effect of ethanol black sea cucumber (<i>H. leucospilota</i>) extract accelerated the wound healing process in the incised skin of mice (<i>Mus musculus</i>). It was caused by the bioactive content of black sea cucumber, such as saponin, flavonoid, lectin and amino acids which can speed up wound healing wound.</i></p>
<p><b>Keywords:</b>  Extracts ethanol sea cucumber sap (<i>Holothuria leucospilota</i>), betadine, healing wounds and bioactive.</p>	
<p>Korespondensi :  rambuiivhy@gmail.com</p>	

## PENDAHULUAN

Luka merupakan kerusakan kontinuitas jaringan yang diakibatkan oleh adanya cedera fisik (Hernani dkk., 2012). Setelah terjadi kelukaan akan diikuti dengan proses kesembuhan luka meliputi respon inflamasi, pembentukan jaringan granulasi, dan pembentukan jaringan baru (Guo dkk., 2003). Waktu penyembuhan luka dipengaruhi oleh tipe dan perluasan luka. Luka yang dalam dan melibatkan kerusakan pembuluh darah maka akan membutuhkan waktu penyembuhan luka yang lebih lama (Dealey dan Cameron, 2008).

Penyembuhan luka yang normal merupakan suatu proses kompleks dan dinamis. Proses penyembuhan luka berlangsung secara alami dan dapat dipercepat oleh kondisi tertentu yang mendukung keberlangsungan proses penyembuhan luka seperti dengan zat-zat obat (Hodigwe dkk., 2012). Masyarakat telah lebih lama memanfaatkan tumbuh-tumbuhan sebagai bahan baku obat tradisional, sedangkan pemanfaatan organisme dari laut masih belum banyak dilakukan (Chairunnisa, 2012). Indonesia dikenal sebagai negara “*megabiodiversity*” yaitu negara yang mempunyai keanekaragaman hayati yang sangat tinggi termasuk biota laut. Nusa Tenggara Timur (NTT) memiliki luas wilayah laut sekitar 200.000 km<sup>2</sup> (BPS NTT, 2012). Hal ini menunjukkan bahwa adanya potensi besar untuk peningkatan pendapatan ekonomi baik sebagai bahan pangan yaitu berbagai jenis ikan atau sebagai bahan pembuatan obat-obatan (teripang) yang berasal dari laut. Pernyataan ini didukung oleh Dance dkk. (2003) bahwa teripang memiliki potensi yang cukup besar sebagai sumber biofarmaka hasil laut dan sebagai makanan kesehatan. Menurut Martoyo dkk. (2002, dalam Kustiariyah, 2007) jenis teripang yang terdapat di perairan Indonesia adalah dari genus *Holothuria*, *Stichopus* dan *Muelleria*. Salah satu spesies teripang dari genus *Holothuria* yang belum dioptimalkan penggunaannya adalah *Holothuria leucospilota* yang sering disebut teripang getah atau teripang hitam dengan kandungan bioaktif utama seperti flavonoid, saponin, dan alkaloid yang berkhasiat sebagai antibakteri dan antijamur (Sari dkk., 2015). Walaupun telah ada informasi bahwa teripang dapat berperan dalam penyembuhan luka namun belum banyak penelitian yang membuktikan pernyataan tersebut.

Berdasarkan uraian diatas maka dilakukan penelitian untuk mengetahui “pengaruh pemberian ekstrak etanol teripang getah (*Holothuria leucospilota*) dibandingkan dengan betadin terhadap proses kesembuhan luka insisi pada kulit mencit (*Mus musculus*)”. Selain itu peneliti akan meneliti pengaruh kandungan zat yang terdapat dalam teripang terhadap proses kesembuhan luka.

## MATERI DAN METODE

Serangkaian tahapan penelitian berlangsung dari bulan Mei hingga bulan Agustus 2016. Tempat pelaksanaan penelitian terbagi menjadi dua tempat, yaitu laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana, Laboratorium Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu pendidikan Universitas Nusa Cendana.

Alat yang digunakan *cool box*, spidol, penggaris, pencukur bulu, kamera, talenan, tempat pakan dan minum, meja bedah, *gillete*, *scalpel* dan *blade* One Med, pinset syurgis, pinset anatomis, kandang mencit, tempat pakan dan tempat minum, gelas ukur, vacuum *rotary evaporator* (janson), timbangan digital (CHQ®), penangas air (maspion), blender (Phillips), botol kaca berwarna coklat ukuran 500 ml, panci pemanas, botol vial, kertas saring (whatman No.1®), pengaduk, mikroskop cahaya (Olympus CX21), pot penyimpanan organ, *tissue processor*, mikrotom, hot plate, mortir, gelas objek dan kaca penutup, jas laboratorium.

Bahan yang digunakan adalah kertas label, mencit (*Mus musculus*), pakan dan air minum, obat cacing, betadin cair, aquades, kapas, obat anestesi lokal lidokain krim (Emla 5%®), teripang getah (*Holothuria leucospilota*), etanol, desinfektan, deterjen, pasir, air laut, larutan hematoxylin, larutan eosin, paraffin cair, alkohol 70%, 80%, 95% dan alkohol absolut, xylol dan Canada balsam, sarung tangan (Maxter TM), Masker (One Med), serutan kayu, dan tisu (Paseo®).

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah *experimental laboratorium* yang terbagi menjadi beberapa tahapan yaitu:

Tahapan pertama: Pengurusan izin dari komisi Bioetik Hewan Universitas Nusa Cendana mengenai penggunaan hewan laboratorium.

Tahapan kedua: Pengumpulan teripang yang diperoleh dari perairan laut Paradiso Kecamatan Kelapa Lima. Sampel teripang yang ditemukan dimasukkan ke dalam *cool box* yang diisi air laut, pasir dan terumbu karang agar sampel tetap hidup dan segar ketika sampai di laboratorium Fakultas Perikanan Universitas Nusa Cendana untuk identifikasi. Hasil identifikasi menjadi standar pengambilan jenis teripang yang akan digunakan dalam pembuatan ekstrak etanol teripang, dengan perlakuan sampel yang sama dibawa ke laboratorium Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Nusa Cendana. Teripang yang telah dikeluarkan organ dalamnya dicuci hingga bersih lalu ditiriskan sampai kandungan air berkurang, selanjutnya masukkan ke dalam wadah kaca yang berisi etanol.

Tahapan ketiga: Pembuatan ekstrak etanol teripang getah. Prosedur maserasi menurut Tobo dkk. (2001) dan Chairunnisa (2015) yaitu sebagai berikut: sampel dikeluarkan dari wadah penyimpanan, ditiriskan, lalu ditimbang untuk mengetahui volume atau berat basah.

Selanjutnya teripang getah dipotong-potong, diblender hingga halus lalu dimasukkan ke dalam botol gelap ukuran 2 L yang berisi etanol diaduk hingga homogen menggunakan pengaduk sebanyak 4-5 kali sehari dan dimaserasi selama 24 jam serta terlindung dari cahaya matahari. Hasil maserasi akan menunjukkan 2 tipe material yaitu filtrat dan endapan. Filtrat kemudian disaring menggunakan kertas saring (whatman No.1:125 mm) dan ditampung dalam botol gelap ukuran 2,5 L. Tursina (2011) menyatakan endapan yang tersisa ditambahkan etanol, dimaserasi kembali hingga 5-6 kali atau hingga fase cair yang dihasilkan menjadi bening. Filtrat yang didapat kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40<sup>0</sup>C agar senyawa bioaktif tidak rusak. Sesuai dengan pernyataan Harborne (1987, dalam. Pranoto dkk., 2012) bahwa penggunaan rotavapor vakum untuk memekatkan larutan hasil ekstraksi dengan volume yang kecil, sebaiknya menggunakan suhu 30-40<sup>0</sup>C dengan tekanan 337 psi sampai mengental untuk memisahkan etanol dari ekstrak kasar teripang. Ekstrak etanol teripang getah yang telah dihasilkan selanjutnya diuapkan di atas pengangas air dengan suhu 60<sup>0</sup>C sampai etanol yang terkandung dalam ekstrak berkurang. Selanjutnya pengukuran volume dan pengemasan ekstrak dalam botol vial berwarna coklat serta disimpan dalam suhu ruangan. Langkah konfirmasi kandungan zat aktif terkandung dalam ekstrak yang dihasilkan dengan melakukan pengujian fitokimia dengan volume ekstrak yang dibutuhkan sebanyak 3 ml. Metode fitokimia konfirmasi saponin dapat dilakukan dengan cara aquades dipanaskan selama 15 menit dalam autoclave selanjutnya ditambahkan ke dalam sampel sebanyak 2 ml dikocok selama 30 detik kemudian diamati hasilnya. Hasil yang positif ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil. Konfirmasi kandungan flavonoid dilakukan dengan cara ekstrak dalam tabung reaksi ditambahkan 1 gram serbuk Mg, 4 ml alkohol 70%, dilihat reaksinya selanjutnya ditambahkan alkohol 0,4 ml dan direaksikan dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya endapan merah pada dasar tabung reaksi dalam waktu 3 menit (Maharani dkk., 2010 dan Sastrawan dkk., 2013).

Tahapan keempat: Adaptasi hewan coba. Mencit sebanyak 15 ekor diadaptasikan selama ± 1 minggu yang sebelumnya telah dilakukan *screening* farmakologi kemudian dimasukkan ke dalam kandang untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan percobaan sebelum diberi perlakuan. Hari pertama mencit diberikan obat cacing, hal ini dilakukan untuk mendukung keefektifan suatu senyawa yang akan diuji. Mencit dipelihara dalam kandang plastik dengan ukuran luas VOL. 2 NO. 1

alas kandang 80 cm<sup>2</sup>, dengan tinggi 15 cm (BPOM, 2014) yang diberi alas serutan kayu yang telah dijemur di bawah sinar matahari serta didesinfeksi menggunakan natrium hipoklorit (NaOCl 0,5%) untuk menyerap kotorannya. Makanan berupa pelet dan minuman berupa air matang diberikan setiap hari secara *ad libitum*.

Teknik pembagian sampel dengan metode *purposive sampling* yaitu teknik penentuan sampel dengan pertimbangan khusus sehingga layak dijadikan sampel (Noor, 2011). 15 ekor yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan dengan kisaran umur 6-8 minggu (BPOM, 2014) dan berat rata-rata 20-40 gram, yang dibagi menjadi 3 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit pada setiap kandang yang tersedia. Tiga kelompok tersebut yaitu kelompok 1 (kontrol negatif) sebagai kelompok aquades, kelompok 2 (kontrol positif) sebagai kelompok dengan terapi betadin, dan kelompok 3 (kelompok perlakuan) sebagai kelompok dengan terapi ekstrak etanol teripang getah. Tindakan mengurangi kontaminasi dari lingkungan dapat dilakukan dengan kandang mencit dibersihkan dan dicuci menggunakan detergen setiap hari lalu direndam dalam larutan desinfektan. Alas kandang diganti dengan serutan kayu yang baru. Langkah pertama sebelum kegiatan pembedahan/incisi berlangsung dilakukan penyiapan ruangan, meja bedah serta alat dan bahan yang mendukung kegiatan berlangsung. Perlakuan pada mencit diawali dengan pencukuran bulu, pemberian tanda ukuran pada punggung mencit dan pemberian salep lidokain (Emla 5%®) pada daerah punggung yang akan diincisi selanjutnya penyayatan sepanjang 1,5–3 cm dengan kedalaman sampai lapisan dermis. Selanjutnya post operasi mengaplikasikan aquades pada kelompok I secara topikal, mengaplikasikan betadin cair pada kelompok II dan mengaplikasikan ekstrak etanol teripang getah pada kelompok III secara topikal dibagian luka mencit menggunakan spuit 1 ml per tiga tetes pada bagian dorsal, central dan bagian ventral dari luka, dimulai dari hari pertama sampai hari ke tujuh sebanyak dua kali sehari pada waktu pagi dan sore hari. Pengamatan kesembuhan luka secara visual berdasarkan perbandingan waktu kering luka, warna luka, waktu penutupan luka yang dapat diukur dari lebar luka dan panjang luka, serta bertambah panjangnya rambut disekitar luka (Febam dkk., 2010).

Tahapan kelima: Koleksi sampel untuk konfirmasi kesembuhan jaringan dengan pemeriksaan histopatologi. Mencit dieuthanasia setelah 7 hari pengamatan dengan metode dislokasi cervicalis (AVMA, 2013). Selanjutnya adalah pengambilan kulit daerah punggung yang

sebelumnya dibersihkan dari rambut yang mulai tumbuh kembali, kulit digunting dengan ketebalan  $\pm 3$  mm sampai subkutan sepanjang 1-1,5 cm<sup>2</sup>. Kulit yang diperoleh kemudian difiksasi dengan larutan *Buffer Neutral Formalin* atau BNF 10% dibiarkan pada suhu kamar selama  $\pm 48$  jam (Febram, 2010). Selanjutnya pembuatan preparat histopatologi melalui proses dehidrasi dengan merendam sediaan tersebut ke dalam alkohol 70%, 80%, 90%, alkohol absolut, xilol dan paraffin. Lama perendaman pada setiap sediaan selama 2 menit dilanjutkan dengan pencetakan, dan pemotongan jaringan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 3 mikron. Hasil pemotongan diletakkan di atas gelas objek yang selanjutnya dikeringkan dalam inkubator suhu 60°C. Kemudian sediaan diwarnai dengan Mayer's Hematoksilin dan Eosin. Berdasarkan acuan dari penelitian Febram dkk. (2010) parameter yang diamati pada pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin adalah jumlah sel-sel radang (neutrofil, makrofag dan limfosit), jumlah neokapiler, dan sel fibroblas. Seluruh material diamati di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran objektif 40x dalam 10 lapang pandang. Jumlah perhitungan yang dihasilkan kemudian dirata-ratakan sehingga mendapat nilai dari 15 sampel tersebut.

Tahapan keenam: Hasil penelitian berupa ukuran luka dan panjang luka dianalisis dengan statistik uji T menggunakan program SPSS 20. Selanjutnya parameter penelitian seperti waktu kering luka, bertambah panjangnya rambut di sekitar luka, ketebalan fibroblas, dan jumlah sel radang berupa neutrofil, makrofag dan limfosit dianalisis secara deskriptif. Selain itu, jumlah neokapiler dan sel fibroblas juga dijelaskan secara deskriptif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Uji Fitokimia

Uji Fitokimia pada ekstrak dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung pada ekstrak teripang getah. Berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak teripang getah secara kualitatif positif mengandung saponin dan flavonoid (Tabel 3). Hasil tersebut sesuai dengan pustaka yang telah dilaporkan oleh Mokhlesi dkk. (2012) dan Sari dkk. (2015).

Tabel 1. Uji fitokimia

Uji	Hasil Pengujian	Pustaka	Kesimpulan
Saponin	Terbentuknya busa 1 cm selama 1 menit	Terbentuknya busa 1-2 cm selama 1 menit (Jaya, 2010)	+ Saponin
Flavonoid	Endapan warna merah	Endapan merah (Sastrawan dkk., 2013)	+ Flavonoid

Keterangan: + Mengandung zat aktif saponin dan flavonoid

Saponin merupakan glikosida triterpen yang memiliki sifat cenderung polar (Sangi dkk., 2008). Kumalasari dan Sulistyani (2011) melaporkan saponin memiliki gugus hidrofilik dan hidrofob, yang ketika dikocok, gugus hidrofilik akan berikatan dengan air sedangkan gugus hidrofob akan berikatan dengan udara sehingga membentuk busa. Flavonoid memiliki ikatan gugus gula bersifat polar yang ketika direaksikan menghasilkan warna kemerahan. Hasil yang positif ini sesuai dengan pustaka yang dilaporkan oleh Amin dkk. (2012) dan Sari dkk. (2015) bahwa bioaktif teripang getah meliputi saponin dan flavonoid.

Pengamatan Kesembuhan Luka secara Patologi Anatomi. Hasil pengamatan kesembuhan luka kulit mencit pada kelompok kontrol negatif (aquades), kelompok kontrol positif (betadin cair) dan kelompok perlakuan (ekstrak etanol teripang getah) disajikan dalam tabel 2. Tabel tersebut disajikan berdasarkan perbandingan warna luka, kering luka sampai terbentuknya keropeng, dan cepat tumbuhnya rambut baru disekitar luka (Hernani, 2012) sejak hari pertama post insisi sampai hari ke delapan sebelum euthanasia. Perubahan warna luka dan terbentuknya keropeng pada permukaan luka, kelompok betadin dan kelompok ekstrak etanol teripang getah menunjukkan perubahan sejak hari ke empat hingga ke delapan sebelum eutanasi. Berbeda dengan kelompok aquades yang menunjukkan respon mulai terjadinya perubahan warna kemerahan dan terbentuknya keropeng pada hari ke tujuh dan ke delapan.

Tabel 2. Perbandingan Hasil Pengamatan Warna, Waktu Kering Luka, Keropeng dan Tumbuhnya Rambut Baru

Hari ke-	Perbandingan pengukuran	Kelompok I	Kelompok II	Kelompok III
1	Warna	+	+	+
	Kering luka	*	*	*
	Keropeng	-	-	-
	Panjang rambut	-	-	-
2	Warna	+	+	+

	Kering luka	*	**	**
	keropeng	-	-	-
	Panjang rambut	-	-	-
3	Warna	+#	+#	+#
	Kering luka	*	***	***
	Keropeng	-	-	-
	Panjang rambut	-	-	-
4	Warna	+#	+x	(+)
	Kering luka	*	***	***
	Keropeng	-	^^	^^
	Panjang rambut	-	/	/
5	Warna	+#	+x	+x
	Kering luka	*	***	***
	Keropeng	-	^^	^^
	Panjang rambut	-	//	//
6	Warna	+#	+x	+x
	Kering luka	**	***	***
	Keropeng	-	^^	^^
	Panjang rambut	/	//	//
7	Warna	+x	+x	+x
	Kering luka	**	***	***
	Keropeng	^	^^	^^
	Panjang rambut	//	//	//
8	Warna	+x	+x	+x
	Kering luka	***	***	***
	Keropeng	^^	^^	^^
	Panjang rambut	//	//	//

Ket. tabel 2. (+): warna merah; +: merah pucat; +#: merah kekuningan; +x: merah kecokelatan; \*: lembab; \*\*: mulai mengering; \*\*\*: kering; - : tidak ada perubahan; ^^: terbentuk keropeng pada permukaan luka; /: mulai terlihat panjang; //: rambut disekitar perlukaan bertambah panjang.

Pengamatan pertumbuhan panjang rambut di sekitar luka dapat diamati pada mencit kelompok betadin dan kelompok ekstrak etanol teripang getah pada hari keempat, selanjutnya diikuti oleh kelompok aquades pada hari ke enam.

Parameter ukuran luka (panjang) dan penutupan luka (lebar) juga berperan dalam menentukan kesembuhan luka. Rata-rata hasil pengukuran dari kedua parameter tersebut dianalisis menggunakan uji T dengan SPSS 20 tingkat kepercayaan 95% (Tabel 3). Memperoleh hasil yang menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan

(Sig>0,05) antara penggunaan betadin cair dengan ekstrak etanol teripang getah pada hari ke satu sampai hari ke delapan. Hal tersebut menunjukkan bahwa betadin cair dan ekstrak etanol teripang getah memiliki pengaruh yang hampir sama pada proses kesembuhan luka incisi.

Berdasarkan hasil uji signifikansi antara kelompok ekstrak etanol teripang getah dengan kelompok aquades, terdapat perbedaan yang nyata (sig<0,05) pada ukuran luka (panjang) nilai rata-rata kelompok ekstrak 1.8220 sedangkan aquades sebesar 2.0000. Namun, tidak ada perbedaan yang begitu signifikan (Sig>0,05) antara parameter penutupan luka (lebar) dengan nilai rata-rata kelompok ekstrak etanol teripang getah 3.0040 lebih kecil daripada nilai rata-rata kelompok aquades sebesar 3.1880. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol teripang getah mampu mengurangi ukuran luka (panjang) dalam waktu delapan hari pasca incisi dibandingkan dengan ukuran luka (panjang) dari kelompok aquades.

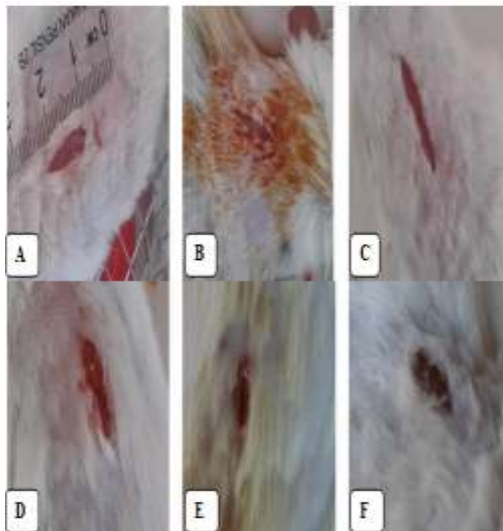
Gambaran kemajuan kesembuhan luka tersebut dikarenakan sedang terjadinya penurunan jumlah sel-sel radang dan sedang berlangsungnya proses pertumbuhan sel-sel baru dan perbaikan jaringan (Corsetti dkk., 2010 dan Zachary dan McGavin 2010). Pernyataan tersebut juga didukung oleh informasi yang dilaporkan oleh Kumar dkk. (2003) bahwa, kemajuan kesembuhan luka secara makroskopis ditandai dengan terbentuknya jaringan berwarna kemerahan dengan permukaan berbenjol halus.

Bertambah panjangnya rambut di sekitar daerah perlukaan menunjukkan terjadinya regenerasi dan kondisi kulit yang sudah mulai kembali normal (Listyanti, 2006). Berdasarkan waktu pengamatan tersebut kelompok II dan III menunjukkan perbedaan yang tidak begitu nyata dibandingkan dengan kelompok I. Hal ini dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol teripang getah dapat mempercepat kesembuhan luka melalui perubahan warna, cepatnya waktu kering luka, cepat terbentuknya keropeng, cepat panjangnya rambut disekitar luka dan mempercepat penutupan luka. Keefektifan ekstrak etanol teripang getah tersebut dapat dikaitkan dengan kandungan bioaktif teripang seperti saponin, flavonoid dan asam amino, yang menurut Rizal (2013), Rahardjo dkk. (2014) dan Corsetti dkk. (2010) zat bioaktif tersebut mampu menstimulasi percepatan regenerasi dan perbaikan sel. Zat bioaktif teripang getah seperti lektin juga berfungsi menstimulasi pertumbuhan sel kulit (Indahyani, 2014 dan rahmawati, 2014)

Tabel 3. Hasil Uji T terhadap Perbandingan Ukuran Luka (panjang) dan Penutupan Luka (lebar)

Perbandingan antara-	Hasil	
	Uji	
	Ukuran Luka	Penutupan luka
Kelompok Ekstrak etanol teripang getah ( <i>H. leucospilota</i> ) dengan kelompok betadin cair	0.375 > 0.05	0.301 > 0.05
Kelompok Ekstrak etanol teripang getah ( <i>H. leucospilota</i> ) dengan kelompok Aquades	0.046 < 0.05	0.208 > 0.05

Hernani dkk. (2012) juga menyatakan bahwa kandungan bioaktif dalam teripang getah seperti glikoprotein, saponin, flavonoid, kolagen, asam amino dapat memicu proliferasi dan migrasi fibroblas sehingga meningkatkan percepatan kesembuhan luka. Penggunaan betadin dengan kandungan zat aktif povidon iodine menunjukkan pengaruh pada kesembuhan luka sebagai antiseptik yang mampu melindungi daerah luka dari infeksi mikroorganisme patogen. Antiseptik yang ideal memiliki sifat mikrobiosidal tanpa merusak jaringan tubuh sehingga proses kesembuhan luka dapat berlangsung dengan baik (Yunanto dkk., 2005).



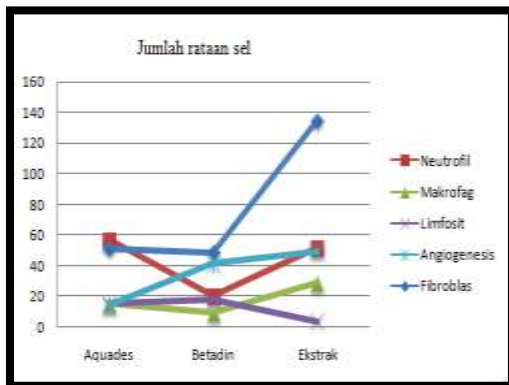
Gambar 1. Perbandingan gambaran kesembuhan luka sebelum hewan mati hari pertama dan hari ke delapan pasca insisi. (A) hari ke-1 kelompok kontrol negatif (aquades); (B) hari ke-1 kelompok kontrol positif (betadin); (C) hari ke-1 kelompok perlakuan (ekstrak etanol teripang getah). Rata-rata warna luka merah pucat dan lembab, belum terbentuk keropeng, serta rambut di sekitar luka insisi belum bertambah panjang. (D) hari ke-8 kelompok I, warna luka merah kecokelatan, sedikit

mengering dan mulai terbentuk keropeng. Rambut di sekitar luka insisi sedikit bertambah panjang; (E) hari ke-8 kelompok II; dan (F) hari ke-8 kelompok III menunjukkan warna luka merah kehitaman dan mengering serta rambut di sekitar luka insisi bertambah panjang.

### Kesembuhan Luka secara Histopatologi

Kesembuhan luka merupakan suatu proses yang kompleks dan dinamis. Berlangsungnya proses tersebut melibatkan banyak sel dan jaringan. Gambaran kesembuhan luka dapat ditandai dengan terbentuknya jaringan granulasi. Jaringan granulasi merupakan jaringan ikat muda yang mengisi daerah perlukaan menggantikan jaringan yang rusak akibat luka. Jaringan granulasi muncul sejak hari ketiga dan keempat pasca luka (Kumar dkk., 2003). Terbentuknya jaringan granulasi ditandai dengan terbentuknya kapiler baru (angiogenesis), infiltrasi sel radang terutama makrofag dan fibroblas (jaringan ikat) pada daerah luka. Berdasarkan metode dari Febram (2010) parameter yang diamati pada pemeriksaan kesembuhan luka secara mikroskopik meliputi jumlah sel radang (makrofag, neutrofil dan limfosit), sel fibroblas, dan angiogenesis.

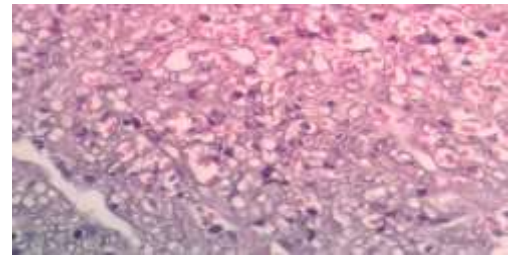
Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan perbedaan jumlah yang nyata dari setiap kelompok. Penghitungan jumlah neutrofil dari kelompok kontrol negatif (aquades) memiliki nilai total sebesar 56.62 sel dari 10 lapang pandang. Berbeda dengan jumlah neutrofil dari kelompok kontrol positif (betadin) menunjukkan nilai total sebanyak 20.35 sel persepuluh lapang pandang dan total neutrofil yang diperoleh dari kelompok ekstrak etanol teripang getah (*H. leucospilota*) sebanyak 51.68 sel. Penurunan jumlah neutrofil pada kelompok betadin dan kelompok ekstrak etanol teripang getah dapat dihubungkan dengan keefektifannya sebagai antiseptik (Yunanto dkk., 2005 dan Rahmawati, 2014). Penurunan jumlah neutrofil pada kedua kelompok tersebut dapat diuraikan pada grafik 1



Grafik 1. Perbandingan rata-rata hasil perhitungan jumlah neutrofil, makrofag, limfosit, angiogenesis dan fibroblas pada hari ke delapan dari kelompok aquades, kelompok betadin, dan kelompok ekstrak etanol teripang getah.

Neutrofil merupakan mediator seluler utama dalam peradangan akut. Penyebab utama keluarnya neutrofil ke daerah luka karena faktor kemotaksis yang dikeluarkan oleh sistem komplemen seperti C3a, C5a, TNF $\alpha$ , IL-8, LTB<sub>4</sub>, bakteri dan fibrin. Fungsi utama neutrofil adalah fagositosis, mikrobiosidal, dan sebagai mediator inflamasi. Hadirnya neutrofil pada daerah luka menunjukkan adanya proses pembersihan dan fagositosis sel mati atau lapisan debris yang dihasilkan dari luka dan mencegah infeksi (Zachary dan McGavin, 2012 dan Tanggo, 2013).

Keberadaan iodine povidone dalam betadin serta senyawa saponin dan flavonoid pada ekstrak etanol teripang getah memiliki fungsi yang tidak berbeda dengan fungsi neutrofil dalam menekan dan membunuh mikroorganisme yang bisa menghambat kesembuhan luka (Roihanah, 2012 dan Pranoto, 2012). Selain daripada itu, senyawa saponin dan flavonoid dapat memediasi keluarnya beberapa growth factor yang dapat mendukung kesembuhan luka dengan menekan migrasi beberapa sel radang salah satunya neutrofil untuk mengurangi proses inflamasi sehingga menstimulasi percepatan regenerasi dan perbaikan sel (Rahmawati, 2014; Rizal, 2013 dan Rahardjo dkk., 2014). Demikian pula dengan kandungan asam hialuronat dalam teripang yang bermanfaat dalam mempercepat sintesis asam hialuronat kondrosit dan proteoglikan, sehingga mengurangi produksi dan aktifitas mediator proinflamasi (Necas, 2008).



Gambar 2. Sel radang neutrofil (a), makrofag (b), dan limfosit (c) pada luka. (pewarnaan HE, 40X)

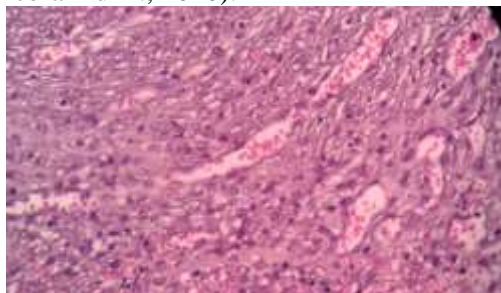
Menurut Guyton dan Hall (1997. dalam Tanggo, 2013) hadirnya sel makrofag dan neutrofil saling berhubungan dalam proses persembuhan luka. Keluarnya monosit dari peredaran darah menuju daerah inflamasi karena adanya faktor kemotaksis dari C5a, C3a, Monocyte chemoattractat proteins (MCPs), dan Fibrinopeptides. Pengamatan jumlah sel makrofag pada daerah luka dari ketiga kelompok memiliki rata-rata nilai yang berbeda. Jumlah sel makrofag dari kelompok aquades sebanyak 14.92 sel, kelompok betadin sebanyak 9.32 sel sedangkan kelompok ekstrak etanol teripang getah menunjukkan jumlah sel makrofag sebanyak 28.78 sel persepuluh lapang pandang. Jumlah makrofag dari kelompok ekstrak etanol teripang getah memiliki nilai yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Hal tersebut, diduga sebagai salah satu efek bioaktif ekstrak etanol teripang getah seperti saponin dan flavonoid yang mampu menstimulasi makrofag sehingga meningkatkan produksi growth factor seperti Transforming growth factor (TGF) yang berperan dalam meningkatkan proliferasi dan migrasi fibroblas (Rizal, 2013). Keberadaan makrofag pada jaringan luka selain sebagai fagositosis juga menggambarkan kemajuan kesembuhan luka melalui pelepasan dan pengaktifan growth factor seperti platelet derived growth factor (PDGF), transforming growth factor beta (TGF $\beta$ ), fibroblast growth factor (FGF), epidermal growth factor (EGF), interleukin-1 (IL-1), tumor necrosis factor alpha (TNF $\alpha$ ) dari makrofag secara tunggal atau bekerja sama dengan platelet, endothelium, dan sel T untuk menginduksi migrasi dan proliferasi fibroblas, stimulasi angiogenesis dan matriks ekstraselulers serta mempercepat sintesis kolagen dalam kesembuhan luka (Zachary dan McGavin, 2012).

Berdasarkan grafik perbandingan jumlah fibroblas kelompok aquades sebesar 51.32 sel, kelompok betadin 48.6 sel dan kelompok ekstrak etanol teripang getah sebesar 134.78 sel persepuluh lapang pandang. Peningkatan jumlah sel fibroblas akan meningkatkan jumlah serat kolagen yang akan mempercepat proses

penyembuhan luka (Velnar dkk., 2009). Kandungan senyawa saponin dan flavonoid dalam ekstrak etanol teripang getah berperan dalam menstimulasi growth factor seperti tumor growth factor- $\beta$ , tumor growth factor- $\alpha$ , dan Fibroblast growth factor terhadap migrasi dan proliferasi fibroblas (Rizal, 2013; Rahardjo dkk., 2014; Anindyajati dkk., 2013). Hal tersebut didukung pula oleh pernyataan Indahyani (2014) dan Rahmawati (2014) bahwa, teripang dapat meningkatkan pembentukan kolagen. Wardani (2009) juga melaporkan saponin selain sebagai antiseptik juga dapat meningkatkan pembentukan kolagen dan sintesis TGF sehingga dapat mempercepat proses kontraksi dan reepitalisasi.

Jumlah rata-rata limfosit dari kelompok aquades sebesar 14,9 sel, betadin 17,68 sel dan ekstrak 3,82 sel persepuluh lapang pandang. Penggunaan ekstrak etanol teripang getah menurunkan jumlah sel limfosit dari daerah perlukaan seiring dengan meningkatnya sel makrofag. Hal tersebut dipengaruhi oleh kandungan senyawa saponin dan flavonoid yang mampu menstimulasi agregasi makrofag ke daerah perlukaan. Sama halnya dengan peran limfosit sebagai sistem kekebalan tubuh yang melepas limfokin sehingga merangsang agregasi dan chemoattractant makrofag serta memberikan nutrisi pada sel-sel lainnya. Masa hidup limfosit berminggu-minggu sampai bertahun-tahun (Febram dkk., 2010).



Gambar 3. Gambar Angiogenesis (a), kolagen (b), dan sel fibroblas. (pewarnaan HE, 40X)

Angiogenesis atau neokapiler merupakan pembentukan pembuluh darah baru ke dalam luka bersamaan dengan fibroplasia. Pembuluh darah baru berasal dari pembuluh darah yang berdekatan dengan luka (Novriansyah, 2008). Berdasarkan pengamatan kesembuhan luka secara mikroskopik diperoleh rata-rata jumlah yang berbeda (grafik 5). Jumlah angiogenesis dari kelompok kontrol negatif (aquades) adalah 14,29 pembuluh darah, berbeda dengan jumlah angiogenesis dari kelompok betadin sebesar 41,6 pembuluh darah dan

ekstrak etanol teripang getah sebesar 49,74 pembuluh darah persepuluh lapang pandang.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak etanol teripang getah mampu meningkatkan jumlah angiogenesis di daerah luka karena adanya kandungan asam amino dan saponin dalam teripang. Hal tersebut didukung oleh pernyataan Corsetti dkk. (2010) asam amino dapat meningkatkan pembentukan pembuluh darah baru di daerah perlukaan sehingga mempersingkat proses kesembuhan luka. Peningkatan jumlah neokapiler menggambarkan kemajuan proses persembuhan luka pada fase proliferasi. Febram dkk. (2010) melaporkan meningkatnya jumlah sel makrofag dapat menstimulasi angiogenesis karena adanya *Angiogenesis Growth Factor* (AGF) sehingga merangsang pembentukan endotel dari pembuluh darah disekitar perlukaan. Selain karena adanya peran makrofag, saponin dan flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol teripang getah juga mampu menstimulasi proliferasi pembuluh darah baru (Wardani, 2009).

Dengan demikian pemberian ekstrak etanol teripang getah pada luka insisi kulit mencit dapat mempercepat kesembuhan luka, karena kandungan bioaktif yang terkandung didalamnya seperti saponin, flavonoid, lektin dan asam amino.

## SIMPULAN

Berdasarkan rangkaian penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan beberapa hal, sebagai berikut:

1. Hasil uji fitokimia menunjukkan ekstrak etanol teripang getah (*H. Leucospilota*) positif mengandung saponin dan flavonoid.
2. Pemberian ekstrak etanol teripang getah dan betadin cair dapat mempengaruhi percepatan kesembuhan luka secara patologi anatomi berdasarkan ukuran luka (panjang dan lebar), waktu kering luka, warna luka, terbentuknya keropeng serta bertambah panjangnya rambut disekitar perlukaan sejak hari keempat pasca perlukaan.
3. Penggunaan ekstrak etanol teripang getah secara kuantitatif dapat mempercepat kesembuhan luka insisi pada kulit mencit (*Mus musculus*) dengan mempercepat terbentuknya jaringan granulasi meliputi infiltrasi sel radang, sel fibroblas, serta mempercepat proses angiogenesis.

## DAFTAR PUSTAKA



- American Veterinary Medical Association. 2013. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals. Schaumburg: 2013 Edition.
- Anindyajati TP, Harsini, Widjijo. 2013. 'Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kulit Jambu Mente dalam Bahan Kumur terhadap Proliferasi Sel Fibrolas pada Penyembuhan Luka (In Vitro). The Internatonal Symposium an Oral and Dentist Science. Dalam. Rahardjo, C. P. N. R. P. 2014. Pengaruh Gel Teripang Emas Terhadap Fibroblas di Daerah Tarikan pada Relaps Gigi Setelah Perawatan Ortodonti. *Jurnal Kedokteran Gigi*, 8(1).
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2014, Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo. BPOM.
- Badan Pusat Statistik. 2012, Perikanan, Nusa Tenggara Timur dalam angka, BPS NTT.
- Chairunnisa, N. 2012, 'Uji Potensi Ekstrak Kasar Teripang *Holothuria Atra Jaeger* Sebagai Pencegah Kanker Melalui Uji Mikronukleus Terhadap Sumsum Tulang Mencit (*Mus Musculus L.*) Jantan Galur DDY'. Skripsi, S.pd, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Depok.
- Corsetti, G., D'Antona, G., Dioguardi, F. S., and Rezzani, R., 2010, Topical Application of Dressing with Amino Acids Improves Cutaneous Wound Healing in Aged Rats, *J. Acta Histochemica Elsevier*, 112:497-507.
- Dance, S.K., Lane I. dan Bell, J.D. 2003, Variation in short-term survival of cultured Sandfish (*Holothuria scabra*) released in mangrove-seagrass and coral reef flat habitats in Solomon Islands. *Aquaculture* 220: 495-505.
- Dealey, C., Cameron, J. 2008. Wound Management. Edisi Pertama. Wiley-Blackwell. Singapura.
- Febam, B., Wientarsih, I. dan Pontjo, B. 2010, Activity Of Ambon Banana (*Musa Paradisiaca* Var. *Sapientum*) Stem Extract In Ointment Formulation On The Wound Healing Process Of Mice Skin (*Mus Musculus Albinus*). *Majalah Obat Tradisional*. 15(3):121-137.
- Guo, S.Y., Guo, Z., Guo, Q., Chen, B.Y. and Wang, X.C. 2003, Expression, Purification and Characterization of Arginine Kinase from the Sea Cucumber *Stichopus japonicus*. *Protein Expression and Purification* 29: 230-234.
- Guyton. C.A.Hall.E.John. 2007. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. EGC. Jakarta. Hlm 480-481. Dalam. Tanggo, V.T.I.P. 2013,' Pengaruh Pemberian Topikal Ekstrak Kulit Delima Pada Penyembuhan Luka Split Thickness Kulit Tikus', Disertasi, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / R sud Dr. Soetomo. Surabaya.
- Harborne, J. B. 1987. Metode Fitokimia. Institut Teknologi Bandung, Bandung. Dalam, Pranoto, E.N., Ma'ruf, W.F. dan Pringgenies, D. 2012, Kajian Aktivitas Bioaktif Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Terhadap Jamur *Candida albicans*, *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan*, 1(1):1-8.
- Hernani, M.Y., Mufrod, dan Sugiyono. 2012, formulasi salep ekstrak air tokek (*Gekko Gecko L.*) untuk penyembuhan luka. *Majalah Farmasetikai*. 8 (1).
- Ilodigwe, E.E., Ndunagu, L.U., Ajaghaku, D.L. dan Nedosa, U.A. 2012, Evaluation of the Wound Healing Activity of a Polyherbal Remedy. *Annals of Biological Research*. 3(11) : 5393-5398.
- Indahyani, A. 2014, 'Pengaruh Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria Scabra*) dan Teripang Campedak (*Bohadshia marmorata*) dalam Bentuk Sediaan Gel Terhadap Penyembuhan Luka Bakar', Skripsi. Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Hassanudin, Makasar.
- Jaya, Miko, A. 2010. Isolasi Dan Uji Efektivitas Antibakteri Senyawa Saponin Dari Akar Putri Malu (*Mimosa pudica*). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang. P.17.
- Kumalasari, E. dan N. Sulistyani. 2011. Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Batang Binahong (*Anredera cordifolia*(Tenore) Steen) terhadap *Candida albicans* serta Skrining Fitokimia. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 1(2):51-62.
- Kumar V., Abbas, A.K., Fausto, N., Robbins dan Cotran's (ed). 2003, *Pathologic Basis of Disease*. Philadelphia. Saunders.
- Listyanti AR. 2006. Pengaruh Pemberian Getah Batang Pohon Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum*) dalam Proses Persembuhan Luka pada Mencit (*Mus musculus albinus*). [Skripsi]. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.
- Novriansyah, R. 2008. Perbedaan kepadatan kolagen di sekitar luka insisi tikus wistar yang dibalut kasa konvensional dan penutup oklusif hidrokoloid selama 2 hari. Tesis. Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Maharani T. W., Mukaromah H.A., Farabi F.M., 2010. Uji Fitokimia Daun Sukun kering (*Artocarpus altilis*). DIII Analisis kesehatan Ubiversitas Muhammadiyah Semarang.
- Martoyo J, Aji N, Winanto Tj. 2000. *Budidaya Teripang*. Jakarta: Penebar Swadaya. Dalam. Kustiariyah, 2007.

- Teripang Sebagai Sumber Pangan dan Bioaktif. Buletin Teknologi Hasil Perikanan. 10(1):1-10.
- Mokhlesi A., Saeidinia S., Gohari R. A., Shahverdi R.A., (2012). Biological Activities of the Sea Cucumber *Holothuria leucospilota*. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances* 7(3):243-249.
- Necas J, Bartosikova L, Brauner P, Kolar J. 2008. Hyaluronic acid (hyaluronan): a review. *Veterinarian Medicine* (53).
- Noor, J. 2011, *Metologi Penelitian*, Cetakan-1, Kencana Prenada Media Group, Jakarta. Indonesia.
- Pranoto, E.N., Ma'ruf, W.F. dan Pringgenies, D. 2012, Kajian Aktivitas Bioaktif Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Terhadap Jamur *Candida albicans*, *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan*, 1(1):1-8.
- Rahardjo, C., Prameswari, N. dan Rahardjo, P. 2014, 'Pengaruh Gel Teripang Emas Terhadap Fibroblas di Daerah Tarikan pada Relaps Gigi Setelah Perawatan Ortodonti'. *Jurnal Kedokteran Gigi*, 8(1) :17-25.
- Rahmawati, I. 2014, 'Perbedaan Efek Perawatan Luka Menggunakan Gerusan Daun Petai Cina (*Leucaena glauca*, Benth) dan Povidon Iodine 10% dalam Mempercepat Penyembuhan Luka Bersih pada Marmut (*Cavia porcellus*). *Jurnal Wiyata* 1(2).
- Rizal, M.B. 2013, Komposisi Senyawa Organik dan Anorganik Ekstrak Teripang Pasir dan Teripang emas yang Kompatibel Terhadap Pulpa'. Skripsi. Universitas Huang Tuah. Surabaya.
- Roihanah, S., Sukoso, S. dan Andayani. 2012, 'Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang *Holothuria* sp. Terhadap Bakteri *Vibrio* Secara *In vitro*'. *Exp. Life Sci.* 2(1).
- Sangi, M., M. R. J. Runtuwene., H. E.I. Simbala dan V.M. A. Makang. 2008, 'Analisa Fitokimia Tumbuhan Obat di Minahasa Utara'. *Chem.. Prog.* 1(1):47-53.
- Sari, P.I., Wibowo, A.M. dan Arreneuz, S. 2015, 'Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang Butoh Keling (*Holothuria Leucospilota*) dari Pulau Lemukutan Terhadap Bakteri *Propionibacterium Acnes* Dan *Staphylococcus Epidermidis*'. *JKK*, 4(4): 21-28.
- Sastrawan I.N., Meiske S., Kamu V., 2013, 'Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Adas (*Foeniculum vulgare*) Menggunakan Metode DPPH'. *Jurnal Ilmiah Sains* 14(2):110-115.
- Tanggo, V.T.I.P. 2013. 'Pengaruh Pemberian Topikal Ekstrak Kulit Delima Pada Penyembuhan Luka Split Thickness Kulit Tikus', Disertasi, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / Rsud Dr. Soetomo. Surabaya.
- Tobo, H. F., Mufidah, Taebe, H. B., Makhmud, A.I., 2001. *Fitokimia I (Ekstraksi Komponen Kimia Bahan Alam)*. Laboratorium Fitokimia Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Tursina, L.M. 2011. 'Uji Antifeedant Ekstrak Kasar Teripang *Holothuria atra* dan *Bohadschia marmorata* Terhadap Ikan Karang di Perairan Pramuka, Kepulauan Seribu, DKI Jakarta'. Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Depok.
- Velnar, T., Bailey, T. dan Smrkol, V. 2009, 'The Wound Healing Process: an Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms'. *The Journal of International Medical Research*. 37(5) :1528-1542.
- Wardani, L.P. 2009. 'Efek Penyembuhan Luka Bakar Gel Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle*) pada Kulit Punggung Kelinci', Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Surakarta, Surakarta.
- Wulandari, N., Krisanti, M., Elfidasari, D. 2012, 'Keragaman Teripang asal Pulau Pramuka, Kepulauan Seribu Teluk Jakarta' *Unnes Journal of life science*. 1(2):1-7.
- Yunanto, A., Hartato, E., Budiarti, Y, L., 2005, 'Peran alcohol 70%, Povidone-Iodine 10% dan Kasa Kering steril dalam Pencegahan Infeksi pada Perawatan Tali Pusat. *Sari Pediatri*. 7(2):58-62.
- Zachary, F.J. and McGavin, D.M.(ed) 2010, *Phatologic Basis of Veterinary Disease*, Elviesier.