

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) TERHADAP KEPADATAN SERABUT KOLAGEN DALAM PROSES PENYEMBUHAN LUKA PADA TIKUS (*Rattus novergicus*)

Karya Tulis Ilmiah

Untuk Memenuhi Sebagian Syarat
Memperoleh Derajat Sarjana Kedokteran

Program Studi Pendidikan Dokter



oleh :

Atika Putri Paranadia
13711015

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2017

**THE EFFECT OF MORINGA (*Moringa oleifera*) LEAF ETHANOL
EXTRACT AGAINST DENSITY OF COLLAGEN FIBER IN WOUND
HEALING OF WHITE RATS (*Rattus novergicus*)**

A Scientific Paper

Submitted as Fulfillment
to Obtain the Medical Degree

Medical Education Program



by :

**Atika Putri Paranadia
13711015**

**FACULTY OF MEDICINE
ISLAMIC UNIVERSITY OF INDONESIA
YOGYAKARTA
2017**

KARYA TULIS ILMIAH

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) TERHADAP KEPADATAN SERABUT KOLAGEN DALAM PROSES PENYEMBUHAN LUKA PADA TIKUS (*Rattus novergicus*)

Disusun dan diajukan oleh:

Atika Putri Paranadia

13711015

Telah disetujui oleh :

Penguji

Pembimbing



dr. Ukhti Jami Rustiasari, Sp. PA

dr. Zainuri Sabta Nugraha, M.Sc

Ketua Prodi Pendidikan Dokter



dr. Erlina Mafianti, M.Sc, Sp.PD

الجامعة الإسلامية
Yogyakarta

Disahkan oleh

Dekan



dr. Linda Rosita, M.Kes. Sp. PK

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) TERHADAP KEPADATAN SERABUT KOLAGEN DALAM PROSES PENYEMBUHAN LUKA PADA TIKUS (*Rattus novergicus*)

Atika Putri Paranadia, Zainur Sabta Nugraha, Uhkti Jamil Rustiasari

INTISARI

Latar Belakang : Luka merupakan hilang atau rusaknya sebagian jaringan tubuh. Proses penyembuhan luka yang cepat sangat dibutuhkan untuk segera memperbaiki struktur jaringan sehingga fungsi dari kulit dan jaringan lunak tersebut dapat normal kembali. Penyembuhan luka dapat diamati secara histologis salah satunya dengan memantau jumlah atau kepadatan serabut kolagen. Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*) mempunyai kasiat terapi dan telah digunakan oleh orang-orang jaman dahulu untuk merawat kulit termasuk dalam penyembuhan luka. Di Indonesia tanaman Kelor belum banyak digunakan untuk pengobatan. Oleh karena itu, perlu diteliti lebih banyak untuk pemanfaatan yang maksimal.

Tujuan Penelitian : Untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap kepadatan serabut kolagen dalam proses penyembuhan luka insidialampada tikus putih jantan (*Rattus novergicus*)

Metode Penelitian : Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni. Subjek penelitian ini adalah *Rattus novergicus* yang dibagi menjadi 2 kelompok besar, kelompok A dan kelompok B. Kelompok A dilakukan dekapitasi 5 hari pasca insisi. Kelompok A terbagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol (K1), Kelompok perlakuan dengan dosis 25 mg/hari (P1), Kelompok perlakuan dengan dosis 50 mg/hari (P2), Kelompok perlakuan dengan dosis 100 mg/hari (P3). Kelompok B dilakukan dekapitasi 14 hari pasca insisi. Kelompok B terdiri dari 2 kelompok yaitu kelompok kontrol (K2) dan Kelompok perlakuan dengan dosis 100 mg/hari (P4). Jaringan kulit kemudian dibuat kedalam blok parafin dengan pewarnaan hematoxilin dan eosin (HE) sebagai pewarnaan utama dan *mallory aniline blue* sebagai pewarnaan penunjang. Hasil pengamatan dianalisa menggunakan *one-way* ANOVA dan dilanjutkan dengan uji *post-hoc*.

Hasil : Terdapat perbedaan signifikan kepadatan serabut kolagen pada kelompok K1 dan P2 dengan $p=0.028$, K1 dan P3 dengan $p=0,003$, serta P1 dan P3 dengan $p=0,044$.

Kesimpulan : Pemberian ekstrak etanol *Moringa oleifera* dosis 50mg/hari dan 100 mg/hari dapat meningkatkan kepadatan serabut kolagen 5 hari pasca *insisi* pada luka dalam *Rattus novergicus*.

Kata Kunci : *Moringa oleifera*, kepadatan serabut kolagen, penyembuhan luka

ABSTRACT

Background : Wound is defined as lost or damaged tissues of the body. Rapid wound healing process is needed to immediately improve the structure of the tissues so that the function of the skin and soft tissues can be normal again. Wound healing can be observed histologically by monitoring the number or density of collagen fibers. *Moringa oleifera* has therapeutic benefit and has been used by people to treat skin included in wound healing. Moringa plant in Indonesia has not been widely used for treatment. Therefore, needs to be examined more for enhancing utilization.

Objective : The aim of the research is to determine the effect of ethanol extract of Moringa (*Moringa oleifera*) leaves to the density of collagen fibers in the process of wound healing incision in the white male rats (*Rattus novergicus*)

Methods : This study was a purely experimental. The subjects, *Rattus novergicus* were divided into two major groups, Group A and Group B. Group A was divided into 4 groups (6 rats each): control group (K1), treatment group with 25 mg / day doses (P1), treatment group with 50 mg / day doses (P2), treatment group with 100 mg / day doses (P3). This group was decapitated 5 days after incision. Group B consists of two groups (5 rats each): control group (K2) and the treatment group with 100 mg / day doses (P4). This group was decapitated 14 days post incision. The skin tissue was then made into a paraffin block with hematoxylin and eosin (HE) staining as the main coloring and mallory aniline blue staining as propo-net staining. The result of collagen were analyzed using one-way ANOVA followed by post-hoc test.

Result : There are significant differences in the density of collagen fibers in group K1 and P2 ($p = 0.028$), K1 and P3 ($p = 0.003$), as well as P1 and P3 ($p = 0.044$)

Conclusion : Ethanol extract of Moringa oleifera 50mg / day and 100 mg / day can increase the density of collagen fibers at 5 days post incision in *Rattus novergicus*

Keywords : *Moringa oleifera*, collagen fibers, wound healing.

PENDAHULUAN

Kulit merupakan organ tubuh yang letaknya paling luar dan merupakan organ terluas dalam tubuh¹. Luka adalah hilang atau rusaknya sebagian jaringan tubuh. Luka merupakan hilangnya atau rusaknya sebagian jaringan tubuh.

Keadaan ini dapat disebabkan oleh trauma benda tajam dan tumpul, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik,

atau gigitan hewan². Trauma

tajam pada kulit dapat menyebabkan kulit dan jaringan lunak disekitarnya menjadi terbuak sehingga jaringan dibawahnya menjadi terpapar lingkungan luar.

Proses penyembuhan luka yang cepat sangat dibutuhkan untuk segera memperbaiki struktur jaringan sehingga fungsi kulit dan jaringan lunak tersebut dapat normal kembali. Penyembuhan luka dapat terjadi secara cepat

atjika dalam kondisi yang normal, tetapi penyembuhan luka dapat mengalami kendala apabila mengalami berbagai macam gangguan dan komplikasi seperti infeksi, oksigenasi yang kurang, penyakit tertentu seperti diabetes melitus, faktor usia, dan stress³.

Penyembuhan luka dapat diamatisecar histologi salah satunya dengan memantau jumlah atau kepadatan serabut kolagen. Serabut kolagen merupakan salah satu jaringan lunak yang rusak ketika terjadi luka dan akan diperbarui saat proses penyembuhan luka⁴. Serabut kolagen ini akan merpertautkan tepillu kepada proses penyembuhan luka². Oleh karena itu pembentukan serabut kolagen secara cepat dapat membantu mempercepat proses penyembuhan luka.

Moringa oleifera merupakan salah satu tanaman yang banyak ditemukan di Indonesia dan merupakan salah satu obat-obatan tradisional⁵. Di Indonesia, *Moringa oleifera* biasa digunakan sebagai tanaman pagar untuk membatasi tanah. *Moringa oleifera* memiliki khasiat terapi dan telah digunakan oleh orang-orang jaman dahulu untuk merawat kulit dan juga khasiat dalam proses penyembuhan luka. *Moringa oleifera*

dapat mempercepat proses pematangan serabut kolagen dan penutupan luka^{6,7}.

Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap kepadatan serabut kolagen dalam proses penyembuhan luka insisi dalam pada tikus putih jantan (*Rattus novvergicus*).

METODE PENELITIAN

Daun kelor yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kelor dari tiap ranting pohon yang sudah matang. Kriteria daun yang diambil tidak mudah dan tidak diambil seluas mungkin dengan kepentingan penelitian.

Penelitian ini menggunakan tikus putih jantan (*Ratus novvergicus*) sebagai subjek penelitian. Subjek berjumlah 34 ekor tikus yang dibagi menjadi dua kelompok besar yaitu kelompok A yang terdiri dari empat kelompok yaitu kelompok kontrol (K1), kelompok perlakuan dengan pemberian *Moringa oleifera* 25 mg/hari (P1), kelompok dengan pemberian *Moringa oleifera* 50 mg/hari (P2), kelompok dengan pemberian *Moringa oleifera* 100 mg/hari (P3)⁸. Pada kelompok A dilakukan pemberian ekstrak etanol *Moringa oleifera* selama 10 hari dan subjek di insisi pada hari ke-5 pemberian *Moringa*

oleifera dan dilakukan dekapitasi jaringan pada hari ke-10 pemberian ekstrak etanol *Moringa oleifera*. Kelompok B dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol (K2) dan kelompok perlakuan dengan pemberian 100 mg/ hari *Moringa oleifera* (P4). Pada kelompok B dilakukan pemberian ekstrak etanol daun kelor selama 14 hari. Insisi dilakukan pada hari pertama pemberian ekstrak etanol daun kelor dan dekapitasi jaringan dilakukan pada hari ke 14 pemberian ekstrak etanol daun kelor.

Setelah jaringan didekapitasi selanjutnya dilakukan blok menggunakan parafin. Setelah itu dilakukan pengecatan menggunakan *hemtoksilin eosin* (HE) sebagai pewarnaan utama dan *mallory aniline blue* sebagai pembanding.

Setelah dilakukan pengecatan, preparat dilihat menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 40x untuk melihat daerah insisi dan dilanjutkan dengan perbesaran 400x untuk melihat kepadatan serabut kolagen. Kepadatan serabut kolagen dilihat pada 2 gambaran potongan serial preparat pada seluruh lapang pandang atau maksimal 5 lapang pandang. Kepadatan serabut kolagen dibagi menjadi 3 yaitu tidak padat (skor

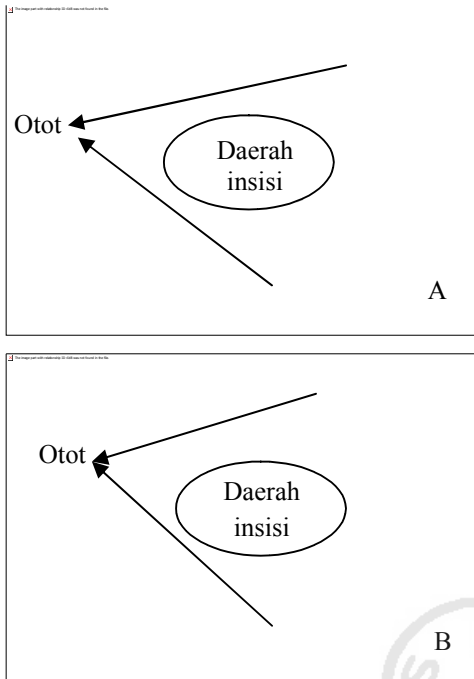
1), padat (skor 2) dan padat sekali (skor 3)⁹.

Setelah dilakukan penilaian pada tiap lapang pandang, hasil akan dirata-rata dan dianalisis. Analisis pada kelompok A dilakukan dengan menggunakan uji *one-way ANOVA* dan dilanjutkan dengan *post hoc* LSD. Sementara untuk kelompok B dilakukan analisis dengan menggunakan uji T tidak berpasangan.

HASIL

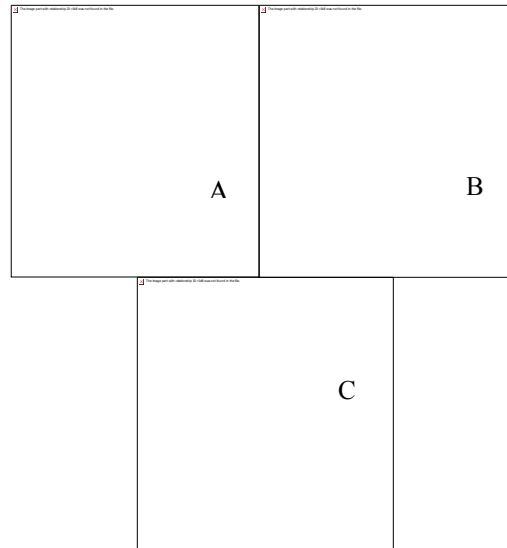
Dalam penelitian ini terdapat 1 subjek dalam kelompok P3 yang masuk kedalam kategori *drop out* sehingga pada akhir penelitian hanya terdapat 33 ekor tikus.

Daerah insisi ditentukan dengan melihat adanya *discontinuitas* otot dan adanya peradangan yang dapat terlihat pada perbesaran 40x dengan menggunakan mikroskop cahaya. Daerah insisi tampak berwarna keunguan dikarenakan pada pewarnaan HE sel yang berinti akan berwarna ungu termasuk sel-sel radang dan fibroblas¹. Selain itu terlihat pula *discontinuitas* otot pada daerah insisi tersebut (Gambar 1).



Gambar 1. Pengamatan histologis perbesaran 40x (A) K1 (B) P3

Kepadatan serabut kolagen di lihat dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Kepadatan serabut kolagen dibagi menjadi tiga tingkatan yaitu kepadatan serabut kolagen dengan skor 1 (tidak padat), 2 (padat) dan 3 (padat sekali) seperti pada Gambar 2.

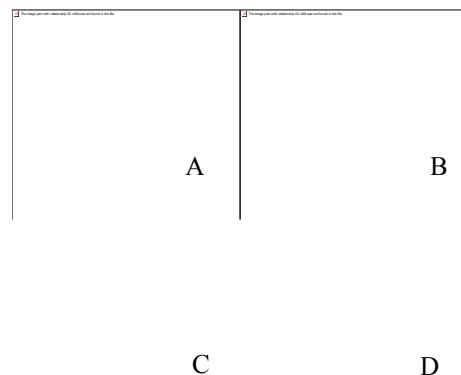


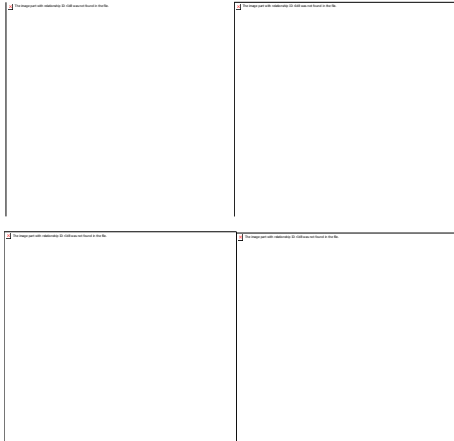
Gambar 2. Transformasi penilaian kepadatan serabut kolagen (A) skor 1, (B) skor 2, (C) skor 3

Tabel 1. Kepadatan Serabut Kolagen

Kelompok A	Kepadatan Kolagen Harik e 5
K1	1,49
P1	1,81
P2	2,05
P3	2,34

Kelompok B	Kepadatan Kolagen Harik e 14
K2	2,74
P4	3,00





Gambar 3. Gambaran histologis kepadatan serabut kolagen (A) K1, (B) P1, (C) P2, (D) P3, (E) K2, (F). P4

Hasil pengamatan kepadatan serabut kolagen ditemukan bahwa kepadatan serabut kolagen yang paling padat pada kelompok A terdapat pada kelompok P3, diikuti dengan kelompok P2, P1 dan yang memiliki skor terkecil adalah kelompok K1. Sementara untuk kelompok B kepadatan serabut kolagen pada kelompok P4 mencapai skor 3 atau maksimal dan kelompok K2 2,74 (Tabel 1) (Gambar 3).

Setelah dilakukan pengamatan kepadatan serabut kolagen dan telah dinilai, dilakukan analisis menggunakan *one-way ANOVA* dan dilanjutkan dengan *post hoc LSD*. Hasil analisis menggunakan *one-way ANOVA* didapatkan hasil yang signifikan pada kelompok A yaitu $p=0,017$. Kemudian dilanjutkan dengan analisis *post hoc*

LSD yang hasilnya adalah kelompok terdapat perbedaan serabut kolagen yang signifikan antara kelompok K1 dan P2 dan $p=0,028$, K1 dengan P3 dengan $p=0,003$ dan P1 dan P3 dengan $p=0,044$. Sementara untuk kelompok B dengan menggunakan uji T tidak berpasangan didapatkan hasil tidak terdapat perbedaan kepadatan serabut kolagen yang bermakna antara kelompok K2 dan P4 dengan $p=0,195$

Tabel 2. Hasil analisis *post hoc* kelompok A

Kelompok (i)	Kelompok (j)	Post-Hoc
K1	P1	0,184
	P2	0,028
	P3	0,003
P1	K1	0,184
	P2	0,328
	P3	0,044
P2	K1	0,028
	P1	0,328
	P3	0,247
P3	K1	0,003
	P1	0,044
	P2	0,247

PEMBAHASAN

Proses penyembuhan luka terdiri dari tiga fase yaitu fase inflamasi, proliferasi dan remodeling.

Pembentukan serabut kolagen masuk ke dalam fase proliferasi yang di dalamnya terdapat fibroblasia. Fase inflamasi dimulai sejak hari pertama terjadinya luka sampai hari ke 5, sementara fase proliferasi dimulai sejak akhir fase inflamasi dan berakhir antara minggu kedua dan minggu ketiga^{2,10}. Pada penelitian ini kelompok A dilakukan dekapitasi jaringan pada hari kelima pasca insisi yaitu waktu peralihan antara fase inflamasi dan fase proliferasi. Kepadatan serabut kolagen bisa lebih cepat apabila fase inflamasi bekerja lebih cepat dan lebih cepat pula beralih ke fase proliferasi di dukung oleh faktor-faktor yang mempercepat terjadinya sintesis kolagen.

Moringa oleifera mengandung kandungan-kandungan yang berperan dalam fase inflamasi maupun fase proliferasi. Kandungan *Moringa oleifera* yang berperan dalam fase inflamasi adalah vitamin A, arginin, dan saponin. Vitamin A memiliki peran penting dalam fase inflamasi proses penyembuhan luka dengan cara meningkatkan jumlah dan aktivasi makrofag serta monosit¹¹. Vitamin A dapat mempercepat inflamasi ke fase proliferasi¹². Arginin merupakan salah

satu asam amino yang berperan penting dalam proses penyembuhan luka. Salah satu peran arginin dalam proses penyembuhan luka adalah menstimulasi sistem imun pada saat fase inflamasi¹³. Saponin merupakan senyawa fitokimia yang berperan dalam meningkatkan interleukin IL-1 β yang merupakan sitokin inflamasi yang dapat meningkatkan akumulasi makrofag¹⁴.

Kandungan *Moringa oleifera* yang berperan dalam fase proliferasi adalah arginin, metionin, sistein, vitamin C, vitamin A, zinc, dan magnesium. Arginin berperan sebagai prekursor prolin pada sintesis kolagen¹⁵. Metionin dan sistein merupakan dua asam amino yang juga berperan dalam proses penyembuhan luka yaitu dengan cara menstimulasi proliferasi fibroblas dan sintesis kolagen. Zinc dan magnesium merupakan mineral yang berperan dalam fase proliferasi. Zinc berperan sebagai katalik aktivitas enzim, protein, dan kolagen, sementara magnesium berperan dalam meningkatkan adenisin triphosphate yang digunakan dalam sintesis kolagen. Selain berperan dalam fase inflamasi, vitamin A juga berperan dalam menstimulasi epitelisasi dan meningkatkan deposit kolagen dalam

fase proliferasi¹¹. Selain vitamin A, vitamin C berperan dalam proses proliferasi fibroblas dan sintesis kolagen yaitu sebagai kofaktor enzim prolil hidrosilase yang akan membentuk hidroksiprolin yang merupakan komponen dari kolagen¹⁶.

Dari hasil penelitian pada kelompok A di dapatkan bahwa pemberian ekstrak *Moringa oleifera* dengan dosis yang lebih besar lebih berpengaruh terhadap kepadatan serabut kolagen. Hal tersebut dikarenakan jumlah zat-zat yang penting dalam proses penyembuhan seperti yang telah disebutkan di paragraf sebelumnya lebih banyak. Hasil dari kelompok K1 terhadap P1 tidak memiliki perbedaan bermakna dimungkinkan karena dosis yang terlalu kecil sehingga tidak bisa memberikan efek yang berarti. Jarak antar dosis yang berurutan tidak terdapat perbedaan kepadatan kolagen yang bermakna dimungkinkan karena kurang luasnya jarak antar dosis *Moringa oleifera* yang diberikan.

Pada penelitian ini kepadatan serabut kolagen pada hari ke 14 pasca insisi tidak berbeda secara bermakna antara kelompok perlakuan dan kontrol. Hal tersebut dikarenakan fase proliferasi

akan berakhir pada minggu ke-3 pasca terjadinya luka². Secara fisiologis serabut kolagen mencapai jumlah maksimal antara minggu kedua dan minggu ketiga pasca trauma¹⁰. Hal tersebut menjelaskan bahwa saat hari ke-14 pasca insisi rata-rata kepadatan kolagen pada kelompok K2 yang tidak diberi *Moringa oleifera* sudah mencapai 2,74 tidak jauh berbeda dengan kelompok P4 yang sudah mencapai angka 3 untuk rata-rata kepadatan kolagennya.

SIMPULAN

Pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) dengan dosis 50 mg/hari dan 100 mg/hari berpengaruh terhadap kepadatan serabut kolagen pada hari kelima pasca insisi dalam proses penyembuhan luka pada *Rattus novergicus*. Pemberian ekstrak etanol 100 mg/hari tidak berpengaruh secara signifikan terhadap kepadatan serabut kolagen pada hari ke-14 pasca insisi pada proses penyembuhan luka pada tikus putih (*Rattus novergicus*).

SIMPULAN

1. Junqueira, L. C., Carneiro, J., 2003, *Basic Histology: Text & Atlas* (10th ed). Tambayong, J. 2007 (AlihBahasa), EGC, Jakarta

2. Sjamsuhidajat, R., 2010, *Buku Ajar Ilmu Bedah Sjamsuhidajat-De Jong* (3rded). EGC, Jakarta
3. Guo, S., DiPietro, L. A., 2010, Factors Affecting Wound Healing, *J Dent res*: 89:219-29
4. Ismardianirta, E., Soebijanto, Sutrisno, 2003, Pengaruh Kuretase Terhadap Penyembuhan Luka Pasca Pencabutan Gigi Kajian Histologi pada Tikus Galur Wistar, *Dent J*: 8:27-80
5. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2007. *Kebijakan Obat Tradisional Nasional*, Bina Kefarmasi dan Alat Kesehatan, Jakarta
6. Qoidah, A. D. C. N., Nugraha, Z. S., Kuswati, 2011, Pengaruh Salep Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Kepadatan Serabut Kolagen dalam Proses Penyembuhan Luka Iris pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*), *KTI*, Jurusan Pendidikan Dokter Universitas Islam Indonesia
7. Rathi, B. S., Bodhankar, S. L., Baheti, A. M., 2006, Evaluation of Aqueous Leaves Extract of *Moringa oleifera* Linn for Wound Healing in Albino Rats, *Indian Ex J Biol*: 44: 898-901
8. Aldilia, A. A., Kisrini, Harhanti, R., 2013, Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk) pada Tikus Putih Jantan, *Proceeding Seminar*, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Jawa Tengah
9. Tandelilin, R. T. C., Sofro, A. S. M., Santoso, A. S., Soesantyo, M., H. N. E., Asmara, W., 2006, The Density of Collagen Fiber in Alveolus Mandibular Bone of Rabbit After Augmentation with Powder Demineralized Bone Matrix Post Incisive Extraction, *Dent J*: 39: 43-7
10. Li, J., Chen, J., Kirsner, R., 2007, Pathophysiology of Acute Wound Healing, *Clindermatol*: 25: 9-18
11. Stechmiller, J. K., 2010, Understanding the Role of Nutrition and Wound Healing, *Nutr Clin Pract*: 25:61-8
12. Lasmadasari, N., Hakim, M., Huriah, T., 2014. Efektifitas Pemberian Oral dan Topikal Gel Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) dalam Penyembuhan Luka pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*), *Tesis*. Jurusan Magister Keperawatan, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta
13. Campos, A.C.L., Groth, A.K., Branco, A.B., 2008, Assessment and Nutritional Aspects of Wound healing, *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 11:281-8
14. Kim, Y. S., Cho, I. H., Jeong, M. J., Jeong, S. J., Nah, S. Y., Cho, Y. S., Kim, S. H., Go, A., Kim, S., E., Kang, S. S., Moon, C. J., Kim, J. C., Kim, S. H., Bae, C. S., 2011, Therapeutic Effect of Total Ginseng Saponin on Skin Wound Healing, *J Ginseng Res*: 35: 360-7
15. Arnold, M., Barbul, A., 2006, Nutrition and Wound Healing, *Plas Recon Surg*: 117: 42-58
16. Murray, R. K., et al, 2012, *Harper's Illustrated Biochemistry* (29thed). Brahm, U. 2014 (Alih Bahasa), EGC, Jakarta