

GAMBARAN MAKROSKOPIS EFEK FRAKSI ETIL ASETAT BUAH PARIJOTO (*Medinilla speciosa* Blume) TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA SAYAT PADA TIKUS WISTAR YANG TERINFEKSI *Staphylococcus aureus* SECARA IN VIVO

Annik Megawati^{1*}, Sri Fitrianingsih², Leavi Farchati³
¹⁻³ Institut Teknologi Kesehatan Cendekia Utama Kudus
Email : annikmegawati33@gmail.com

ABSTRAK

Resistensi antibiotik terhadap *S.aureus* telah menjadi masalah kesehatan yang semakin meningkat diberbagai belahan dunia. Berbagai infeksi yang terjadi disebabkan oleh *S.aureus*. Ekstrak etanol buah parijoto memiliki potensi antiinflamasi dan daya hambat terhadap *S.aureus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran makroskopis fraksi etilasetat buah parijoto terhadap luka terinfeksi *S.aureus*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *The Posttest Only Control Group Design*. Sampel penelitian ini adalah tikus wistar sebanyak 30 ekor dan terdiri dari 5 kelompok perlakuan yang masing-masing kelompok disayat sepanjang 1,5 cm dengan kedalaman 0,3 cm dan diinfeksi dengan *S.aureus*. Kelompok perlakuan tersebut adalah kontrol negatif, kontrol positif, fraksi etil asetat buah parijoto konsentrasi 5%, konsentrasi 10% dan konsentrasi 25%. Hasil pengamatan menunjukkan pada kelompok konsentrasi 5%, 10% dan 25% fraksi uji etil asetat buah parijoto mampu mempercepat perjalanan fase inflamasi bahkan lebih baik dari kontrol positif dan kontrol negatif, karena dalam fraksi etil asetat buah parijoto mengandung flavonoid. Flavonoid bersifat sebagai anti peradangan, anti alergi, mencegah terjadinya oksidasi serta sebagai anti oksidan, sehingga mampu mempercepat penyembuhan luka sayat terinfeksi *S.aureus*. Dapat disimpulkan adanya perbedaan signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif, konsentrasi 10% dan konsentrasi 25%. Konsentrasi optimum yang mampu menyembuhkan luka pada tikus wistar yang terinfeksi *Staphylococcus aureus* terjadi pada konsentrasi 25%.

Kata Kunci: Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume), fraksi etil asetat, luka terinfeksi, *S.aureus*

ABSTRACT

Antibiotic resistance to *S. aureus* has become a health problem that is increasing in various parts of the world. Various infections that occur are caused by *S. aureus*. Ethanol extract of Parijoto fruit has anti-inflammatory potential and inhibitory effect on *S. aureus*. This study aims to determine the macroscopic description of the ethylacetate fraction of Parijoto fruit against *S.aureus* infected wounds. This research is an experimental study with research design *The Posttest Only Control Group Design*. The sample of this study was 30 wistar rats and consisted of 5 treatment groups, each group slashed along 1.5 cm with a depth of 0.3 cm and infected with *S. aureus*. The treatment group was negative control, positive control, ethyl acetate fraction parijoto fruit concentration of 5%, concentration of 10% and concentration of 25%. The results showed that in the concentration group of 5%, 10% and 25% the parijoto ethyl acetate fraction was able to accelerate the course of the inflammatory phase even better than positive controls and negative

controls, because the parijoto ethyl acetate test fraction contained flavonoids. Flavonoids are anti-inflammatory, anti-allergic, prevent oxidation and anti-oxidants, so they can accelerate wound healing infected with S.aureus. It can be concluded that there is a significant difference between the negative control group and the positive control group, as well as between the 10% and 25% concentrations. The optimal concentration capable of healing wounds in Wistar rats infected with Staphylococcus aureus is 25%.

Keyword: *Parijoto fruit (Medinilla speciosa Blume), ethyl acetate fraction, infected wound, S.aureus*

LATAR BELAKANG

Resistensi antibiotik terhadap *Staphylococcus aureus* telah menjadi permasalahan kesehatan yang meningkat diberbagai belahan dunia. *Study* yang telah dilakukan oleh Irwanto R di IGD RSCM pada bulan September hingga Oktober 2008, menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab infeksi jaringan lunak komplikata di IGD RSCM (Putra dkk., 2014^a). *Staphylococcus aureus* adalah bakteri yang tergolong flora normal pada kulit dan selaput mukosa pada manusia. Dapat menyebabkan terjadinya nanah, abses, berbagai infeksi patogen dan bahkan septikimia yang fatal. Penyusun biofilm *Staphylococcus aureus* terdiri dari 5% zinc oksid, 0,12% kalsium oksid, 0,25% magnesium oksid, 70% sukrosa dan pH rendah yang dimiliki menyebabkan kemampuan pembekuan sel *Staphylococcus aureus* menjadi sangat rendah (Akiyama dkk., 2001).

Luka adalah rusaknya kesatuan suatu jaringan. Luka secara umum terdiri dari luka yang disengaja misalnya pada prosedur operasi dan luka yang tidak disengaja misalnya luka yang terjadi karena kecelakaan (Zulfa dkk., 2008). Luka diklasifikasikan dalam dua bagian yaitu berdasarkan proses terjadinya luka (*mechanism of injuri*) dan derajat kontaminasi suatu luka oleh berbagai mikroorganisme (*degree of contamination*) (Abdurrahmat, 2014).

Buah parijoto (*Medinilla speciosa Blume*) merupakan tanaman khas yang berasal dari Pengunungan Muria, Desa Colo, Kabupaten Kudus (Hanum dkk., 2017). tanaman perdu khas, yang daunnya melengkung, tunggal dan bersilang berhadapan. Buahnya berwarna merah muda keunguan, rasanya asam dan sepat (Wibowo dkk., 2012). Senyawa kimia yang ada dalam ekstrak etanol 70% buah parijoto (*Medinilla speciosa Blume*) adalah flavonoid, saponin dan tanin yang memiliki potensi sebagai anti inflamasi (Askandari, 2015). Penelitian yang telah dilakukan Sugiarti dan Pujiastuti (2017) menyatakan bahwa ekstrak etanol buah parijoto memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Pramono dan Resti (2017) menunjukkan bahwa ekstrak daun meniran yang mengandung flavonoid, saponin dan tanin mempunyai kemampuan menyembuhkan luka sayat pada tikus putih jantan galur *Sprague-Dawley*. Pemilihan buah parijoto dalam penelitian ini juga dikarenakan buah parijoto segar tidak memiliki toksistas akut hingga 50 g/Kg BB yang ditandai dengan tidak adanya kematian pada hewan uji dari hari pertama hingga hari terakhir (Megawati dkk, 2017).

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian

Desain penelitian ini adalah eksperimental dengan rancangan penelitian *The Posttest Only Control Group Design*. Dalam penelitian ini pengamatan dan pengukuran awal tidak dilakukan karena pengukuran variabel hanya dilakukan setelah perlakuan. Perlakuan yang diberikan yaitu pemberian fraksi uji etil asetat buah parijoto (*Medinilla speciosa Blume*) dengan berbagai konsentrasi diantaranya 5%, 10% dan 25%.

Populasi dan Sampel

Penelitian dilakukan pada Tikus jantan galur wistar, dengan 5 kelompok perlakuan dan masing diberikan fraksi etil asetat buah Parijoto dengan 5 kali pengulangan.

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah, kandang tikus, botol air, pisau cukur, pisau bedah, pipet tetes, kasa steril, timbangan analitik, penggaris, gelas kimia, nampan, ayakan, oven, kertas label dan blender simplisia, buah parijoto yang diambil dari Pegunungan Muria Desa Colo Kabupaten Kudus, NaCl, Etanol 70%, n-heksan, etil asetat, aquadest, kloramfenikol salep dan ketamin yang di dapatkan dari RSUD Kayen Kabupaten Pati.

Pembuatan Fraksi Etil Asetat Buah Parijoto

Buah parijoto disortasi terlebih dahulu, dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C. Tujuan dari pengeringan ini yaitu supaya simplisia tidak membusuk selama penyimpanan dalam kurung waktu yang cukup lama, dengan adanya kadar air yang cukup tinggi dalam buah juga dapat menyebabkan ekstrak yang dihasilkan nantinya akan mudah ditumbuhi mikroorganisme lain seperti jamur. Selanjutnya dilakukan pengecilan ukuran partikel tujuannya zat aktif yang akan diekstrak lebih maksimal. Kemudian serbuk direndam dengan pelarut etanol 70% selama 3 hari dan sesekali diaduk. Setelah 3 hari filtrat disaring dan maserat diremaserasi dengan jenis pelarut yang sama hingga diperoleh filtrat berwarna bening. Kemudian filtrat yang diperoleh akan ditampung dalam gelas kimia dan dipisahkan dengan *waterbath*.

Ekstrak kental buah parijoto dari hasil ekstraksi sebelumnya kemudian di larutkan kembali dengan etanol 70% dan dimasukkan dalam corong pisah, ditambahkan aquadest diaduk hingga homogen, di fraksinasi berturut-turut dengan n-heksan (1:1) dengan metode ekstraksi cair-cair. Selanjutnya akan diperoleh fraksi n-heksan dan tidak larut n-heksan. Fraksi n-heksan dipisahkan dan fraksi tidak larut n-heksan akan difraksinasi kembali dengan metode cair-cair dengan pelarut etil asetat (1:1), yang akan diperoleh fraksi uji etil asetat buah parijoto dan fraksi air. Fraksi uji etil asetat buah parijoto yang diperoleh akan dipisahkan dengan rotari evaporator pada suhu 38°C dengan kecepatan 200 rpm.

Skrining Fitokimia

1) Uji flavonoid

Sampel dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 5%. Kemudian ditambahkan logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Hasil positif adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna merah atau jingga (Indrayani dkk., 2006).

2) Uji saponin

Sampel ditambahkan dengan beberapa mL aquadest dan dididihkan selama 5 menit kemudian disaring. Filtrat dikocok dalam tabung reaksi tertutup selama 10 menit. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih (Himawan dkk., 2017).

3) Uji tannin

sampel ditambahkan beberapa mL aquadest dan dididihkan selama 5 menit lalu disaring. Filtrat ditetesi FeCl₃ 1%. Uji positif ditandai dengan munculnya warna hitam kehijauan (Himawan dkk., 2017).

Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Uji

Tikus akan dibagi menjadi lima kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus, yang dikelompokkan dalam, kelompok I adalah kontrol negatif (hanya di infeksi),

kelompok II adalah kontrol positif (diberi kalmicetin salep), kelompok III akan diberikan konsentrasi fraksi uji 5%, kelompok IV akan diberikan konsentrasi fraksi uji 10% dan kelompok V diberikan konsentrasi fraksi uji 25%

Pembuatan suspensi bakteri uji dalam penelitian ini, *Staphylococcus aureus* dari biakan media NA diambil 1 ose dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi NaCl 0,9% secara aseptis, selanjutnya tabung reaksi dikocok hingga homogen dan disetarakan kekeruhannya dengan larutan Mc. Farland (Aponno dkk., 2014). Densitas kultur bakteri diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 625nm (OD₆₂₅). OD₆₂₅ yang dihasilkan kemudian dikonversi menjadi 0,1. OD₆₂₅ senilai dengan 0,5 Mc.Farland (Niswah, 2014).

Sebelum diberikan perlakuan, tikus diaklimasi dengan lingkungan tempat penelitian di Laboratorium Farmakologi ITEKES Cendekia Utama Kudus selama 7 hari. Punggung tikus yang telah dicukur licin dan dibersihkan dengan alkohol 70%, akan dibuat luka menggunakan pisau bedah dengan kedalaman 0,3 cm dan panjang luka 1,5 cm yang sebelumnya tikus dianestesi dengan ketamin 0,1 mL secara intra muskular. Luka akan diberikan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* sebanyak 0,2 mL dan dibiarkan selama 24 jam untuk mengetahui apakah kulit tikus mengalami pembengkakan yang menunjukkan bakteri telah berkembang dan menginfeksi luka. Berikut adalah prosedur penelitian yang dilakukan:

- 1) Sebanyak 30 tikus dibagi menjadi 5 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus wistar. Masing-masing kelompok ditempatkan pada satu kandang berbeda.
- 2) Sebelum digunakan untuk penelitian tikus diaklimasi dengan lingkungan setempat selama 7 hari.
- 3) Punggung tikus dicukur dengan pisau cukur hingga licin.
- 4) Sebelum pembuatan luka punggung tikus dibersihkan dengan alkohol 70% dan tikus dianestesi dengan ketamin sebanyak 0,1 mL secara intra muscular terlebih dahulu.
- 5) Kemudian dibuat luka sayatan sepanjang 1,5 cm dengan kedalaman 0,3 cm menggunakan pisau bedah steril.
- 6) Luka sayatan yang telah dibuat pada punggung tikus kemudian diberikan 0,2 mL suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan dibiarkan selama 24 jam.

Masing-masing kelompok yang diberikan perlakuan baik pengolesan fraksi uji dengan berbagai konsentrasi dan pengolesan kalmicetin salep pada luka akan dilakukan sebanyak 3 kali sehari dalam 2 minggu, untuk mengetahui ada atau tidaknya efektivitas penyembuhan luka infeksi pada masing-masing kelompok perlakuan. Setelah hasil diperoleh akan dibuat tabel perbedaan penyembuhan masing-masing kelompok setiap 3 hari untuk mengetahui ada atau tidaknya efektivitas fraksi uji etil asetat buah pari-joto terhadap luka terinfeksi *Staphylococcus aureus* pada masing-masing kelompok.

Analisis Data

Analisis data yang dilakukan dalam penelitian ini dengan mengamati gambaran makroskopis dengan membuat tabel perbedaan penyembuhan luka pada tikus wistar yang terinfeksi *Staphylococcus aureus* dan dilakukan pengamatan makroskopis setiap 3 hari sekali selama 14 hari dengan parameter yang diamati adalah adanya pembengkakan,

terbentunya korpeng dan menutupnya luka.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengeringan simplisia buah parijoto dilakukan dengan oven pada suhu 40 °C, penggunaan oven dalam pengeringan bertujuan agar suhu dapat diatur dan stabil sehingga simplisia dapat kering secara sempurna. Kemudian setelah simplisia kering diserbuk dengan blender simplisia selama 30 detik, tujuan pengecilan ukuran (penyerbukan) adalah untuk memperluas permukaan sampel sehingga penetrasi pelarut ke dalam membran sel simplisia menjadi lebih mudah dan senyawa-senyawa yang ada di dalam simplisia dapat tersari lebih maksimal (Mulyani, 2017). Kadar penyusutan simplisia kering adalah 415,20 gram setelah diblender simplisia kering menjadi 413,22 gram.

Kemudian simplisia buah parijoto kering diekstraksi dengan metode ekstraksi dingin dengan cara maserasi, metode maserasi digunakan karena alat serta cara pengerjaannya sederhana dan mampu menarik zat aktif yang tidak tahan terhadap pemanasan maupun zat yang tahan terhadap pemanasan (Mulyani, 2017). Serbuk simplisia dimaserasi dengan pelarut etanol 70% terlebih dahulu, penggunaan etanol sebagai pelarut dalam ekstraksi ini dikarenakan etanol merupakan pelarut organik yang sering digunakan dalam industri, dan memiliki titik didih yang lebih rendah dan relatif aman digunakan. Etanol juga menyebabkan enzim-enzim tidak bekerja termasuk dalam peragian sehingga menghalangi pertumbuhan jamur dan bakteri (Susanti dkk., 2014). Penggunaan etanol 70% dalam ekstraksi juga dikarenakan dapat menyari sebagian besar metabolit sekunder yang terdapat pada serbuk simplisia (Supriningrum dkk., 2018).

Simplisia kering dimaserasi selama 24 jam dengan botol kaca kemudian maserat dan filtrat disaring, ditampung dalam botol kaca. Selanjutnya maserat kemudian diremaserasi kembali sebanyak tiga kali masing-masing selama 24 jam. Remaserasi dilakukan bertujuan agar zat berkhasiat yang diinginkan dapat tersari lebih maksimal. Kemudian filtrat ditampung dan dikentalkan dengan *water bath* pada suhu 40 °C sehingga diperoleh ekstrak kental buah parijoto. Pengentalan ekstrak bertujuan untuk mengurangi kadar air dalam ekstrak. Kadar air yang cukup tinggi dalam ekstrak etanol buah parijoto dapat memudahkan bakteri dan jamur untuk berkembang biak dan merusak mutu ekstrak (Desiyana dkk., 2016).

Ekstrak kental yang didapatkan kemudian ditimbang sebanyak 20 gram, difraksinasi menggunakan n-heksan:air dengan perbandingan 1:1. Dilakukan beberapa kali hingga n-heksan berwarna bening, kemudian diambil fraksi air. Fraksi air yang telah didapatkan difraksinasi kembali menggunakan etil asetat dengan perbandingan 1:1, dilakukan beberapa kali hingga fraksi etil asetat berwarna bening. Fraksinasi dilakukan pengulangan beberapa kali agar zat berkhasiat yang diinginkan tersari lebih sempurna. Selanjutnya fraksi etil asetat yang didapatkan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh fraksi etil asetat kental.

Tabel 1. Penyusutan Simplisia

Simplisia basah	Simplisia kering	Serbuk
4,5 kg	415,20 gram	413,22 gram

Tabel 2. Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Buah Parijoto

Serbuk parijoto	Ekstrak	Rendemen
413,22 gram	88, 61 gram	21,44%

Metode fraksinasi yang digunakan adalah partisi cair-cair dari ekstrak etanol buah parijoto yang telah dikentalkan kemudian difraksinasi sebagaimana yang telah dijelaskan dan diperoleh fraksi kental etil asetat buah parijoto sebanyak 25 gram dengan rendemen fraksi etil asetat 28,21%. Proses partisi cair-cair merupakan proses pemisahan suatu senyawa berdasarkan kemampuan kelarutannya dalam pelarut yang digunakan (Normayunita dkk., 2015). Pada penelitian yang telah dilakukan fraksinasi cair-cair dilakukan menggunakan tiga pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda yaitu n-heksan, etil asetat dan air. Hal tersebut dilakukan untuk memisahkan senyawa dengan kepolaran rendah ke fraksi n-heksan, kepolaran sedang ke fraksi etil asetat dan kepolaran tinggi ke fraksi air (Normayunita dkk., 2015). Penggunaan etil asetat dalam penelitian ini dikarenakan etil asetat sebagai pelarut semi polar lebih efektif menarik senyawa baik polar maupun non polar dalam buah parijoto terutama senyawa flavonoid, saponin dan tanin.

Tabel 3. Rendemen Fraksi Etil Asetat Buah Parijoto

Bobot ekstrak	Fraksi etil asetat	Rendemen
88, 61 gram	25 gram	28,21%

Hasil skrining fitokimia fraksi etil asetat buah parijoto menunjukkan larutan berwarna merah jingga, hal ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat buah parijoto menunjukkan positif mengandung flavonoid. Perubahan warna tersebut terjadi dikarenakan reduksi oleh asam klorida dan magnesium (Sangi dkk., 2008). Fraksi etil asetat buah parijoto juga menunjukkan positif mengandung saponin, yang ditunjukkan adanya buih pada larutan tersebut. Saponin adalah senyawa yang memiliki gugus hidrofilik dan hidrofob. Pada saat digojok akan terbentuk buih karena adanya gugus hidrofil yang dapat berikatan dengan air sedangkan hidrofob berikatan dengan udara. Pada struktur misel, gugus polar akan menghadap ke luar sedangkan gugus non-polar menghadap ke dalam keadaan tersebut menyebabkan terbentuknya busa pada identifikasi saponin (Simaremare, 2014). Dan juga positif mengandung tannin karena larutan yang berwarna coklat berubah warna menjadi hijau kehitaman. Warna hijau kehitaman merupakan tannin terkondensasi, perubahan warna tersebut terjadi ketika ditambahkan FeCl_3 dikarenakan FeCl_3 bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tannin (Sangi dkk., 2008).

Tabel 4. Hasil Skrining Fitokimia Fraksi Etil Asetat Buah Parijoto

Senyawa	Hasil	Kesimpulan
Flavonoid	+	Merah Jingga
Saponin	+	Ada Buih
Tanin	+	Hijau Kehitaman

Hasil pengamatan makroskopis patologi anatomi penyembuhan luka terinfeksi *Staphylococcus aureus* pada tikus wistar masing-masing kelompok dapat dilihat pada tabel

5. Dalam tabel tersebut disajikan berdasarkan parameter yang telah ditentukan yakni pembengkakan dan terbentuknya korpeng. Pada hari ke-0 hewan uji dilukai dan diinfeksi dengan *Staphylococcus aureus* kemudian dibiarkan selama 24 jam untuk mengetahui adanya bengkak pada luka. Berdasarkan pengamatan patologi anatomi (PA) pada hari ke-0 setelah hewan uji dilukai dan diinfeksi luka masih basah, belum terjadi pembengkakan dan darah mengalir berwarna merah segar. Kemudian pada hari ke-1 luka pada masing-masing kelompok hewan uji mengalami pembengkakan dan pelebaran pembuluh darah pada daerah luka.

Hal tersebut menunjukkan bahwa masing-masing kelompok mengalami fase inflamasi. Pelebaran pembuluh darah pada daerah luka dapat terjadi karena adanya protein yang membentuk jaringan fibrosa untuk menutup luka. Ketika trombosit dan protein menutup luka, luka menjadi lembab, kemudian membentuk fibrin. Selanjutnya trombosit menghasilkan serotonin sehingga terjadi pelebaran pembuluh darah pada daerah luka (Paju dkk., 2013). Sedangkan pembengkakan terjadi karena dalam beberapa menit setelah terjadi cedera jaringan, akan terjadi vasodilatasi yang menyebabkan peningkatan volume darah ditempat. Volume darah yang meningkat di jaringan akan menimbulkan perdarahan. Permeabilitas vaskular yang meningkat kemudian menimbulkan kebocoran cairan pembuluh darah dan menimbulkan edema (Baratawidjaja & Rengganis, 2014).

Invasi bakteri pada kulit tikus ditandai dengan adanya bengkak pada daerah luka seperti halnya hewan uji dalam penelitian. Jaringan yang rusak dan atau adanya toksin bakteri akan melepaskan mediator seperti trombin, histamin dan TNF- α . Mikroba akan melepas endotoksin dan atau eksotoksin, keduanya memacu penglepasan mediator pro-inflamasi dan menyebabkan vasodilatasi serta peningkatan permeabilitas vaskuler dan infiltrasi seluler. TNF- α dan IL-1 yang diproduksi makrofag yang diaktifkan oleh endotoksin asal mikroba berperan dalam permeabilitas vaskuler sehingga akan terjadi kebocoran cairan pembuluh darah dan terjadi edema pada daerah luka (Baratawidjaja & Rengganis, 2014).

Pada kelompok kontrol negatif hari ke-3 mulai menunjukkan bengkak luka yang bertambah dari hari sebelumnya hingga hari ke-6. Hal ini terjadi karena kelompok kontrol negatif tidak diberikan perlakuan apapun sehingga kemungkinan infeksi bakteri menyebar. Infeksi menyebabkan respon inflamasi menjadi lebih lama dan bertambah. Hal tersebut kemudian menyebabkan peningkatan sitokin inflamasi dan protease. Sehingga, terjadi ketidak seimbangan dalam deposisi dan degradasi *Extracellular Matrix* (ECM) yang menyebabkan luka menjadi kronis (McCatry & Percival, 2013).

Bengkak kemudian berkurang secara bertahap mulai hari ke-7 sampai hari ke-14. Pada hari ke-9 kontrol negatif sudah menunjukkan adanya peningkatan kesembuhan dimana bengkak pada luka mulai sedikit berkurang, mulai terbentuk korpeng yang ditandai dengan adanya gumpalan berwarna coklat kehitaman. Hal tersebut dapat terjadi karena respon alami tubuh, dimana tubuh yang sehat memiliki kemampuan alami untuk melindungi dan memulihkan diri (Marpaung dkk., 2014 ; Klokke, 1980).

Pada awal proses peradangan, neutrofil akan melakukan fagositosis dengan cepat dan selanjutnya mati akibat kehadiran beberapa mikroorganisme yang memiliki *virulensi* lebih tinggi dari neutrofil. Neutrofil juga menghasilkan *defensin*, suatu zat yang mampu

membunuh bakteri, jamur dan virus. Pada tahap berikutnya monosit yang telah sampai ke daerah luka akan berubah menjadi makrofag dan mengganti kedudukan neutrofil untuk melakukan fagositosis. Monosit memiliki ukuran yang lebih besar serta kemampuan fagositosis lebih tinggi dibandingkan neutrofil sehingga lebih banyak mikroorganisme yang akan dibunuh (Abdurrahmat, 2014).

Pada kelompok kontrol positif hari ke-6 mulai menunjukkan proses penyembuhan, dimana bengkak pada kelompok ini mulai berkurang dari hari sebelumnya. Pada minggu pertama bengkak memang berkurang, namun tidak lebih cepat dari minggu ke dua, mulai hari ke-11 bengkak sudah tidak ditemukan hingga hari ke-14. Pada hari ke-6 korpeng pada kelompok ini mulai terbentuk, pembentukan korpeng pada kelompok kontrol positif tidak lebih cepat dari kelompok yang diberikan fraksi uji buah parijoto konsentrasi 10% dan 25%. Munculnya korpeng atau krusta setelah perlakuan pada luka merupakan hasil serum yang mengering berwarna kuning dan kehitaman. Setelah tahap inflamasi, kolagen dikeluarkan kemudian proses penggabungan antara tepi luka dimulai dan segera terjadi fase proliferasi (Lostapa dkk., 2016).

Pada konsentrasi 5%, 10% dan 25% masing-masing menunjukkan hasil yang berbeda, dimana pada hari ke-3 bengkak luka pada konsentrasi 5% memang berkurang namun tidak signifikan seperti konsentrasi 10% dan konsentrasi 25%. Perbedaan antar konsentrasi tersebut juga terlihat pada hari ke-6 dimana konsentrasi 5% menunjukkan terbentuknya korpeng namun belum lepas sedangkan pada konsentrasi 10% dan konsentrasi 25% korpeng mulai lepas. Pada minggu kedua hari ke-14 rata-rata tikus pada kelompok konsentrasi 5% masih menunjukkan adanya pembengkakan meskipun bengkak tidak lebih besar dari kelompok kontrol negatif. Namun, pada konsentrasi 10% dan konsentrasi 25% sudah tidak menunjukkan adanya bengkak pada luka mulai hari ke-12. Hal tersebut terjadi karena jumlah fraksi uji etil asetat buah parijoto yang ditambahkan pada masing-masing konsentrasi berbeda, sehingga efektivitas kecepatan penyembuh juga berbeda.

Pada hari ke-9 korpeng pada kelompok kontrol positif sudah mulai terbentuk dan korpeng mulai lepas, sedangkan pada konsentrasi 10% dan konsentrasi 25% korpeng lepas sempurna dan sudah tidak ditemukan korpeng mulai hari ke-12 hingga hari ke-14 pada kedua kelompok tersebut. Hal ini membuktikan bahwa fraksi uji etil asetat buah parijoto mampu mempercepat fase inflamasi dari pada kelompok kontrol positif. Terbentuknya korpeng merupakan suatu mekanisme pelindung, dimana semakin cepat terbentuknya korpeng maka akan semakin mempercepat penyembuhan luka terbuka (Desiyana dkk., 2016).

Cepatnya korpeng terbentuk pada kelompok konsentrasi 5%, 10% dan 25% menunjukkan bahwa konsentrasi fraksi uji juga mampu mempercepat perjalanan fase inflamasi, karena dalam fraksi uji etil asetat buah parijoto mengandung flavonoid. Flavonoid bersifat sebagai anti peradangan, anti alergi, mencegah terjadinya oksidasi serta sebagai anti oksidan. Flavonoid mencegah terjadinya proses oksidasi dan menghambat zat yang bersifat racun yang dapat timbul pada luka (Himawan dkk., 2017).

Sehingga setelah melewati fase inflamasi hewan uji akan segera mengalami fase proliferasi, yang artinya fibroblas akan mulai mensintesis kolagen yang akan menggantikan jaringan ikat di daerah luka dan sintesis kolagen selanjutnya akan menurun dan jumlah

kolagen yang dibentuk akan sebanding dengan jumlah kolagen yang dihancurkan, sehingga setelah 2 minggu diameter luka akan mengecil (Abdurrahmat, 2014). Ekstrak yang mampu menstimulasi pertumbuhan fibroblas memiliki khasiat untuk mempercepat penyembuhan luka. Dalam penelitian ini pertumbuhan fibroblas diamati melalui pembentukan keropeng pada masing-masing kelompok (Fernandes dkk., 2010).

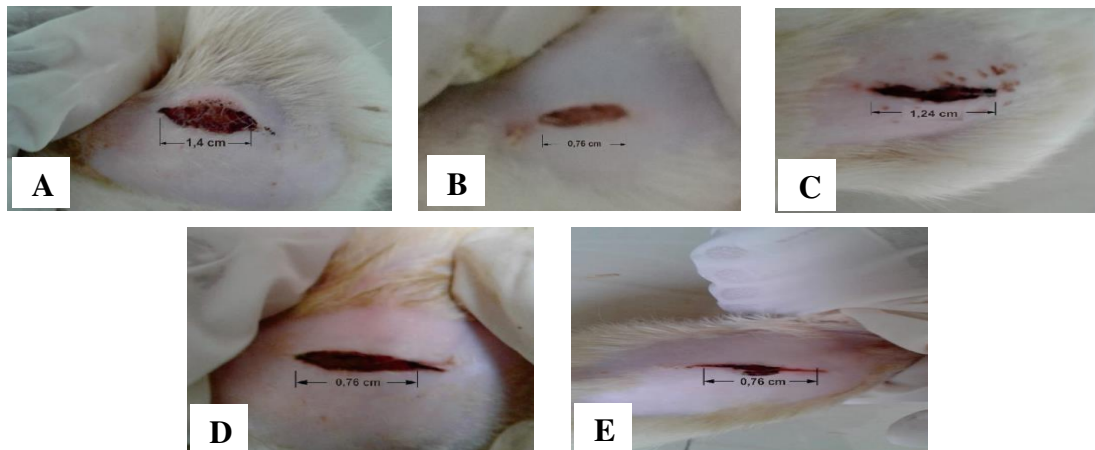
Tabel 5. Hasil Pengamatan Makroskopis secara Patologi Anatomi

Perlakuan	Hari ke-3	Hari ke-6	Hari ke-9
Kontrol Negatif	Luka membengkak, adanya gumpalan darah berwarna merah pucat dan belum terbentuk korpeng.	Bengkak bertambah, adanya gumpalan darah kecoklatan dan belum terbentuk korpeng.	Bengkak mulai berkurang, adanya gumpalan darah coklat kehitaman dan mulai terbentuk korpeng.
Kontrol Positif	Luka membengkak, adanya gumpalan darah berwarna merah muda dan belum terbentuk korpeng.	Bengkak berkurang, adanya gumpalan darah berwarna merah muda dan mulai terbentuk korpeng.	Bengkak berkurang, sudah terbentuk korpeng dan korpeng sudah lepas.
Konsentrasi 5%	Luka membengkak, adanya gumpalan darah berwarna hitam dan belum terbentuk korpeng.	Bengkak berkurang, adanya gumpalan darah berwarna hitam dan sudah terbentuk korpeng.	Bengkak berkurang, sudah terbentuk korpeng dan ujung korpeng mulai lepas.
Konsentrasi 10%	Luka membengkak, adanya gumpalan darah berwarna hitam dan belum terbentuk korpeng.	Bengkak berkurang, adanya gumpalan darah berwarna hitam, sudah terbentuk korpeng. Dan ujung korpeng mulai sedikit lepas.	Bengkak berkurang dan korpeng sudah lepas.
Konsentrasi 25%	Luka membengkak, adanya gumpalan darah berwarna hitam dan belum terbentuk korpeng.	Bengkak berkurang, adanya gumpalan darah berwarna hitam, sudah terbentuk korpeng. dan sebagian lepas.	Bengkak berkurang dan korpeng sudah lepas.

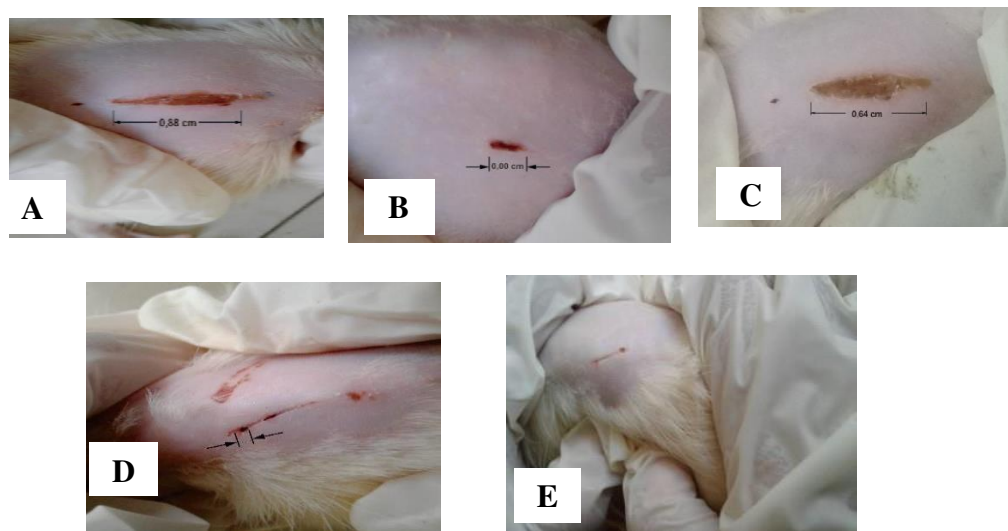
Proses penyembuhan alami setelah terjadinya infeksi akan membutuhkan waktu yang cukup lama, dimana tubuh akan melibatkan mediator dan respon imun dalam tubuh yang lebih kompleks. Fase yang paling penting untuk segera dilalui setelah terjadinya infeksi adalah fase inflamasi. Setelah terjadi infeksi perubahan vaskuler oleh mediator pro- inflamasi akan terjadi. Dimana efek anafilatoksin (C3a dan C5a) yang menginduksi degranulasi sel

mast akan melepaskan histamine (Baratawidjadja & Rengganis, 2014).

Histamin akan menimbulkan vasodilatasi dan kontraksi otot polos. Setelah perubahan vaskuler terjadi, neutrofil akan menempel pada sel endotel dan bermigrasi keluar pembuluh darah ke rongga jaringan yang rusak untuk memakan patogen dan melepaskan mediator yang berperan dalam respon inflamasi. Makrofag jaringan yang diaktifkan akan melepaskan sitokin (IL-1, IL-6 dan TNF- α), ketiga sitokin tersebut akan menginduksi koagulasi dan IL-1 menginduksi ekspresi molekul adhesi pada sel endotel sedangkan TNF- α akan meningkatkan ekspresi selektin-E, IL-1 menginduksi peningkatan ekskresi ICAM-1 dan ICAM-2, sehingga neutrofil akan mengenali molekul adhesi dan bergerak ke dinding pembuluh darah dan selanjutnya ke jaringan yang mengalami infeksi untuk memakan bakteri (Baratawidjadja & Rengganis, 2014).



Gambar 1. Hasil Pengamatan Makroskopis Hari Ke-6. (A) kontrol negatif, (B) kontrol positif, (C) konsentrasi 5%, (D) konsentrasi 10%, (E) konsentrasi 25%.



Gambar 2. Hasil Pengamatan Makroskopis Hari Ke-14. (A) kontrol negatif, (B) kontrol positif, (C) konsentrasi 5%, (D) konsentrasi 10%, (E) konsentrasi 25%.

Tahap inflamasi berlangsung tergantung dari besarnya luka serta tingkat kontaminasi mikroorganisme atau tingkat infeksi yang terjadi pada luka (Abdurrahmat, 2014). Namun, lama dan intensitas inflamasi lokal akut perlu dikontrol agar tidak terjadi kerusakan jaringan. TGF- β akan membatasi respon inflamasi dan memacu akumulasi dan proliferasi fibroblast serta endapan matriks ekstraseluler yang diperlukan untuk perbaikan jaringan.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Fraksi uji etil asetat buah parijoto efektif berpotensi menyembuhkan luka pada tikus wistar yang terinfeksi *Staphylococcus aureus* berdasarkan pengamatan secara makroskopis. Adanya perbedaan signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif, konsentrasi 10% dan konsentrasi 25% namun, tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan konsentrasi 5%. Konsentrasi optimum yang mampu menyembuhkan luka pada tikus wistar yang terinfeksi *Staphylococcus aureus* terjadi pada konsentrasi 25%.

Saran

Perlu dilakukan penelitian dan pengamatan lebih lanjut secara histopatologis meliputi jumlah sel radang dan reepitelisasi jaringan. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk dibuat sediaan farmasi dan uji toksisitas untuk mengetahui batasan konsentrasi yang aman digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdurrahmat, S.A. (2014). 'Luka Peradangan dan Pemulihan'. *Jurnal Enteropi*, 9(1).
- Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, T., & Iwatsuki, K. (2001). 'Antibacterial Action Of Several Tannins Against *Staphylococcus aureus*'. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48, 487–491.
- Aponno, J., Yamlean, P., & Supriati, H. (2014). 'Efektivitas Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* Linn) Terhadap Penyembuhan Luka yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Kelinci (*Orytolagus cuniculus*)'. *Pharmakon*, 3(3).
- Askandari. (2015). 'Uji Aktivitas Anti Inflamasi Ekstrak Etanol 70% Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Baratawidjaja, K., & Rengganis, I. (2014). 'Imunologi Dasar (Sebelas)'. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Desiyana, L.S., Husni, M.A., & Zhafira, S., (2016). 'Uji Efektivitas Sediaan Gel Fraksi Etil Asetat Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* Linn) terhadap Penyembuhan Luka Terbuka pada Mencit (*Mus musculus*)'. *Jurnal Natural*, 16(2), 23-32.
- Fernandes, K.P.S., Sandra, K.B., Marci, M.M., Nisa S., Yamashita W., Erna B., Manoela D.M. (2010). 'Healing and cytotoxic effects of *Psidium guajava* (*Myrtaceae*) leaf extracts'. *Braz J Oral Sci*, 9(4), 449-454.
- Hanum, A., Prihastanti, E., & Jumari. (2017). 'Ethnobotany of utilization, role, and philosophical meaning of parijoto (*Medinilla*, spp) on Mount Muria in Kudus Regency, Central Java (hlm. 090018)'. Dipresentasikan pada the 4th international conference on research, implementation, and education of mathematics and science

- (4th icriems): Research and Education for Developing Scientific Attitude in Sciences And Mathematics, Yogyakarta, Indonesia.
- Himawan, H., Pramono, & Resti, D. (2017). 'Uji Farmakologis Ekstrak Kental Daun Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn) Untuk Membantu Penyembuhan Luka Sayat Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus* strain Sprague-Dawley)'. *Jurnal Farmamedika (Pharmamedica Journal)*, 2(1), 25–32.
- Indrayani, L., Soetjipto, H., & Sihasale, L. (2006). 'Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) terhadap Larva Udang *Artemia alina* Leach'. *Journal of Biological Researches*, 12(1), 57–61.
- Klokke. (1980). 'Pedoman Untuk Pengobatan Luar Penyakit Kulit'. PT. Gramedia : Jakarta.
- Lostapa, W.F.W., Wardhita, A.G., Pemayun, G., & Sudimartini, L.M. (2016). 'The Healing Speed of Wound Incision Were Given Amoxicillin And Mefenamic Acid in The White Rats'. *Buletin Veteriner Udayana*. 8(2), 172-179.
- Marpaung, P.N.S., Wullur, A.C., & Yamlean, P.V.Y. (2014). 'Uji Efektivitas Sediaan Salep Ekstrak Daun Miana (*Coleus scutellarioides* [L] Benth.) untuk Pengobatan Luka Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*)'. *Pharmacon*, 3(3).
- McCarty, S.M., & Percival, S.L. (2013). 'Proteases and Delayed Wound Healing'. *Wound Healing Society*, 2(8).
- Megawati, A., Hastuti, E.D., & Sari, D.E.M. (2017). 'Uji Ketoksikan Akut Buah Parijoto Segar (*Medinilla speciosa* Blume) Terhadap Mencit Jantan Galur Swiss'. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 1(1), 1-8.
- Mulyani, D. (2017). 'Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) dengan Daun Tekelan (*Chromolaena odorata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*'. *Scientea Jurnal Farmasi dan Kesehatan*, 7(2), 77-82.
- Niswah, L. (2014). Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) Menggunakan Metode Difusi Cakram. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Normayunita, S., Anam, S., & Khumaidi, A. (2015). 'Aktivitas Antibakteri Fraksi Ekstrak Kulit Buah Mentah Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *sapientum*) terhadap *Staphylococcus aureus*'. *Online Jurnal of Natural Science*, 4(3), 300-309.
- Paju, N., Yamlean, P.V.Y., & Kojong, N. (2013). 'Uji Efektivitas Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) Yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus*'. *Pharmacon*, 2(1), 51-61.
- Putra^a, M., Suwanto, S., Loho, T., & Abdullah, M. (2014). 'Faktor Risiko *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* pada Pasien Infeksi Kulit dan Jaringan Lunak di Ruang Rawat Inap'. *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia*, 1(1), 3–14.
- Sangi, M., Runtuwene, M.R.J., Simbala, H.E.I., & Makang, V.M.A. (2008). 'Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa'. *Chem. Prog.*, 1(1), 47-53.
- Simaremare, E.S. (2014). 'Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd)'. *Pharmacy*, 11(1).
- Sugiarti, L., & Pujiastuti E. (2017). 'Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Etanol Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume)'. terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia Coli*'. *Prosiding HEFA (Health Events for All)*, 1(1), 25-33.
- Supriningrum, R., Fatimah, N., & Wahyuni, S.N. (2018). 'Penetapan Kadar Flavonoid

- Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* L.) Berdasarkan Perbedaan Cara Pengeringan'. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 4(2), 156-161.
- Susanti, C., Sugiharto, M., Setyani, S., & Subeki. (2014). 'Pengaruh Jumlah Pelarut Etanol dan Suhu Fraksinasi terhadap Karakteristik Lemak Kakao Hasil Ekstraksi Non Alkalized Cacao Powder'. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*, 19(2), 307– 319.
- Zulfa, Z., Nurachmah, E., & Gayatri, D. (2008). 'Perbandingan Penyembuhan Luka Terbuka Menggunakan Balutan Madu atau Balutan Normal Salin-Povidone Iodine'. *Jurnal Keperawatan Indonesia*, 12(1), 34-39–39.