

## PENGARUH EKSTRAK MINYAK BIJI BUNGA MATAHARI (*Helianthus annuus*) TERHADAP PROSES AWAL PENYEMBUHAN LUKA

Rodhiyah<sup>1</sup>, Sulistiyawati<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Pendidikan Biologi – Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga, Yogyakarta

<sup>2</sup> Dosen Pendidikan Biologi - Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga, Yogyakarta

Email: -

### ABSTRAK

Penyembuhan luka merupakan proses pergantian jaringan yang rusak atau mati oleh jaringan yang baru. Proses ini terdiri dari tiga fase yang saling tumpang tindih yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase maturasi atau remodeling. Biji bunga matahari mengandung  $\beta$ -sitosterol, flavonoid dan *linoleic acid* yang mampu memacu proses penyembuhan luka dan sudah dipakai pada pengobatan tradisional. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh aplikasi topikal minyak biji bunga matahari (*Helianthus Annuus*) terhadap proses awal penyembuhan luka.

Penelitian ini menggunakan tiga ekor tikus putih jantan strain *Sprague Dawley* umur 3 bulan dengan berat badan 200-300 gram dibuat luka eksisi *punch biopsy* pada kulit punggung 0,5 cm kanan dan kiri dari columna vertebralis dan 2,5 cm dari telinga. Luka eksisi dibagi menjadi dua kelompok, kelompok kontrol yaitu satu luka eksisi pada punggung sebelah kiri selanjutnya tanpa diberi obat-obatan dan kelompok perlakuan yaitu satu luka eksisi pada punggung sebelah kanan yang ditetesi minyak biji bunga matahari. Tikus dibagi menjadi 3 kelompok terdiri dari 1 ekor tikus sesuai periode dekapitasi yaitu hari ke-3, 7 dan 12 setelah perlakuan. Jaringan luka dibuat preparat histologis untuk mengetahui fase inflamasi pada penyembuhan luka dengan menghitung jumlah sel leukosit PMN.

Hasil penelitian menunjukkan jumlah leukosit PMN hari ke 3 pada kelompok kontrol sejumlah 200 dan pada kelompok minyak biji bunga matahari sejumlah 153 leukosit PMN, dan terus menurun pada hari ke 7 dan 12. Hasil penelitian membuktikan adanya perbedaan yang bermakna jumlah leukosit PMN pada setiap periode dekapitasi dan kelompok. Kesimpulan dari penelitian adalah aplikasi topikal ekstrak minyak biji bunga matahari dapat mempercepat fase inflamasi sehingga penyembuhan luka lebih cepat terjadi.

**Kata kunci:** *penyembuhan luka, Helianthus Annuus, leukosit PMN*

## PENDAHULUAN

### Latar Belakang

Krisis ekonomi yang berkepanjangan menyebabkan masyarakat Indonesia tidak mampu mendapatkan pelayanan kesehatan yang memadai. Pelayanan kesehatan terutama yang menggunakan obat-obat sintetis menjadi sangat mahal serta dapat memberikan efek samping yang membahayakan dan menimbulkan alergi, sehingga masyarakat berusaha mencari solusi kembali pada tradisi nenek moyang dengan menggunakan obat-obat alami. Keuntungan penggunaan obat-obat alami adalah mengurangi efek alergi dan efek samping (Widowati, dkk., 2007).

Indonesia memiliki banyak sekali tumbuhan yang berpotensi sebagai herbal alami, salah satunya adalah bunga matahari yang memiliki kemampuan dalam menyembuhkan luka. Bunga matahari (*Helianthus annuus*) merupakan tumbuhan semusim dari suku kenikir-kenikiran (*Asteracea*) yang populer, baik sebagai tanaman hias maupun tanaman penghasil minyak. Tumbuhan ini biasanya digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit antara lain sebagai penurunan tekanan darah, mengurangi rasa nyeri, antidisentri, merangsang pengeluaran cairan tubuh, seperti hormon dan enzim, merangsang pengeluaran campak, peluruh air seni, merangsang energi vital, menghilangkan rasa nyeri waktu buang air kemih, pereda batuk, anti malaria serta anti radang (Hariana, 2007).

Kemampuan *Helianthus annuus* dalam mempercepat proses penyembuhan luka berasal dari kandungan zat aktif antara lain  $\beta$ -sitosterol, flavonoid dan *linoleic acid* yang terdapat pada bagian biji bunga mataharinya.  $\beta$ -sitosterol merupakan steroid alami yang bersifat estrogenik mampu menjaga kelembaban area luka sehingga memungkinkan pertumbuhan sel. Pada fase inflamasi,  $\beta$ -sitosterol membatasi jumlah prostasiklin sehingga membantu mempercepat fase inflamasi. Flavonoid mampu membatasi jumlah radikal bebas sehingga mencegah kerusakan jaringan yang berlebihan pada fase inflamasi. *Linoleic acid* merupakan asam lemak tak jenuh yang berperan dalam meningkatkan kemotaktik dari leukosit *polymorphonuclear* (PMN) setelah kerusakan jaringan. *Linoleic acid* adalah mediator pro inflamatori kuat yang menyebabkan akumulasi dari leukosit dan makrofag (Marques, dkk., 2004; Puradchikody, dkk., 2006).

Luka adalah hilangnya kontinuitas jaringan yang dapat disebabkan oleh trauma benda tajam atau tumpul, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik atau gigitan hewan. Pada jaringan yang rusak ini selanjutnya akan terjadi proses penyembuhan luka (Atiyeh, 2000).

Segera setelah terjadi luka, jaringan akan memulai proses penyembuhan luka. Penyembuhan luka adalah proses penggantian jaringan yang rusak atau mati oleh jaringan yang baru dan sehat. Penyembuhan



luka merupakan proses dinamis yang mencakup inflamasi, angiogenesis, fibroplasia, epitelisasi, kontraksi luka dan remodeling. Proses yang kompleks ini dibagi menjadi tiga fase penyembuhan yang saling tumpang tindih (*overlapping*) yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase maturasi (Kumar, dkk., 2005).

Fase inflamasi ditandai dengan banyaknya sel radang seperti leukosit polimorfonuklear. Setelah tanda-tanda radang mereda, terjadi fase proliferasi, yang ditandai dengan epitelisasi, angiogenesis dan proliferasi fibroblas. Fibroblas akan mensintesis kolagen dan kolagen yang berlebihan akan diabsorpsi pada fase maturasi (Kumar, dkk., 2005).

Penelitian yang pernah dilakukan menggunakan tanaman bunga matahari adalah efek dari bunga matahari sebagai makanan tambahan terhadap kenaikan konsentrasi sodium dan IL-8 pada air susu ibu pada wanita Tanzania (Filteau, 1999). Penelitian kandungan asam oleat dalam bunga matahari dapat menghambat *C-reactive protein* (CRP) pada sel otot aorta tikus (Xu, dkk., 2007). Penelitian tentang minyak biji bunga matahari lebih tinggi aktifitasnya dalam penyembuhan luka dengan menunjukkan pengurangan daerah luka secara signifikan pada domba (Marques, dkk., 2004). Penelitian mengenai pengaruh ekstrak minyak biji bunga matahari (*Helianthus annuus*) metode maserasi terhadap proses awal penyembuhan luka pada fase inflamasi sepengetahuan penulis belum pernah dilakukan.

### **Rumusan Masalah**

Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak minyak biji bunga matahari secara topikal terhadap proses penyembuhan luka pada fase inflamasi?

### **Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak minyak biji bunga matahari terhadap proses penyembuhan luka pada fase inflamasi.

### **Manfaat Penelitian**

1. Mendapatkan informasi ilmiah tentang pengaruh aplikasi topikal ekstrak minyak biji bunga matahari terhadap penyembuhan luka.
2. Meningkatkan daya guna minyak biji bunga matahari sebagai alternatif untuk penyembuhan luka.

## **METODE PENELITIAN**

### **Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilaksanakan mulai tanggal 5 Januari 2011 – 28 Januari 2011. Bertempat di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM.

### **Bahan dan Alat Penelitian**

#### Bahan Penelitian

1. Tikus putih jantan strain *Sprague Dawley*
2. Pakan tikus
3. Minyak biji bunga matahari.
4. satu set bahan kimia untuk pembuatan sediaan histologis dan pewarnaan HE.
5. Eter

#### Alat Penelitian

1. Kandang tikus individual
2. Timbangan elektrik dan mistar
3. Minor surgery set: skalpel, pinset
4. *Punch Biopsy*
5. Mikroskop cahaya
6. Mikroskop dengan lensa mikrometer
7. Sungkup kaca
8. S spuit injeksi 1 ml



## Cara Kerja

### Pembuatan Ekstrak Minyak Biji Bunga Matahari

Pembuatan minyak biji bunga matahari dilakukan dengan cara maserasi, biji bunga matahari digiling kasar dengan blender sebelum proses pembuatan minyak, biji bunga matahari di oven selama 3 hari kemudian dibuat serbuk diletakkan dalam toples direndam dengan pelarut heksan selama 1-3 hari selanjutnya disaring dan diletakkan di atas wadah dengan bagian yang berlubang-lubang sedangkan air di lapisan bawah. Uap dialirkan melalui pendingin dan sulingan ditampung, minyak yang diperoleh masih dalam bentuk ekstrak minyak (Midian, 1985).

### Pemeliharaan dan Pemilihan Tikus

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental menggunakan tikus putih jantan sebanyak 3 ekor, umur 3 bulan, berat badan 200-300 gr. Tikus putih terlebih dahulu diadaptasikan dengan lingkungan laboratorium selama 1 minggu, diberi pakan dan minum standar, dan ditempatkan di kandang individual.

### Eksisi

Tikus putih dianestesi dengan eter, kemudian dilakukan eksisi kulit punggung 0,5 cm kanan dan kiri kolumna vertebralis dan 2,5 cm dari telinga. Rambut pada area tersebut dicukur dengan luas 3 cm x 3 cm, kulit dieksisi dengan *punch biopsy* diameter 3 mm. *Punch biopsy* ditekan pada kulit kemudian diputar sambil terus ditekan hingga alat menyentuh fascia. *Punch biopsy* ditarik ke atas berikut jaringan yang terpotong. Jaringan yang sudah terpotong oleh *punch biopsy* diangkat menggunakan pinset dan dipotong dengan gunting bedah hingga didapatkan luka berbentuk lingkaran dengan dasar luka adalah fascia. Darah yang keluar dibersihkan dengan *cotton bud* yang telah dicelupkan larutan saline fisiologis.

Tiga ekor tikus putih dibuat 1 luka eksisi pada punggung sebelah kiri dan 1 luka eksisi pada punggung sebelah kanan. Sampel luka pada punggung tikus putih dibagi menjadi 2 kelompok:

1. Kelompok I (kontrol), terdiri 3 sampel luka dari 3 ekor tikus putih dengan 1 luka eksisi pada punggung sebelah kiri selanjutnya tanpa diberikan obat-obatan.
2. Kelompok II (perlakuan), terdiri 3 sampel luka dari 3 ekor tikus putih dengan 1 luka eksisi pada punggung sebelah kanan selanjutnya diberi minyak biji bunga matahari secara tetes menggunakan spuit injeksi 1 ml sebanyak 0,05 ml dua kali sehari dan luka tetap terbuka.

### Dekapitasi

Setiap kelompok tersebut dibagi menjadi 3 kelompok berdasarkan periode dekapitasi yaitu hari ke-3, 7 dan 12, sehingga didapatkan 2 sampel luka dari masing-masing kelompok pada setiap periode dekapitasi. Kemudian sampel dari jaringan luka diambil 2 mm dari tepi luka awal dengan kedalaman subkutan dan dibuat sediaan histologis, untuk mengamati jumlah sel leukosit PMN. Dikarenakan fase inflamasi pada penyembuhan luka dapat dideteksi melalui Jumlah leukosit *polymorphonuclear* (PMN). PMN adalah jumlah sel yang berbentuk bulat dengan inti berbentuk tapal kuda yang terletak dipinggir, berwarna biru keunguan dan sitoplasma yang berwarna merah terang dengan pengecatan hematoksilin-eosin (HE). Penilaian dilakukan dengan menghitung jumlah sel per 10 lapang pandang dengan pembesaran 400x.

### Pembuatan Preparat Histologis

#### 1. Fiksasi organ

Fiksasi organ menggunakan larutan *formalin* 10% dan dilakukan selama 48 jam.

#### 2. Pencucian dan Dehidrasi

Jaringan luka direndam dengan alkohol bertingkat 70%, 80%, 95%, Absolut I, II, dan III masing-masing 1,5 sampai 2 jam.

#### 3. Clearing dan Infiltrasi

Jaringan dimasukkan dalam *clearing agent xylo* I selama 1 jam, *xylo* II dan III selama 1,5 jam. Infiltrasi dalam parafin cair I selama 1,5 jam, dan paraffin cair II selama 2 jam.

#### 4. Embedding/ Penyelubungan

Sampel organ diletakkan pada blok paraffin berupa kotak-kotak kecil dan disimpan pada suhu ruang selama 12 jam.



## 5. Pemotongan/ Section

Sampel organ yang telah diselubungi dengan paraffin selanjutnya dipotong dengan menggunakan mikrotom.

## 6. Pewarnaan

- a. Deparafinisasi menggunakan *xylol* 1, *xylol* 2 dan *xylol* 3 masing-masing selama 3 menit.
- b. Rendam dalam alkohol bertingkat 100%, 95%, 80%, 70%, masing-masing selama  $\pm$  2-3 menit. Kemudian irisan dikeringkan dengan lap.
- c. Preparat dimasukkan ke air mengalir selama 3 menit
- d. Rendaman irisan dalam larutan mayer hematoxylin selama  $\pm$  7 menit
- e. Dicuci dengan air mengalir selama 7 menit
- f. Dimasukkan ke dalam larutan eosin selama  $\pm$  0,5 menit
- g. Preparat dimasukkan ke air wadah I, II, III masing-masing 3 celupan
- h. Rendam ke dalam alkohol bertingkat 70%, 80%, 95%, 100%, masing-masing 3 celup.
- i. Rendam kedalam *xylol* 1, dan *xylol* 2 masing-masing selama 2 menit.
- j. Preparat ditetesi dengan Entelan dan ditutup dengan gelas penutup.
- k. Sediaan diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 100x dan 400x.

## HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

### Hasil Penelitian

Telah dilakukan penelitian terhadap 3 ekor tikus putih jantan strain *Sprague Dawley* di Unit LPPT UGM untuk mengetahui penyembuhan luka setelah pemberian minyak biji bunga matahari. Tiga ekor tikus putih dibuat luka dengan 1 luka eksisi pada punggung sebelah kiri selanjutnya tanpa diberi obat dan 1 luka eksisi pada punggung sebelah kanan yang diberi minyak biji bunga matahari. Satu ekor tikus didekapitasi pada setiap hari ke- 3,7 dan 12. Penelitian dilakukan untuk mengetahui jumlah sel leukosit PMN. Jumlah lekosit PMN kelompok minyak biji bunga matahari dan kelompok tanpa obat (kelompok kontrol) disajikan pada tabe berikut dibawah ini;

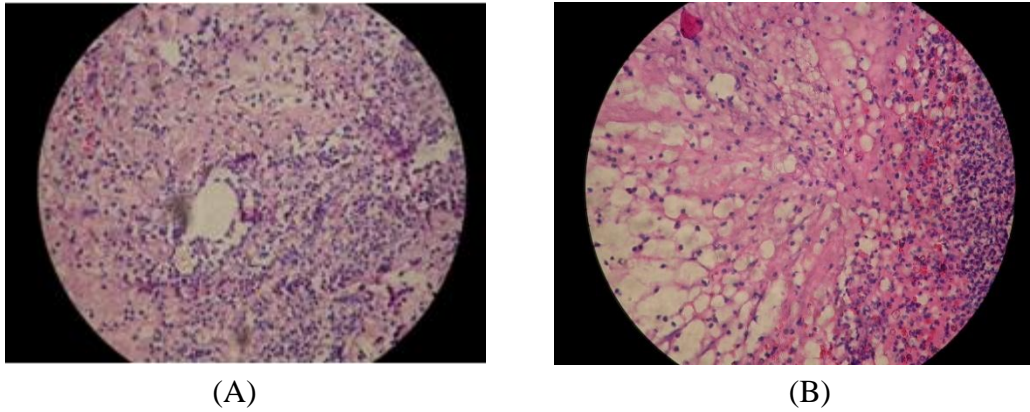
Tabel 1. Jumlah leukosit PMN pada penyembuhan luka eksisi kulit punggung tikus *Sprague Dawley*.

Dekapitasi hari ke	Kelompok kontrol (leukosit PMN)	Kelompok Perlakuan (Biji bunga matahari) (leukosit PMN)
3	200	153
7	91	75
12	19	10

Berdasarkan pada Tabel 1. diatas menunjukkan bahwa sejak hari ke-3 jumlah leukosit PMN kelompok yang diberi minyak biji bunga matahari lebih sedikit dibandingkan kelompok kontrol. Pada hari ke-7, jumlah leukosit PMN pada semua kelompok menurun. Jumlah leukosit PMN paling sedikit terdapat pada kelompok minyak biji bunga matahari pada hari ke-12.

Perbedaan jumlah leukosit PMN berdasarkan periode dekapitasi ini didukung oleh gambaran histologis (gambar) yang menunjukkan pada dekapitasi hari ke-3 dipenuhi sel-sel radang.





Gambar 2. Fotomikroskopik gambaran leukosit PMN (sel yang berbentuk bulat dengan inti berbentuk tapal kuda yang terletak dipinggir, berwarna biru keunguan dan sitoplasma yang berwarna merah terang dengan pengecatan hematoksin-eosin HE) pada penyembuhan luka eksisi kulit punggung tikus Sprague Dawley antara kelompok minyak biji bunga matahari dan kelompok yang tidak diberi obat dengan pengecatan HE (perbesaran 400x). (A) kelompok tanpa obat, (B) kelompok minyak biji bunga matahari (L) Leukosit PMN (tanda panah)

## Pembahasan

Tabel 1 menunjukkan bahwa jumlah leukosit PMN pada kelompok minyak biji bunga matahari lebih sedikit dari pada kelompok kontrol. Hal ini berarti bahwa reaksi inflamasi pada kelompok minyak biji bunga matahari lebih cepat daripada kelompok kontrol.

Tabel 1 juga menunjukkan bahwa pada hari ke-3 jumlah leukosit PMN pada kelompok kontrol sebanyak 200 leukosit PMN dan kelompok minyak biji bunga matahari sebanyak 153 leukosit PMN, kedua kelompok menunjukkan jumlah leukosit PMN yang masih tinggi dan adanya perbedaan yang bermakna dengan hari ke-7 dan 12, setelah hari ke-3 jumlah leukosit PMN menurun dan digantikan makrofag. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa jumlah leukosit PMN mencapai puncaknya kira - kira 48 jam setelah terjadi luka (Kumar, dkk.,2005).

Setelah fase inflamasi selesai, jumlah leukosit semakin menurun terlihat pada hari ke-7 dan semakin menurun pada hari ke-12. Tahapan fase inflamasi pada kelompok minyak biji bunga matahari yang lebih cepat dibanding kelompok kontrol, akan berpengaruh positif yakni akan mempercepat terjadinya fase berikutnya sehingga penyembuhan luka akan lebih cepat.

Berdasarkan hasil yang diperoleh secara keseluruhan dapat dilihat perbedaan yang bermakna pada jumlah leukosit PMN antara kelompok minyak biji bunga matahari dan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan adanya penyembuhan luka yang lebih baik pada kelompok minyak biji bunga matahari dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan minyak biji bunga matahari sebagai pengobatan luka. Hasil dari penelitian tersebut dengan minyak biji bunga matahari luka menunjukkan pengurangan daerah luka secara signifikan dan secara histologis terdapat penambahan serabut kolagen (Marques, dkk., 2004).

Penyembuhan luka pada kelompok minyak biji bunga matahari pada fase inflamasi lebih baik, hal ini disebabkan adanya flavonoid yang berperan sebagai anti oksidan yang mampu membatasi jumlah radikal bebas. Pada fase inflamasi, flavonoid berperan membatasi radikal bebas seperti reactive oxygen species (ROS) sehingga tidak terjadi kerusakan jaringan yang berlebihan dan adanya  $\beta$ -sitosterol yang membatasi jumlah prostasiklin dan Linoleic acid yang merupakan mediator pro inflamatori kuat yang menyebabkan akumulasi dari leukosit dan makrofag sehingga membantu mempercepat fase inflamasi.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa aplikasi topikal ekstrak minyak biji bunga matahari pada penelitian ini dapat mempercepat fase inflamasi sehingga penyembuhan luka menjadi lebih cepat.

### Saran

Penelitian lebih lanjut dapat dilakukan untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak minyak biji bunga matahari pada fase selanjutnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Atiyeh, B.S., Al-Amm, C.A., & Nasser, A.A. (2000). Improved Healing of Split Thickness Skin Graft Donor Sites, *The Journal of Applied Research*. 5(2):78-85.
- Hariana, H.A, 2007, *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya, seri I*, Penebar Swadaya, Jakarta. 57-58.
- Kumar, V., Abbas, A.K., & Fausto, N. (2005). *Robin and Conran: Pathologic Basis of Disease*. Philadelphia: Elsevier Saunders Inc.
- Marques, S.R., Peixoto, C.A., Messias, J.B., Albuquerque., A.R., & Silva, V.A. (2004). *The Effect of Topical Application of Sunflower-seed Oil On Open Wound Healing in Lambs*, Department of Animal Morphology and Physiology, Federal Rural University of Pernambuco. Brazil, <http://www.scielo.br/pdf/acb/v19n3/20406.pdf>. 25/09/2010.
- Midian, S., 1985. Cara Pembuatan Simplisia, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 110-121.
- Puratchikody, A., Nithya, D.C., & Nagalakshmi, G. (2006). Wound Healing activity of cyperus rotundus linn, *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 68(1): 97-101.
- Widowati, S., Sunarintyas, S.B., Nishimura, M., & Hamada, T., 2007, The Difference of Antibacterial Effect of Neem Leaves and Stick Extracts, *Int. Chin J Dent*, 7:27-29.

## DISKUSI

-

