

EFEK ANGIOGENESIS GEL EKSTRAK DAUN LAMTORO (LEUCAENA LEUCOCEPHALA) PADA LUKA INSISI TIKUS

Ahyana Fitriani^{*1}, Achmad Bashori², I.Ketut Sudiana³

¹Mahasiswa Program Studi S2 Ilmu Kedokteran Dasar Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga; Jalan Mayjend Prof. Dr. Moestopo no 47 Surabaya, telp. 031-5030251, fax:031-5022472

²Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga; Jalan Mayjend Prof. Dr. Moestopo no 47 Surabaya, telp. 031-5030251, fax:031-5022472

³Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga; Jalan Mayjend Prof. Dr. Moestopo no 47 Surabaya, telp. 031-5030251, fax:031-5022472

e-mail : H42juna@yahoo.co.id

Abstrak

Proses penyembuhan luka berjalan melalui fase hemostatik, inflamasi, proliferasi dan remodelling. Angiogenesis adalah proses pembentukan vaskuler baru dari vaskuler yang telah ada sebelumnya. Dalam proses penyembuhan luka vaskuler berperan dalam mensuplai oksigen dan nutrisi yang dibutuhkan untuk proses metabolisme sel dan penghilangan sel debris. Kegagalan angiogenesis mengakibatkan tertundanya kesembuhan luka. Daun lamtoro mengandung metabolit tannin, saponin dan flavonoid yang berperan merangsang angiogenesis pada proses penyembuhan luka. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun lamtoro dalam berbagai konsentrasi dalam meningkatkan angiogenesis pada luka insisi menggunakan model tikus. Metode penelitian menggunakan Rattus norvegicus jantan, 150-200 gram yang dibagi ke dalam 8 kelompok yang terdiri dari kelompok kontrol negatif hari ke 3 dan hari ke 5, kelompok ekstrak daun lamtoro 15 % hari ke 3 dan hari ke 5, kelompok ekstrak daun lamtoro 30 % hari ke 3 dan hari ke 5 serta kelompok ekstrak daun lamtoro 45 % hari ke 3 dan hari ke 5. Luka dibuat dengan menginsisi punggung tikus (1,5x1,5 cm) lalu pada masing-masing kelompok dioleskan gel 100 mg 1x sehari hingga hari pengamatan. Tikus dikorbankan hari ke 3 dan ke 5 dan dilakukan identifikasi dengan metode hematoxilin Eosin (HE) dan pengamatan jumlah vaskuler. Hasil penelitian menunjukkan jumlah vaskuler kelompok perlakuan gel ekstrak daun lamtoro 30% dan 45 % berbeda signifikan dibanding kelompok kontrol, baik pada hari ke 3 maupun ke 5. Kesimpulan penelitian menunjukkan ekstrak daun lamtoro meningkatkan jumlah vaskuler pada luka insisi rattus norvegicus.

Kata kunci: angiogenesis, daun lamtoro, jumlah vaskuler

Abstract

Wound healing process goes through the hemostatic phase, inflammation, proliferation and remodeling. Angiogenesis is the process of forming a new vascular from the vascular that has existed before. In wound healing vascular plays a role in supplying oxygen and nutrients that needed for cell metabolism and debris cell removal. Failure of angiogenesis results in delayed wound healing. Lamtoro leaves contain metabolites of tannin, saponins and flavonoids which stimulate angiogenesis in the wound healing. This study aims to determine the effect of lamtoro leaf extract at various concentrations for increasing angiogenesis in incision wounds using mice. The research method used male *Rattus norvegicus*, 150-200 grams divided into 8 groups consisting of negative control group at 3rd and 5th days, 15% lamtoro leaf extract group at 3rd and 5th days, 30% lamtoro leaf extract group at 3rd and 5th days and 45% lamtoro leaf extract group at 3rd and 5th. Wounds were made by incising the back of the mouse (1.5 x 1.5 cm) then in each group was applied by 100 mg gel until observation day finished. Mice were sacrificed at 3rd and 5th days and were identified with hematoxylin eosin (HE) method and observation of vascular counts. The results showed that vascular number in 30% and 45% gel lamtoro leaf's extract significantly different compared to the control group, both on the 3rd and 5th days. Conclusion: The study showed that lamtoro leaf extract increase the vascular number in the *rattus norvegicus* incision wound.

Key word : angiogenesis, lamtoro leaf, vascular amount

1. PENDAHULUAN

Luka merupakan kondisi jaringan kulit yang terputus, robek atau rusak oleh suatu sebab (Librianty, 2015) ataupun kerusakan integritas dan atau terputusnya integritas kulit /jaringan (Saputro, 2014). Menurut Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI tahun 2013, prevalensi cedera secara nasional (8,2 %), mengalami peningkatan dibanding tahun 2007 (7,5%). Penyebab cedera terbanyak adalah jatuh (40,9%) dan kecelakaan sepeda motor (40,6%). Tiga urutan terbanyak luka jenis cedera adalah luka lecet/memar (70,9%), terkilir (27,5%), dan luka robek (23,2%). Data tersebut menunjukkan bahwa angka kejadian luka di Indonesia masih cukup tinggi dan memerlukan alternatif penanganan untuk mempercepat penyembuhan luka. Sejumlah bahan alam diketahui memiliki kandungan senyawa aktif yang berpotensi untuk meningkatkan proses angiogenesis. Saponin diketahui menstimulasi merangsang *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), mempercepat fase inflamasi dan mempercepat proses penyembuhan luka (Rohmah *et al.*, 2016). Daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) diketahui mengandung senyawa saponin, tanin, alkaloid dan flavonoid (Sartimah *et al.*, 2010) yang berpotensi sebagai bahan alam yang dapat digunakan untuk mempercepat penyembuhan luka.

Prinsip pengobatan luka adalah untuk mencapai penutupan luka dengan cepat, pengembalian fungsi dan bekas luka secara estetik (Tonnesen *et al.*, 2000). Tujuan ini diperoleh melalui proses pencegahan infeksi, trauma lebih lanjut dan memberikan lingkungan yang optimal bagi proses penyembuhan luka itu sendiri (Ariningrum, *et al.*, 2017). Fase penyembuhan luka secara umum meliputi *homeostasis*, inflamasi, proliferasi dan *remodeling*. Homeostasis merupakan fase yang terjadi paling awal dalam fase penyembuhan luka di mana pembuluh darah mengalami vasokonstriksi dan endotel serta platelet terdekat mengaktifkan bagian intrinsik dari *cascade* koagulasi sekaligus melepaskan

sitokin dan faktor pertumbuhan yang mengawali respon inflamasi. Fase inflamasi melibatkan sel leukosit, makrofag dan netrofil yang memiliki peran penting dalam proses desinfektan sekaligus mengaktifkan *growth factor* serta sitokin lain yang berperan penting dalam fase proliferasi. Fase proliferasi meliputi angiogenesis dan epitelialisasi untuk mengembalikan integritas barrier kulit yang mengalami disrupsi. Pada fase terakhir jaringan luka akan mengalami remodeling yaitu pematangan jaringan dan mengembalikan normalitas kulit menuju kondisi normal sesuai kondisi kulit sebelum mengalami luka (Broughton *et al.*, 2006). Kegagalan pada salah satu fase penyembuhan terutama dalam proses angiogenesis mengakibatkan luka gagal sembuh secara penuh serta mengakibatkan terjadinya luka kronis (Johnson dan Wilgus, 2013).

Bahan bahan yang mempercepat proses angiogenesis dapat dikategorikan sebagai bahan penyembuh luka. Penggunaan ramuan obat dari tanaman untuk mengobati lesi kulit, khususnya luka bakar dan luka kulit sudah dilakukan masyarakat sejak lama. Berbagai jenis tanaman dengan aktivitas penyembuhan luka telah diteliti pada berbagai model binatang untuk menunjukkan potensi senyawa aktif yang berperan (Al Basal, *et al.*, 2001). Indonesia merupakan negara yang kaya dengan bahan alam dan tanaman yang berpotensi sebagai terapi alternatif untuk pengobatan luka, salah satu diantaranya adalah daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*). Daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) secara empirik irasional sering dipakai masyarakat untuk membantu menyembuhkan luka iris, lecet dan jenis luka *accidental* yang lain. Penggunaannya dengan jalan menghaluskan pucuk daun dan menempelkannya pada area luka.

Salah satu faktor penentu kesuksesan dalam proses penyembuhan luka adalah kecukupan oksigen dan nutrisi yang dibutuhkan oleh sel yang berperan dalam penyembuhan luka. Ketersediaan nutrisi dan oksigen tersebut sangat ditentukan oleh keberadaan vaskular. Pada saat terjadi luka sebagian pembuluh vaskular mengalami kerusakan oleh karenanya diperlukan pembentukan vaskular baru (*neovaskular*).

Angiogenesis adalah proses pembentukan pembuluh darah baru dari pembuluh darah yang sudah ada sebelumnya. Pada saat angiogenesis terjadi pertumbuhan pembuluh kapiler yang saling terhubung membentuk vaskular yang bersifat tetap pada jaringan yang mengalami perlukaan sehingga peran penting pada proses penghilangan debris, penyediaan nutrisi dan oksigen untuk proses metabolisme selama berlangsungnya proses perbaikan jaringan pada daerah luka dapat terjadi. Stimulator yang berperan dalam proses terjadinya angiogenesis selama perbaikan luka antara lain kadar laktat yang tinggi, pH asam, ROS dan penurunan tekanan oksigen dalam jaringan. Sitokin dan faktor pertumbuhan yang terlibat dalam proses angiogenesis antara lain *basic Fibroblast Growth Factor* (bFGF), *Transforming Growth Factor* ($TGF\alpha$, $TGF\beta$), *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dan prostaglandin (Ramasastry *et al.*, 2005). Permukaan sel endotel memiliki reseptor *growth factor* yang berperan aktif dalam pelarutan matriks ekstraselular untuk memudahkan proses migrasi dan proliferasi sel endotel selanjutnya (Johnson dan Wilgus, 2014).

Salah satu alternatif terapi yang digunakan untuk merangsang angiogenesis dalam upaya penyembuhan luka adalah *Hyperbaric Oxygen Therapy* (HBOT) dan *Topical Oxygen Therapy* (Schremi *et al.*, 2010), namun dalam pelaksanaannya memerlukan peralatan khusus dan biaya yang kurang ekonomis oleh karenanya diperlukan bentuk pengobatan baru yang dapat diterapkan sebagai alternatif serta terapi komplementer yang lebih murah dan mudah. Daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) mengandung senyawa metabolit sekunder tanin, saponin dan senyawa aktif lain yang diharapkan berperan dalam proses angiogenesis. Namun, pengaruh pemberian daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) terhadap peningkatan jumlah vaskular pada proses penyembuhan luka hingga saat ini belum bisa dijelaskan.

2. METODE PENELITIAN

2.1. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini merupakan jenis penelitian murni (*true experiment*), dengan desain penelitian *the randomized post test only control group design*. Pemilihan kelompok menggunakan teknik acak yang dibagi menjadi 8 kelompok dengan jumlah 6 ekor tiap kelompok. Pada semua kelompok dioleskan gel sebanyak 100 mg 1x sehari dimana kelompok K3 akan mendapatkan perlakuan perawatan luka dengan menggunakan basis gel, Kelompok K5 menggunakan basis gel, kelompok P1 dan P4 dioleskan gel ekstrak daun lamtoro 15%, kelompok P2 dan P5 dioleskan gel ekstrak daun lamtoro 30%, kelompok P3 dan P6 dioleskan gel ekstrak daun lamtoro 45% hingga hari pengamatan. Kriteria inklusi hewan coba pada penelitian ini yaitu jenis kelamin jantan, berat badan 150- 200 gram, sehat. Sedangkan Kriteria eksklusi dalam penelitian ini yaitu cacat dan tidak sehat dan *drop out* jika tikus mengalami kematian.

2.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium hewan coba departemen farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga penelitian ini dilakukan selama bulan Februari-Maret 2018

2.3. Variabel Penelitian

Variabel pada penelitian ini terdiri dari variabel bebas yaitu pemberian gel ekstrak etanol daun lamtoro 15% dan 45% sebanyak 100 mg. Variabel terikat pada penelitian ini adalah jumlah vaskuler pada proses penyembuhan luka tikus yang diamati pada hari ke 3 dan 5. Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah cara pembuatan luka, tempat pemberian luka, ukuran luka, cara pemberian gel, cara pemeliharaan dan waktu pengamatan yaitu pada hari ke 3 dan 5.

2.4. Definisi Operasional

a) Gel ekstrak daun lamtoro konsentrasi adalah daun yang diekstrak dengan menggunakan pelarut etanol 95% dengan cara maserasi menggunakan vacuum rotary

evaporator dengan suhu 40-50⁰ C. Ekstrak ini dibuat sediaan gel dengan kadar 15%,30% dan 45 %, kemudian diaplikasikan secara topikal dan dioleskan sepanjang luka sebanyak 100 mg sekali sehari.

b) Luka insisi pada binatang coba adalah luka jaringan kulit pada bagian epidermis dan 1/3 dermis di daerah punggung tikus berbentuk persegi empat dengan ukuran 1,5 x 1,5 cm, kedalaman luka 1,5 mm yang ditandai dengan adanya diskontinuitas jaringan

c) Jumlah vaskuler adalah jumlah pembuluh darah yang terdapat pada regio luka pada proses penyembuhan luka yang merupakan hasil pertumbuhan pembuluh darah lama yang memiliki ukuran berkisar 7-9 μ m, dan berwarna kemerahan dilapisi oleh selapis sel endotel yang berbentuk gepeng yang merupakan lempeng tipis melengkung dengan inti lonjong.

3. PROSEDUR PENELITIAN

3.1. Prosedur pembuatan ekstrak

Serbuk daun lamtoro dilakukan maserasi dengan pelarut etanol 96% selama 24 jam dan *dishaker* dengan kecepatan putaran 50 rpm. Ekstrak cair disaring dengan kain penyaring dan ditampung di tabung Erlenmeyer. Ampas hasil penyaringan di remaserasi selama 24 jam. Re-maserasi dilakukan sampai filtrat atau ekstrak lebih jernih. Hasil ekstrak cair diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak hasil evaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator* diuapkan kembali diatas *water bath* selama 2 jam

3.2. Prosedur pembuatan gel

Pembuatan gel diawali dengan mencampur Na CMC dengan aquades hingga homogen, lalu ditambah gliserin dan propilen glikol hingga terbentuk gel yang mengembang dan jernih. Gel yang terbentuk ditambahkan ekstrak daun lamtoro yang dilarutkan dalam sedikit etanol, diaduk hingga homogen dan disimpan dalam wadah tertutup rapat. Formula gel ekstrak daun lamtoro disajikan dalam tabel 1.

3.3. Persiapan dan perlakuan sampel penelitian

Dilakukan pengelompokkan sampel menjadi 8 kelompok dengan cara random, lalu hewan coba diadaptasikan dalam kandang selama 7 hari dalam kandang dan lingkungan yang sesuai. Tikus putih diberi diet 3x/hari. Pembuatan model luka insisi dilakukan dengan mencukur bulu punggung \pm 4 cm². Dilakukan desinfeksi pada area kulit yang akan dilukai menggunakan kapas swab alkohol 70%. Dilakukan anestesi lokal menggunakan lidokain 1% sebanyak 0,1 ml secara subcutan. Bagian yang akan dilukai dipasang duk steril. Selanjutnya dilakukan penyayatan area yang telah ditandai dengan ukuran 1,5 x 1,5 cm berbentuk persegi empat dengan ketebalan penuh (kedalaman 1,5 mm) ditandai dengan terangkatnya kulit bagian epidermis, dermis dan subkutan. Pembuatan luka insisi dilakukan dengan menggunakan teknik aseptis untuk meminimalisir terjadinya infeksi sekunder pada luka insisi.

3.4. Perlakuan hewan coba

Area luka tikus dibersihkan dengan menggunakan kapas steril, selanjutnya dilakukan perawatan luka. Kelompok K3 dan K5 diberikan basis gel, kelompok P1 dan P4 diberikan gel ekstrak daun lamtoro 100 mg, P2 dan P5 diberikan gel ekstrak daun lamtoro 30%, P3 dan P6 diberikan gel ekstrak daun lamtoro 45% masing masing sebanyak 100 mg diberikan 1 kali sehari dengan cara dioleskan merata pada area luka hingga waktu pengamatan. Luka insisi kemudian ditutup dengan kasa dan direkatkan dengan plester yang tidak menyebabkan iritasi.

Tabel 1 Formulasi Gel Ekstrak Daun Lamtoro

| Komposisi Bahan | Formula (Gram) | | | |
|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | Gel ekstrak daun | Gel ekstrak daun | Gel ekstrak daun | Gel ekstrak daun |
| Ekstrak | 0,000 | 7,500 | 15,000 | 22,500 |
| Na- CMC | 2,500 | 2,125 | 1,750 | 1,375 |
| Gliserin | 5,000 | 4,125 | 3,500 | 2,750 |
| Propilen | 2,500 | 2,125 | 1,750 | 1,375 |
| Glikol | Ad 50,000 | Ad 50,000 | Ad 50,000 | Ad 50,000 |
| Aqua | | | | |

3.5. Prosedur pemeriksaan

Hewan coba dieutanasia via inhalasi dengan chloroform. Setelah itu diambil kulit hewan coba untuk pembuatan sediaan histopatologi dan immunohistokimia. Pembuatan preparat imunohistokmia diawali dengan biopsi area tepi luka tikus, kemudian dilanjutkan teknik proses jaringan dengan metode parafin untuk dilakukan identifikasi pembentukan vaskuler dengan pewarnaan Haematoxylin-Eosin (HE). Hasil pewarnaan diamati dengan mikroskop (NIKON E100, kamera Sony A7), dengan pembesaran 400 kali.

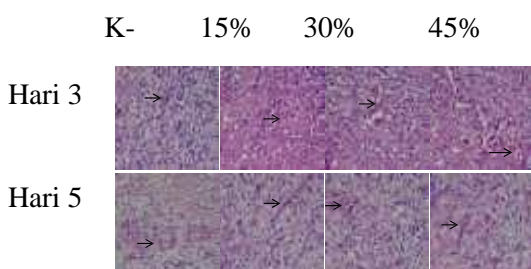
3.6. Pengolahan dan Analisis data

Data yang didapat dilakukan analisa deskriptif untuk melihat nilai *mean* dan standar deviasinya menggunakan program SPSS versi 22.0 (IBM Corp). Normalitas distribusi data diuji dengan uji *Saphiro – Wilk*, homogenitas data diuji dengan *Lavene test*. Uji komparasi menggunakan *OneWay Annova* dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD*.

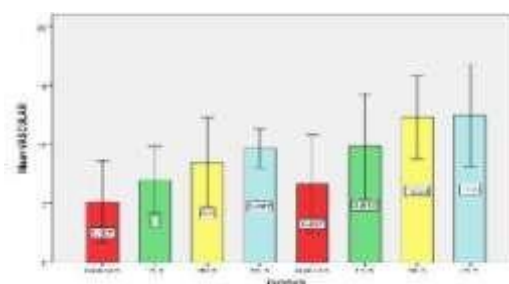
3.7. Ethical clearance

Uji etik terhadap protokol penelitian dilakukan oleh Komite Etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN



Gambar 1. Pembentukan vaskuler pada jaringan luka tikus akibat pemberian basis gel, gel ekstrak daun lamtoro 15%, 30% dan 45% pada hari ke 5 dan hari ke 5



Gambar 2. Grafik rerata jumlah vaskuler pada proses penyembuhan luka dengan pemberian basis gel, gel ekstrak daun lamtoro 15%,30% dan 45% hari ke 3 dan ke 5

Gambar 2 menunjukkan rerata jumlah vaskuler pada area penyembuhan luka antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yang mendapat gel ekstrak daun lamtoro. Uji normalitas dan homogenitas menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dan homogen ($p>0,05$), sehingga dilakukan uji parametrik dengan *OneWay anova* dilanjutkan dengan uji *PostHoc LSD*. Uji *OneWay Annova* terhadap jumlah vaskulermenunjukkan bahwa terdapat perbedaan antar kelompok perlakuan yang ditunjukkan dengan nilai sig.0,000 ($P<0,05$).

Tabel 2 Nilai Signifakansi Uji *Posthoc* LSD Jumlah Vaskuler Hari Ke 3 dan Ke 5 Pada Proses Penyembuhan Luka Tikus

| Kelompok | K3 | P1 | P2 | P3 | K5 | P4 | P5 | P6 |
|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| K3 | - | 0,087 | 0,003 | 0,000 | 0,158 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| P1 | 0,087 | - | 0,158 | 0,015 | 0,751 | 0,010 | 0,000 | 0,000 |
| P2 | 0,003 | 0,158 | - | 0,270 | 0,087 | 0,209 | 0,010 | 0,000 |
| P3 | 0,000 | 0,015 | 0,270 | - | 0,006 | 0,874 | 0,015 | 0,010 |
| K5 | 0,158 | 0,751 | 0,087 | 0,006 | - | 0,004 | 0,000 | 0,000 |
| P4 | 0,000 | 0,010 | 0,209 | 0,874 | 0,004 | - | 0,021 | 0,015 |
| P5 | 0,000 | 0,000 | 0,001 | 0,015 | 0,000 | 0,021 | - | 0,874 |
| P6 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,010 | 0,000 | 0,015 | 0,874 | - |

Uji *post hoc* LSD terhadap data jumlah Vaskuler hari ke 3 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kelompok K3 dengan kelompok P2 dan kelompok K3 dengan kelompok P4, namun tidak terdapat perbedaan signifikan antara kelompok K3 dengan kelompok P1, antara kelompok P1 dengan kelompok P2 serta antara kelompok P2 dengan kelompok P3. Hal ini menandakan bahwa pada hari ke 3 pemberian ekstrak daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) 15% belum secara signifikan meningkatkan pembentukan pembuluh darah, sedangkan ekstrak daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) 30% dan 45% dapat meningkatkan pembentukan vaskuler pada hari ke 3. Uji *post hoc* terhadap data jumlah pembuluh darah hari ke 5 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kelompok K5 dengan kelompok P4, K5 dengan P5, antara kelompok K5 dengan kelompok P6, antara Kelompok P4 dengan kelompok P5 serta antara kelompok P4 dengan kelompok P6, namun tidak terdapat perbedaan signifikan antara kelompok P5 dengan P6. Hasil tersebut membuktikan bahwa pemberian ekstrak daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) dosis 15%,30% dan 45% secara signifikan meningkatkan jumlah pembentukan pembuluh darah pada hari ke 5.

Secara umum, proses angiogenesis dikontrol melalui perubahan level molekul pro angiogenik dan anti angiogenik yang hadir diantara *microenvironment* disekitar vaskular. Beberapa proangiogenik antara lain bFGF, IL-8, PDGF, TGF- β , dan VEGF, sedangkan anti angiogenik antara lain angiostatin, thrombospondin-1 dan endostatin. Kelangsungan hidup pembuluh darah pada fase *quiescence* diduga terjadi ketika level *signal* anti angiogenik lebih besar dibanding level *signal* pro angiogenik, sedangkan pada periode aktifasi terjadi pergeseran keseimbangan mediator dimana level *signal proangiogenic* lebih besar dibanding dengan level *signal antiangiogenic* berdasarkan teori *angiogenic switch*. Ketika terjadi perlukaan pada kulit angiogenesis distimulasi melalui peningkatan produksi beberapa mediator proangiogenik diantaranya adalah VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) (Johnson dan Wilgus, 2014)

Daun lamtoro diketahui mengandung senyawa metabolit flavonoid yang memiliki aktifitas, anti bakteri dan scavenger radikal bebas sehingga berpotensi sebagai anti inflamasi. Selain flavonoid kandungan terpen,coumarin dan sterol juga dilaporkan ada dalam ekstrak daun lamtoro (*Leucaena*

leucocephala) yang berpotensi sebagai anti oksidan (Mohammed, *et al.*, 2015 dan Hasan *et al.*, 2014). Amirah (2014) membuktikan bahwa ekstrak daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) 0,5% memiliki efek anti inflamasi pada tikus yang diinduksi dengan karagenan dibandingkan dengan kontrol (Amirah *et al.*, 2014). Senyawa kimia yang terkandung dalam daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*), terutama senyawa polisakarida dilaporkan dapat meningkatkan limfosit serta kapasitas dan aktifitas makrofag dibandingkan dengan kontrol sehingga berpotensi sebagai imunomodulator (Gamal-Eldeen, *et al.*, 2007). Makrofag merupakan sel yang berperan penting dalam proses penyembuhan luka pada fase inflamasi. Aktivasi Makrofag memiliki implikasi yang bervariasi pada penyembuhan luka, misalnya fagositosis sel debris, sintesis matriks ekstra seluler dan sintesis sitokin yang merangsang peningkatan *vaskuler permeability*, angiogenesis dan epitelialisasi. Sel makrofag selain berperan sebagai anti inflamasi juga berperan dalam fase proliferasi. Selama fase penyembuhan luka normal, makrofag dapat mengalami *switch* dari M1 menjadi M2. Makrofag M1 merupakan makrofag pro inflamasi dan berperan dominan pada fase inflamasi, sedangkan M2 merupakan makrofag pro *healing* /anti inflamasi yang berperan dalam meregulasi inflamasi sehingga mencegah terjadinya inflamasi yang berkepanjangan. Selain meregulasi inflamasi, makrofag M2 juga mengekspresikan beberapa *growth factor* yang penting untuk keterlanjutan fase penyembuhan luka, salah satunya adalah VEGF (Johnson dan Wilgus, 2014).

Fase inflamasi merupakan fase yang penting dalam proses penyembuhan luka, dimana pada fase ini diperlukan dalam rangka fagositosis patogen dan sel debris yang berpotensi mengakibatkan terjadinya infeksi dan menghambat proses penyembuhan luka, namun inflamasi yang terjadi secara berkepanjangan akan mengakibatkan penundaan penyembuhan dan kegagalan vaskularisasi dan kegagalan penyembuhan luka. Peralihan dari fase inflamasi menuju fase proliferasi memegang peranan yang

sangat penting dalam proses penyembuhan luka. Setelah fase inflamasi terjadi selanjutnya proses penyembuhan akan memasuki fase proliferasi yang terjadi mulai 36 jam setelah terjadinya luka (Ramasastry *et al.*, 2005). Makrofag merupakan satu kunci dalam transisi dari fase inflamasi menuju fase proliferasi (Sorg, *et al.*, 2016). Makrofag memproduksi faktor-faktor lain seperti PDGF, TGF beta dan VEGF yang berlaku sebagai sitokin kunci yang dibutuhkan untuk merangsang pembentukan vaskuler dan jaringan granulasi. Terjadinya pembentukan pembuluh darah di hari ke 3 ini kemungkinan terjadi akibat kemampuan metabolit yang terkandung dalam ekstrak daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) dalam meningkatkan jumlah dan aktifitas makrofag sehingga fase proliferasi terjadi lebih awal akibat fase inflamasi yang berjalan lebih singkat.

Daun lamtoro mengandung senyawa tanin terkondensasi dan saponin (Kerman dalam Sartimah 2010, Zarin *et al.*, 2016). Beberapa penelitian sebelumnya menyatakan bahwa jenis tanaman lain yang mengandung tanin, saponin dan flavonoid memiliki efek proangiogenesis dengan meningkatkan ekspresi VEGF (Majewska dan Darmach, 2011). Apriasari (2016) juga menyatakan bahwa tanin, saponin dan flavonoid yang terkandung dalam batang pisang mauli meningkatkan ekspresi VEGF dan meningkatkan angiogenesis pada ulkus rongga mulut. Saponin juga berperan sebagai *immunomodulator*, sedangkan flavonoid memiliki efek *radical scavenger* (Apriasari *et al.*, 2016). Beberapa tanaman yang mengandung komponen tanin, saponin, flavonoid diketahui juga memiliki efek proangiogenik (Apriasari *et al.*, 2017). Ekstrak tanaman tersebut menstimulasi angiogenesis melalui dua jalur yaitu MAPK dependen dan PI3K Akt-eNOS *signaling pathway*. ERK1/2 merupakan salah satu dari target utama jalur signaling MAPK yang memainkan peran penting pada proses migrasi sel endotel dan proliferasi (Majewska dan Darmach, 2011). Kemampuan ekstrak daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) dalam meningkatkan angiogenesis kemungkinan

akibat terjadinya regulasi VEGF oleh tannin, saponin dan flavonoid yang terkandung dalam daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*).

Perbedaan *mean* jumlah vaskuler yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dosis kemungkinan terjadi akibat ekstrak lamtoro (*Leucaena leucocephala*) mampu meningkatkan jumlah makrofag dan meregulasi inflamasi dengan merangsang pergeseran M1 menuju M2. Pergeseran fenotip M1 menuju M2 tersebut meningkatkan ekspresi VEGF yang merupakan growth factor utama dalam proses migrasi dan proliferasi sel endotel vaskuler. Regulasi inflamasi dari daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) juga diduga memberikan dampak percepatan fase inflamasi sehingga tahap penyembuhan dapat

segera memasuki fase proliferasi dimana angiogenesis terjadi didalamnya.

5. Kesimpulan dan Saran

Berdasarkan penelitian dan pengolahan data statistik dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun lamtoro dapat merangsang terjadinya angiogenesis pada luka tikus insisi.

Berdasarkan penelitian penelitian tersebut maka disarankan agar dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek ekstrak daun lamtoro terhadap proses yang terjadi dalam fase penyembuhan lain dalam perjalanan penyembuhan luka, seperti proses epitelialisasi pada fase proliferasi dan pembentukan jaringan scar pada fase remodelling.

DAFTAR PUSTAKA

- Al Basal, A M .2001. The Influence of Some Local Medicinal Plant Extracts on Skin Wound Healing. Activity Evaluated By Histological And Ultra Structural Studies Phd. Thesis. University of Jordan, Amman, Jordan
- Amirah, S ., Kosman, R ., Novianti, R. 2014. 'Uji efek anti-inflamasi ekstrak n- Butanol dan Etil Asetat Daun Petai Cina (*Leucaena leucocephala* (Lamk.) de wit) terhadap mencit jantan (*Mus musculus*) yang diinduksi karagenan. Jurnal bionature, 15 (2):123-126.
- Apriasari, M.L., Dachlan, Y.P., Ernawati, D.S. 2016. 'Effect of *Musa acuminata* stem By Immunohistochemistry Test ini Ulcer. Asian Journal of Biochemistry. 11(3):135-141.
- Apriasari, M.L., Dachlan, Y.P., Ernawati, D.S. 2017. Potensi Bahan Alam Penyembuh Ulkus Mukosa Mulut, Salemba Medika, hal 4-8.
- Ariningrum, D., dan Subandono, J. 2017. Buku Pedoman Ketrampilan Klinis Manajemen Luka . Surakarta : FK Universitas Sebelas Maret. Surakarta
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. 2013. Riset Kesehatan Dasar. pp. 101-104
- Broughton, G., Janis JE, Attinger CE. 2006 The Basic Science of Wound healing. Surg. 117 (Suppl):12S
- Gamaldeen, A.M., Amer, H., Helmy, W.A., Talaat, R.M., Ragab, H. 2007. 'Chemically- modified polysaccharide extract derived from *Leucaena leucocephala* alter Raw 264.7 murine macrophage function'. international immunopharmacology. Elsevier 7:871-878
- Hassan, R.A., Tawfik, W.A., Abou-Setta, L.M., 2014. 'The Flavonoid Constituents of *Leucaena leucocephala* Growing in Egypt, and their Biological Activity. Afr J Tradit Complement Altern Med. 11 (1):67-72
- Johnson, K.E., Wilgus, T.A. 2014. ' Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis in the regulation of Cutaneous Wound Repair. Advances in Wound Care. 3(10). Mary Ann Lieber, Inc
- Librianty N. 2015. Gejala Penyakit dan Penanganannya dalam Panduan Mandiri Melacak Penyakit. Penyunting Chan S cet 1, Jakarta: Lintas Kata hal 8
- Majewska, I., Darmach, E.G. 2011. ' proangiogenic activity of plant extracts in accelerating wound healing – a new face of old phytomedicine. Acta Biochimica Polonica. Polandia. 58(4):449-460.
- Mohammed, R.S., ElSouda, S.S., Taie, H.A.A., Moharam, M.E., Shaker, K.H., 2014. 'Antioxidant, antimicrobial activities of flavonoid glycoside from *Leucaena leucocephala* leaves'. Journal of Applied Pharmaceutical Science 5(06):138-147

- Ramasastri, S.S. 2005. Acute Wound Clinic in Plastic surg 32: 195-228. Elsevier
- Rohmah, S.N. Fuadah D.Z & Girianto .W.R. 2016. Efektifitas Daun Petai Cina (*Leucaena leucocephala*) dan Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) terhadap Proses Penyembuhan Luka Bakar Grade II pada Tikus Putih (*Rattus Novergicus*). Jurnal Ilmu Keperawatan. pp 20-33
- Saputro, I.D. 2014. Dasar Dasar Biomolekuler Penyembuhan Luka. Global Persada Press. Surabaya. Halaman: 1-15
- Sartinah A., Astuti, P., Wahyuono, S. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antibakteri dari Daun Petai Cina (*Leucaena leucocephala* (Lam) De Wit). Majalah obat tradisional; p 22-28
- Schremi, S., Szeimies, R.M., Prantl, L., Karrer, S., Landthaler, M., dan Babilas, M. 2010. Oxygen in Acute and Chronic Wound Healing, Regensburg: British Journal of Dermatology, 163, pp. 257-268
- Sorg, H., Tilkorn, D.J., Hager, S., Hauser, J., Mirastschijski, U. 2016. Skin Wound Healing : an Update on the Current Knowledge and Concepts. European Surgical Research. 58: 81-94. S. Karger AG. Basel
- Tonnesen, M.G., Feng X dan Clark, R.A.F. 2000. "Angiogenesis in Wound Healing". The Society for Investigative Dermatology. Vol 5(1)
- Zarin, M.A., Wan, Y., Hisha, A., Armania, N. 2016. 'anti oxidant, antimicrobial and cytotoxic potential of condensed tannins from *Leucaena leucocephala* hybrid-Rendang food and human wellness. Elsevier. 5: 65-75.