

Pemanfaatan Daun Kelor (*Moringa oleifera lamk*) untuk Penyembuhan Luka Tikus Ovariectomi yang Diberi Diet Tinggi Lemak

Utilization of Moringa Leaves (*Moringa oleifera lamk*) for Wound Healing in Ovariectomized Rats Given a High Fat Diet

Sucia Fadillah¹, Dhirgo Adji², Devita Anggraeni^{2*}

¹Program Studi Sain Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

²Bagian Ilmu Bedah dan Radiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

*Corresponding author, Email: devita_anggraeni@yahoo.com

Naskah diterima: 10 Juli 2022, revisi: 2 April 2024, diterima: 6 November 2024

Abstract

The objective of this experiment was to determine body weight, cholesterol, triglycerides and blood glucose, and study effect of moringa leaf ethanol extract ointment in wound healing ovariectomized rats given a high fat diet based on blood total leukocytes, leukocyte numbers in wounded skin and histopathological. Sixteen female ovariectomized rats (3-4 months) divided into 4 treatment groups (A,B,C and D). Rats in group A and C were fed a normal diet, while rats in group B and D were fed a high fat diet. After 8 weeks of treatment, body weight was measured, blood was collected for analysis of lipid levels (cholesterol and triglycerides) and glucose. Skin biopsy (8 mm) was done on the left and right back of rats. Treatment was done by giving ointment for 7 days and injection of antibiotics. The wound of the rats in group A and B was treated with base ointment, while group B and D was treated with 20% moringa leaf ethanol extract (EEDK 20%) ointment. On the 7th day, blood was collected for a total leukocyte analysis and wounded skin was taken for histopathological analysis. Results of this experiment showed that blood total leukocytes and leukocyte number were influenced by the type of ointment ($P<0.05$). Application of EEDK 20% can lower blood total leukocyte and reduce the number of leukocyte on wounded skin. There was a significant interaction between diet and ointment on blood total leukocyte ($P<0.05$). Histopathological analysis showed that the wound had not closed in all treatment rats, but the diameter of wound had been reduced in group C and group D. In conclusion, EEDK 20% application was effective in healing wound of ovariectomized rats given a high fat diet.

Keywords: EEDK 20%; healing; high fat; moringa leaves; wound

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui berat badan, kolesterol total, trigliserida dan glukosa darah, serta mengetahui efektivitas pemberian salep ekstrak etanol daun kelor 20% (EEDK 20%) pada penyembuhan luka berdasarkan total leukosit darah, jumlah leukosit pada jaringan luka dan gambaran histopatologi. Tikus *Sprague-Dawley* betina, umur 3-4 bulan dengan berat 150-200 g, berjumlah 16 ekor dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan (A,B,C dan D) secara acak. Seluruh tikus diovariectomi dan diberi pakan selama 8 minggu. Kelompok A dan C diberi pakan normal sedangkan B dan D diberi pakan tinggi lemak. Kemudian dilakukan penimbangan berat badan, pengambilan darah untuk analisis kadar lemak (kolesterol dan trigliserida), glukosa, dan pembuatan luka di area punggung kiri dan kanan dengan *biopsy punch* (8 mm). Perawatan dilakukan dengan pemberian salep selama 7 hari dan injeksi antibiotik. Kelompok A dan B diberi salep basis sedangkan C dan D diberi salep EEDK 20%. Hari ke-7 dilakukan pengambilan darah untuk analisis total leukosit dan

pengambilan jaringan kulit untuk analisis histopatologi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa total leukosit darah dan jumlah leukosit jaringan dipengaruhi oleh jenis salep ($P < 0,05$). Salep EEDK 20% dapat menurunkan total leukosit darah dan menurunkan jumlah leukosit jaringan. Terdapat interaksi yang signifikan antara pakan dan pemberian salep terhadap total leukosit darah ($P < 0,05$). Analisis histopatologis menunjukkan luka belum menutup pada seluruh tikus perlakuan, namun diameter luka sudah mengecil pada kelompok C dan kelompok D. Dapat disimpulkan bahwa pemberian salep EEDK 20% efektif mempercepat penyembuhan luka tikus yang diovariectomi dan diberi pakan tinggi lemak.

Kata kunci: daun kelor; luka; penyembuhan; salep EEDK 20%; tinggi lemak

Pendahuluan

Kesembuhan luka merupakan suatu proses yang kompleks untuk memperbaiki integritas struktural dan fungsional melalui kegiatan bioseluler dan biokimia yang terjadi secara berkesinambungan (Purnama, 2017). Proses kesembuhan luka meliputi interaksi sel yang berkelanjutan dan sel matriks yang menyebabkan terjadinya proses inflamasi, kontraksi luka, re-epitelisasi, remodeling jaringan, dan pembentukan jaringan granulasi dengan angiogenesis (Isrofah *et al.*, 2015).

Proses kesembuhan luka tidak selalu berjalan dengan normal. Terdapat beberapa faktor yang dapat menghambat proses kesembuhan luka sehingga penyembuhan berlangsung lama di antaranya: infeksi, kurang nutrisi, trauma, pengaruh obat-obatan, oksigenasi dan sirkulasi darah yang buruk, kelebihan kadar lemak (kegemukan dan obesitas) dan kadar gula yang tinggi dalam darah (Guo dan DiPietro, 2010).

Obesitas dan kegemukan merupakan kondisi adanya penumpukan lemak yang abnormal atau berlebihan di dalam tubuh yang berisiko bagi kesehatan, yang disebabkan oleh tidak seimbangnya jumlah energi yang masuk dan dikeluarkan (WHO, 2019). Diet tinggi lemak juga dapat menyebabkan terjadinya obesitas karena asupan lemak yang melebihi kebutuhan, sehingga terjadi penumpukan lemak ditubuh (Pence dan Woods, 2014). Menurut Iwasa *et al.* (2018), selain pemberian diet tinggi lemak, ovariectomi juga dapat meningkatkan risiko terjadinya penambahan berat badan dan peningkatan kadar lemak tubuh. Pendapat ini didukung oleh Fitriani (2016), yang menyatakan bahwa penurunan kadar estrogen disertai dengan penambahan berat badan, dan penurunan pengeluaran energi. Estrogen juga

memiliki efek mirip dengan leptin dimana dapat mempengaruhi asupan makanan (Medina, 2019).

Individu yang mengalami obesitas baik karena diet tinggi lemak maupun ovariectomi dapat mengalami gangguan dalam penyembuhan luka (Iwasa *et al.*, 2018). Kadar lemak yang tinggi dalam darah dapat menyebabkan sirkulasi darah tidak lancar. Sirkulasi darah yang buruk dapat mengurangi suplai darah ke jaringan luka sehingga menyebabkan proses penyembuhan luka menjadi lama, karena darah berperan membawa nutrisi dan oksigen yang dibutuhkan untuk pertumbuhan sel-sel baru (Pence dan Woods, 2014; Balqis *et al.*, 2014). Menurut Guo dan DiPietro, (2010), bahwa jaringan lemak mensekresikan substansi bioaktif yakni adipokin dalam jumlah besar. Selain itu, molekul bioaktif lain yakni sitokin, kemokin, leptin, adiponektin, dan resistin juga dihasilkan oleh sel lemak dan makrofag dalam jaringan lemak. Adipokin memiliki efek yang kuat pada respons imun dan inflamasi. Adipokin memiliki dampak negatif terhadap sistem imun seperti terganggunya fungsi sel mononuklear, penurunan proliferasi limfosit, dan perubahan level sitokin perifer yang dapat memengaruhi proses kesembuhan luka. Oleh karena itu, luka haruslah ditangani dan diobati dengan benar sehingga penyembuhan menjadi lebih cepat.

Diet tinggi lemak dapat menyebabkan terjadinya gangguan metabolik. Kondisi ini selain ditandai dengan peningkatan kadar lemak dan obesitas, juga ditandai dengan terjadinya resistensi insulin yang mengakibatkan peningkatan glukosa darah, sehingga dapat memicu risiko terjadinya diabetes mellitus tipe 2 (Mutiyani *et al.*, 2014). Jaringan lemak pada individu obesitas menyebabkan peningkatan

asam lemak bebas yang mempengaruhi perubahan sekresi insulin yang menyebabkan kesalahan pengaturan glukosa (McCance dan Huether, 2014). Glukosa darah yang meningkat dapat menyebabkan luka menjadi kronis sehingga semakin sulit sembuh, karena ada perpanjangan fase haemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodeling pada penyembuhan luka (Kintoko dkk., 2017).

Kecepatan penyembuhan luka dipengaruhi zat-zat yang terdapat dalam obat yang diberikan dan memiliki kemampuan meningkatkan penyembuhan dengan cara merangsang pertumbuhan sel baru pada kulit lebih cepat (Rahim *et al.*, 2011). Indonesia kaya akan berbagai macam tumbuhan herbal yang dapat mengobati berbagai macam penyakit dan luka, salah satunya tanaman kelor. Kelor (*Moringa oleifera lamk*) merupakan tanaman herbal yang tumbuh di daerah tropis seperti di Indonesia. Kelor memiliki banyak khasiat sehingga sering dimanfaatkan bagi kesehatan. Tanaman herbal ini digunakan untuk mengobati penyakit dan meningkatkan kesehatan tubuh (Cahyani, 2017).

Saat ini, banyak penelitian ilmiah yang membuktikan bahwa kelor mempunyai manfaat dalam mengatasi berbagai macam penyakit termasuk luka. Menurut Aminah *et al.* (2015), manfaat dan khasiat tanaman kelor (*Moringa oleifera lamk*) terdapat pada semua bagian tanaman, baik daun, batang, akar maupun biji. Namun, daun pada umumnya yang paling banyak digunakan, karena kaya akan protein, mineral, β karoten dan senyawa antioksidan. Zat hijau daun (klorofil) pada daun kelor juga dapat mempercepat penyembuhan luka (Maria *et al.*, 2016). Menurut Berawi *et al.* (2019), daun kelor mengandung berbagai *phytochemical* seperti alkaloid, flavonoid, steroid, tanin, saponin, polifenol dan lain-lain yang dapat digunakan sebagai antimikroba, antioksidan, antiinflamasi, antikanker, antidiabetes dan manfaat lainnya. Senyawa seperti flavonoid, saponin dan senyawa polifenol yang diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi (Maria *et al.*, 2016).

Riset mengenai penyembuhan luka dengan pemanfaatan daun kelor baik yang diberikan secara topikal maupun oral pada berbagai macam jenis luka telah banyak dilakukan dan terbukti dapat membantu penyembuhan luka.

Akyun *et al.* (2019) menjelaskan bahwa keadaan obesitas dengan kadar estrogen yang rendah akan menghambat penyembuhan luka karena penurunan kadar estrogen yang menyebabkan terganggunya sintesis kolagen oleh fibroblas dalam dermis. Oleh sebab itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui efektivitas daun kelor pada penyembuhan luka tikus dalam kondisi ovariektomi yang diberi diet tinggi lemak.

Materi dan Metode

Enam belas ekor tikus *Sprague-Dawley* betina umur 3-4 bulan dengan berat badan 150-200 gram, ditempatkan dalam kandang individu. Seluruh tikus diovariektomi dan dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan (A, B, C, dan D) secara acak masing-masing 4 ekor. Tikus dianestesi menggunakan *ketamine* (50 mg/kg) dan *xylazin* (5 mg/kg) secara intramuskular pada kaki belakang (muskulus *quadriceps*). Pencukuran rambut dilakukan pada area ventral/abdomen dan diolesi dengan alkohol 70% dan iodine secara bertahap. Lakukan insisi mulai dari kulit, subkutan, dan muskulus dinding abdomen. Ovarium beserta saluran tuba fallopii dan kornua uteri ikut terbawa keluar rongga abdomen. Lakukan ligasi pada *cranial* dan *caudal* ovarium, kemudian pemotongan dilakukan di antara ovarium dan ligasi. Kornua uteri kemudian dikembalikan ke dalam rongga abdomen. Ovarium kanan dan kiri diambil dengan cara yang sama. Selanjutnya penutupan dinding abdomen dilakukan dengan menjahit menggunakan benang *cat gut*, kemudian kulit dijahit menggunakan benang *silk*.

Hewan uji diberi perlakuan pakan selama 8 minggu, kelompok A dan C diberi pakan normal dan kelompok B dan D diberi pakan tinggi lemak (Tabel 1). Dalam penelitian ini juga menggunakan 4 ekor tikus non ovariektomi yang diberi pakan normal sebagai tikus kontrol.

Setelah 8 minggu perlakuan pakan, dilakukan penimbangan berat badan, pengambilan darah melalui medial *canthus sinus orbitalis* untuk analisis glukosa darah, lemak darah (total kolesterol dan trigliserida), dan pembuatan luka di area punggung kiri dan kanan dengan *biopsy punch* (8 mm). Hewan uji dianestesi terlebih dahulu, kemudian dilakukan pencukuran rambut di daerah *dorsolateral* punggung. Kulit

Tabel 1. Komposisi pakan hewan uji

Komponen Pakan	Tinggi Lemak	
	Normal (g/100g)	(g/100g)
Vitamin	5	5
Selulosa	5	5
Lemak Hewani	4	15
Sukrosa	10	10
Tepung Jagung	62	51
Kasein	14	14
Total	100	100

di area punggung dibersihkan dengan alkohol 70% lalu diolesi iodine dan dipasang kain duk. Area punggung kanan dan kiri dibuat luka eksisi menggunakan *punch biopsy* berdiameter 8 mm dengan ketebalan sampai subkutan (Kintoko *et al.*, 2017; Lasmadasari, 2013).

Perawatan luka dilakukan dengan injeksi antibiotik setelah pembuatan luka pada seluruh tikus dan pemberian salep selama 7 hari, dimana kelompok A dan B diberi basis salep, sedangkan kelompok C dan D diberi salep EEDK 20% (Tabel 2).

Tabel 2. Perbandingan komposisi salep basis dan ekstrak etanol daun kelor

Formulasi	Salep	
	Basis (g)	EEDK 20% (g)
Ekstrak daun kelor	0 (g)	20 (g)
Adeps Lanae	15 (g)	12 (g)
Vaselin Album	85 (g)	68 (g)
m.f unguenta	100 (g)	100 (g)

Pada hari ke-7 setelah pembuatan luka dilakukan pengambilan darah untuk analisis total leukosit dan pengambilan jaringan kulit luka untuk pemeriksaan histopatologi dan penghitungan jumlah leukosit jaringan dengan pewarnaan HE (*Hematoxylin-Eosin*). Jumlah leukosit di jaringan dihitung dengan mikroskop cahaya pada lima lapang pandang secara random dengan perbesaran 400x.

Data berat badan, glukosa darah dan lemak darah (kolesterol total dan trigliserida) dianalisis menggunakan uji *One Way ANOVA*, untuk membandingkan kelompok yang diberi pakan normal (A dan C) dengan kelompok yang diberi diet tinggi lemak (B dan D). Total leukosit darah dan jumlah leukosit di jaringan dianalisis secara

statistik dengan *Two Way ANOVA* pola faktorial 2 x 2. Analisis histopatologi dan dilakukan secara deskriptif dengan membandingkan perubahan gambaran histopatologis antar kelompok perlakuan.

Seluruh prosedur dalam kegiatan penelitian ini telah disetujui oleh Komisi *Ethical Clearance* Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, dengan Surat Keterangan Kelaikan Etik No 012/EC-LPPT/Int./2022.

Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan pada berat badan antara kelompok tikus yang diberi pakan normal ($301,00 \pm 3,07$) dan tinggi lemak ($298,37 \pm 4,98$) dengan nilai $P > 0,05$ (Tabel 3) meskipun demikian rata-rata berat badan kedua kelompok tersebut diatas rata-rata berat badan tikus kontrol (non-OV yang diberi pakan normal) yaitu $254,50 \pm 5,00$. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan ovariektomi dapat mempengaruhi peningkatan berat badan pada tikus baik yang diberi pakan normal maupun tinggi lemak. Kondisi penurunan estrogen pasca ovariektomi akan membuat tubuh berusaha mencari sumber estrogen lain. Sel lemak dapat menghasilkan estrogen sehingga tubuh bekerja lebih keras untuk mengubah kalori menjadi lemak dengan tujuan menaikkan kadar estrogen. Akan tetapi sel lemak tidak membakar kalori seperti halnya sel otot sehingga memicu kenaikan berat badan (Harpaz dan Wolff, 2014). Selain itu Estrogen juga dapat mempengaruhi asupan makanan. Defisiensi estrogen menyebabkan produksi neuropeptida oreksigenik Y (NPY) berlebih sehingga meningkatkan nafsu makan dan asupan yang kemudian memicu terjadinya obesitas (Medina, 2019).

Pemberian pakan tinggi lemak dapat meningkatkan kadar kolesterol total dan trigliserida. Kadar kolesterol total kelompok tikus yang diberi pakan tinggi lemak ($187,32 \pm 7,45$) secara signifikan lebih rendah dibandingkan kelompok tikus yang diberi pakan tinggi lemak ($207,50 \pm 2,50$), demikian juga dengan kadar trigliserida kelompok tikus yang diberi pakan normal ($123,70 \pm 3,36$) juga secara signifikan lebih rendah dibandingkan kelompok tikus yang diberi pakan tinggi lemak

(140,57 ± 1,82) dengan nilai $P < 0,05$ (Tabel 3). Asupan lemak tinggi dari pakan dapat menyebabkan peningkatan aktifitas lipogenesis dan peningkatan produksi asam lemak bebas, kemudian terjadi mobilisasi asam lemak bebas dari jaringan lemak menuju hepar dan berikatan dengan gliserol membentuk trigliserida, sehingga mengakibatkan peningkatan kadar trigliserida. Adanya asam lemak jenuh dalam sel juga menyebabkan peningkatan kolesterol bebas intraseluler (Febriyatna *et al.*, 2019; Ruanpang *et al.*, 2018).

Pemberian diet tinggi lemak dapat meningkatkan kadar glukosa darah dimana glukosa darah kelompok tikus yang diberi pakan normal (180,10 ± 3.38) secara signifikan lebih rendah dibandingkan dengan kelompok tikus yang diberi pakan tinggi lemak (185,52 ± 2,70) dengan nilai $P < 0,05$ (Tabel 3). Pada keadaan obesitas atau berat badan berlebih yang menyebabkan akumulasi lemak yang dapat berkembang resistensi insulin. Lundsgaard *et al.* (2019), menyatakan bahwa asupan tinggi lemak jangka panjang dapat menyebabkan terjadinya sensitivitas insulin menurun sehingga kadar glukosa darah meningkat. Selain itu menurut Black *et al.* (2013) dan Tchernof dan Despres (2013), gangguan fungsi insulin setelah diet tinggi lemak juga terkait dengan konsentrasi asam lemak yang lebih tinggi. Akumulasi lemak yang menghasilkan asam lemak bebas (FFA) secara berlebihan akan mengakibatkan jumlah perpindahan asam lemak bebas menuju hati meningkat, oleh karenanya terdapat banyak asam lemak pada hati dan sitokin inflamasi akan dikeluarkan oleh lemak visceral melalui vena porta, kemudian hal tersebut yang menyebabkan resistensi insulin pada hati, sehingga produksi glukosa meningkat.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa total leukosit dalam darah dipengaruhi secara signifikan oleh faktor salep ($P < 0,05$) dan juga terdapat interaksi antara pakan dan salep ($P < 0,05$) (Tabel 4). Adanya interaksi antara pakan dan salep berpengaruh terhadap total leukosit darah. Total leukosit darah kelompok tikus yang diberi pakan tinggi lemak dan salep basis (7,62 ± 3,14) lebih rendah dibandingkan dengan kelompok tikus yang diberi pakan normal dan salep basis (15,30 ± 2,61). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian pakan tinggi lemak menurunkan total leukosit darah. Asam lemak trans dapat menimbulkan banyak efek yang merugikan bagi kesehatan salah satunya adalah inflamasi sistemik. Masuknya asam lemak trans yang berlebihan ke dalam tubuh akan merangsang aktivitas fagositik sel-sel fagosit (neutrofil, eosinofil, makrofag) sehingga terjadi *respiratory burst* secara cepat yang diikuti terbentuknya radikal bebas. Apabila terjadi terus menerus dapat menyebabkan *respiratory burst* yang berlebihan hingga pada akhirnya tubuh akan kehabisan leukosit dan kelebihan radikal bebas (ROS) (Pipoyan *et al.*, 2021; Radzikowska *et al.*, 2019). Radikal bebas yang berlebihan kemudian dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif yang juga berkontribusi terhadap penurunan leukosit (Kesh *et al.*, 2016). Apabila ROS diproduksi dalam jumlah besar, maka ROS dapat merusak DNA sel, bersifat toksik, dan dapat menyebabkan apoptosis sel melalui aktivasi *Nitric Oxide* (NO) termasuk sel darah putih yang berada di dalam pembuluh darah (Dong *et al.*, 2022; He *et al.*, 2020).

Total leukosit tikus yang diberi pakan normal dan salep basis (15,30 ± 2,61) lebih tinggi dibandingkan tikus yang diberi pakan normal dan salep EEDK 20% (13,70 ± 1,94)

Tabel 4. Rata-rata total leukosit darah ($10^3/L$) pada tikus ovariektomi yang diberi perlakuan pakan normal dan tinggi lemak yang dikombinasi dengan salep basis dan salep ekstrak etanol daun kelor (EEDK 20%)

	Salep basis	Salep ekstrak etanol daun kelor 20%	Total
Pakan normal	15,30 ± 2,61	13,70 ± 1,94	14,50 ± 2,30
Pakan tinggi lemak	7,62 ± 3,14	16,25 ± 2,17	11,93 ± 5,24
Total	11,46 ± 4,89 ^b	14,97 ± 2,34 ^a	

^(a,b) Superskrip huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$)

(Tabel 4). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian salep EEDK 20% menyebabkan penurunan total leukosit darah. Penurunan total leukosit dalam penelitian ini sesuai dengan yang dikatakan Ari-egoro *et al.* (2019) dan Mbikay, (2012) bahwa daun kelor mengandung senyawa fitokimia yang memiliki aktivitas antiinflamasi dan antioksidan. Senyawa seperti *benzyl isothiocyanate*, glukosinolat, flavonoid, tanin, dan *dibenzil-urea* dalam daun kelor memiliki potensi penurunan stres oksidatif, penghambatan enzim siklooksigenase, yang menyebabkan penghambatan sintesis prostaglandin, dan penurunan produksi beberapa sitokin (Valentina *et al.*, 2022; Samuel *et al.*, 2015). Selain itu flavonoid juga bertindak sebagai antioksidan yang dapat menghambat oksidasi *Low Density Lipoprotein* (LDL) yang dianggap sebagai pemicu proses inflamasi pada jaringan endotel (Adegbite *at al.*, 2016; Aulia dan Candra, 2015).

Total leukosit darah kelompok tikus yang diberi pakan tinggi lemak dan salep basis ($7,62 \pm 3,14$) lebih rendah dibandingkan kelompok tikus yang diberi pakan tinggi lemak dan salep EEDK 20% ($16,25 \pm 2,17$) (Tabel 4). Hal tersebut menunjukkan pemberian salep EEDK 20% belum mampu menurunkan total leukosit darah pada tikus yang diberi pakan tinggi lemak. Pakan tinggi lemak diketahui dapat meningkatkan aktifitas inflamasi sehingga meningkatkan total leukosit darah (Maysami *et al.*, 2015). Peningkatan volume jaringan lemak akan meningkatkan sekresi adipositokin seperti leptin dan resistin serta konsentrasinya dalam darah, dimana akan merangsang sekresi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α dan IL (IL-6, IL-8, dan IL- β) yang berlebih (Kiran *et al.*, 2022; Dworzański *et al.*, 2021). Hal ini dapat menyebabkan keadaan inflamasi kronis dan memperlambat penyembuhan luka (Kopcewicz *et al.*, 2020).

Hasil analisis menunjukkan terdapat interaksi antara pakan dan salep yang berpengaruh terhadap jumlah leukosit jaringan ($P < 0,05$). Jumlah leukosit di jaringan pada kelompok tikus yang diberi pakan normal dan salep basis ($203,25 \pm 13,93$) lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok tikus yang diberi pakan normal dan salep EEDK 20% ($71,00 \pm 16,95$). Demikian juga dengan jumlah leukosit di jaringan pada kelompok tikus yang diberi pakan tinggi lemak dan salep basis ($171,00 \pm 28,20$) lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok tikus yang diberi pakan tinggi lemak dan salep EEDK 20% ($99,00 \pm 24,46$) (Tabel 5). Aplikasi salep EEDK 20% secara signifikan dapat menurunkan jumlah leukosit di jaringan luka baik pada kelompok tikus yang diberi pakan normal maupun pakan tinggi lemak, karena mengandung sejumlah senyawa fitokimia yang memiliki efek antiinflamasi. Senyawa tersebut antara lain, flavonoid berkerja dengan cara menghambat enzim siklooksigenase, senyawa tanin bekerja dengan menghambat produksi prostaglandin dan asam arakidonat yang merupakan mediator inflamasi, dan senyawa saponin menghambat pelepasan asam arakidonat dan sekresi enzim lisosom dari sel neutrofil dan sel endothelial sehingga menyebabkan kurang tersedianya substrat arakidonat bagi jalur siklooksigenase dan jalur lipooksigenase (Asmawati *et al.*, 2021; Poernomo dan Setiawan, 2019). Terhambatnya siklooksigenase dan lipooksigenase yang merupakan enzim utama dalam terjadinya inflamasi, menyebabkan terjadi pembatasan jumlah sel radang yang bermigrasi ke jaringan yang mengalami luka sehingga dapat mempercepat kesembuhan luka (Padmalochana *et al.*, 2018).

Berdasarkan gambaran histopatologi kulit, kelompok A dan kelompok B masih mengalami inflamasi. Kelompok A, celah luka sudah mulai

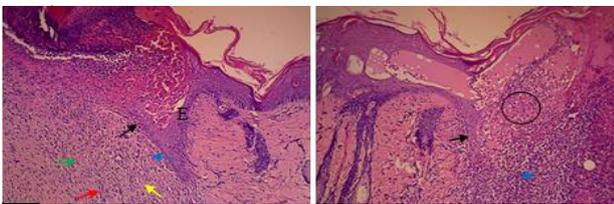
Tabel 5. Rata-rata jumlah leukosit di jaringan pada tikus ovariektomi yang diberi perlakuan pakan normal dan tinggi lemak yang dikombinasi dengan salep basis dan salep ekstrak etanol daun kelor (EEDK 20%)

	Salep basis	Salep ekstrak etanol daun kelor 20%	Total
Pakan normal	$203,25 \pm 13,93$	$71,00 \pm 16,95$	$137,12 \pm 72,13$
Pakan tinggi lemak	$171,00 \pm 28,20$	$99,00 \pm 24,46$	$135,00 \pm 45,59$
Total	$187,12 \pm 26,85^a$	$85,00 \pm 24,57^b$	

^(a,b)Superskrip huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$)

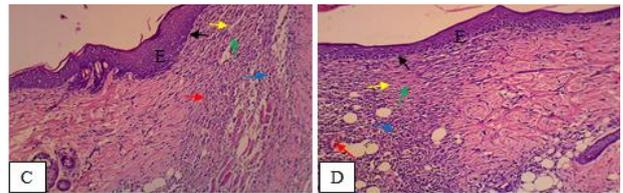
diisi oleh jaringan granulasi yang terdiri dari fibrolas, kolagen, dan pembuluh darah akan tetapi terdapat banyak sel radang (Gambar 1). Kelompok B terlihat mengalami peradangan berat dimana diameter luka masih besar dan celah luka terdapat cairan yang berisi sel radang (Gambar 2). Fase inflamasi adalah fase awal pada tahap kesembuhan luka, yang dimulai dengan terjadinya proses hemostasis dan koagulasi (Gonzalez *et al.*, 2016). Kemudian akan terjadi peningkatan permeabilitas vaskular dan vasodilatasi kapiler sehingga plasma darah atau serum dan leukosit keluar ke jaringan yang luka, sehingga terjadi eksudasi, penyerbukan sel radang, disertai vasodilatasi setempat yang menyebabkan edema dan pembengkakan (Sjamsuhidajat dan De Jong, 2017). Peradangan yang berkepanjangan dapat merugikan dan mempengaruhi diferensiasi deregulasi dan aktivasi keratinosit, sehingga mengganggu tahap normal penyembuhan luka (Landen *et al.*, 2016; Holzer-Geissler *et al.*, 2022).

Berdasarkan gambaran histopatologis kulit, terlihat kelompok C dan D sudah memasuki tahap proliferasi dalam kesembuhan luka. Kedua kelompok memiliki tahap kesembuhan yang baik dengan diameter luka sudah mengecil, epitel hampir menutupi bagian atas luka, adanya peningkatan kolagen, fibroblas lebih dominan dari pada sel radang dan ditemukan pembuluh darah baru. Pada kesembuhan luka, fase proliferasi merupakan tahap setelah fase inflamasi. Pada fase proliferasi luka mulai terisi dengan jaringan penyambung atau jaringan granulasi yang baru

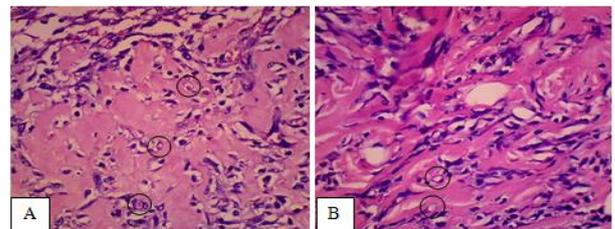


Gambar 1. Histopatologi kulit tikus yang diberi pakan normal dan salep basis (A): Epidermis (E) belum menutup, mulai terjadi jaringan pembentukan epitel () untuk penutupan luka, area celah luka diisi oleh jaringan granulasi yang terdiri dari fibroblast (), kolagen (), sel-sel radang (), dan pembuluh darah (); Histopatologi kulit tikus yang diberi pakan tinggi lemak dan salep basis (B): Epidermis (E) belum menutup, mulai terjadi sedikit pembentukan jaringan epitel (), area celah luka diisi oleh cairan yang berisi sel-sel radang (lingkaran) dan infiltrasi sel radang (). (HE, 100X).

dan menutup bagian atas luka dengan epitelisasi (Pence dan Woods, 2014). Jumlah sel inflamasi menurun, munculnya sel fibroblas yang berproliferasi, pembentukan pembuluh darah baru, epitelialisasi dan kontraksi luka. Matriks fibrin yang dipenuhi platelet dan makrofag mengeluarkan *growth factor* yang mengaktifasi fibroblas. Fibroblas bermigrasi ke daerah luka dan mulai berproliferasi hingga jumlahnya lebih dominan dibandingkan sel radang pada daerah tersebut (Suryadi, *et al.*, 2013).



Gambar 2. Histopatologi kulit tikus yang diberi pakan normal dan salep EEDK (C): epidermis (E) belum menutup, dimana jaringan epitel () hampir menutupi seluruh permukaan luka, area celah luka terisi fibroblast (), kolagen (), sel-sel radang (), dan pembuluh darah (); Histopatologi kulit tikus yang diberi pakan tinggi lemak dan salep EDDK (D): epidermis (E) belum menutup, dimana jaringan epitel () hampir menutupi seluruh permukaan luka, celah luka diisi oleh jaringan granulasi yang terdiri dari fibroblast (), kolagen (), sel-sel radang (), dan pembuluh darah (). (HE, 100X).



Gambar 11. Histopatologi kulit tikus yang diberi pakan normal dan salep EEDK (C): terlihat adanya 3 pembuluh darah baru; Histopatologi kulit tikus yang diberi pakan tinggi lemak dan salep EEDK (D): terlihat adanya 2 pembuluh darah baru. (HE, 400X).

Penyembuhan luka sangat dipengaruhi oleh re-epitelisasi, karena semakin cepat proses reepitelisasi, semakin cepat pula luka tertutup sehingga semakin cepat penyembuhan luka (Pastar *et al.*, 2014). Selain itu terbentuknya pembuluh darah atau angiogenesis terjadi karena pembuluh darah yang sudah ada mengeluarkan kuncup dan muncul tunas pembuluh darah baru (Gunawan *et al.*, 2019). Pada jaringan yang sedang beregenerasi, pertumbuhan pembuluh darah baru berperan penting dalam perbaikan

jaringan, selain memberikan asupan nutrisi dan oksigen juga berperan dalam pertumbuhan jaringan granulasi untuk mengisi ruang luka (Raina *et al.*, 2021). Semakin banyak ditemukannya pembuluh darah baru semakin cepat perbaikan jaringan sehingga proses kesembuhan semakin cepat.

Senyawa fitokimia yang terkandung dalam daun kelor seperti flavonoid, saponin dan alkaloid, selain memiliki peran sebagai antiinflamasi yang dapat mempercepat kesembuhan luka, juga berperan dalam meningkatkan regenerasi atau perbaikan jaringan. Senyawa flavonoid dapat melancarkan peredaran darah dan mencegah terjadinya penyumbatan pembuluh darah sehingga asupan nutrisi untuk penyembuhan tercukupi (Gothai *et al.*, 2016). Saponin dapat meningkatkan sintesis kolagen pada fibroblast kulit melalui forforilasi protein. Selain itu juga dapat meningkatkan sintesis ulang matriks di tempat luka dan re-epitelisasi luka (Erwiyani *et al.*, 2020). Alkaloid berperan dalam proses penguatan fibril kolagen yang terbentuk dengan mencegah kerusakan sel melalui sintesis DNA sehingga pertumbuhan jaringan baru pada luka menjadi lebih cepat, padat, dan kuat (Poernomo dan Setiawan, 2019).

Kesimpulan

Pemberian salep EEDK 20% efektif mempercepat penyembuhan luka tikus ovariektomi yang diberi pakan tinggi lemak, dengan menurunkan total leukosit darah pada tikus yang diberi pakan normal, menurunkan jumlah leukosit di jaringan dan memperlihatkan gambaran histopatologis yang baik.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada kepala dan teknisi Laboratorium Gizi, Pusat Studi Pangan dan Gizi, Pusat Antar Universitas Pascasarjana, Universitas Gadjah Mada; Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, UGM; Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM yang telah membantu jalannya penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Adegbite, O.A., Omoloso, B., Seriki, S.A., dan Shatima, C. (2016). Effects of *Moringa oleifera* leaves on hematological indices in humans. *Annals of Hematology & Oncology*. 3(8): 1107.
- Aminah, S., Ramdhan, T. dan Yanis, M. (2015). Kandungan nutrisi dan sifat fungsional tanaman kelor (*Moringa oleifera*). *Buletin Pertanian Perkotaan*. 5(2): 35-44.
- Akyun, I.K., Fajariyah, S. dan Mahriani. (2019). Efek ekstrak etanol kedelai hitam (*Glycine soja*) terhadap ketebalan dermis mencit (*Mus musculus* L.) pasca unilateral ovariektomi. *J. Biologi Udayana*. 23(2): 80-87.
- Ari-egoro, Y.E., Ayodele, P.F. dan Oyeleke, O.M. (2019). Effects of graded levels of *Moringa oleifera* leaf-meal in albino rat diet on some hematological parameters. *Journal of Analytical Techniques and Research*. 1(2): 037-046.
- Asmawati, Thalib, B., Natsir, N., Fajriani, Thalib, A.M., dan Reni, D.S. (2021). Potential of moringa fruit (*moringa aloifera lamk*) seeds as an anti-inflammatory agent of oral cavity lesion. *Journal of Dentomaxillofacial Science*. 6(2): 94-97.
- Aulia A, A. dan Candra K, A. (2015). Pengaruh pemberian seduhan daun kelor (*Moringa oleifera lam*) terhadap jumlah leukosit tikus putih (*Ratus norvegicus*) jantan. *Journal of Nutrition College*. 4(2): 308-313.
- Balqis, U., Masyitha, D. dan Febrina, F. (2014). Proses penyembuhan luka bakar dengan gerusan daun kedondong (*Spondias dulcis* F.) dan vaselin pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) secara histopatologis. *J. Medika Veterinaria*. 8(1): 9-14.
- Berawi, K.N., Wahyudo, R. dan Pratama, A.A. (2019). Potensi terapi *Moringa oleifera* (Kelor) pada penyakit degenerative. *J. Kedokteran Universitas Lampung*, 3(1): 210-214.
- Black, M.H., Watanabe, R.M., Trigo, E., Takayanagi, M., Lawrence, J.M., Buchanan, T.A., dan Xiang, A.H. 2013. High-fat diet is associated with obesity-mediated insulin resistance and b-cell

- dysfunction in Mexican Americans. *The Journal of Nutrition*, 143: 479-485.
- Cahyani, G.A. (2017). Efektivitas Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.), Daun Kelor (*Moringa oleifera*) dan Kombinasi Keduanya Terhadap Penyembuhan Luka Insisi Pada Mencit (*Musm Musculus*). Skripsi, Universitas Hasanuddin.
- Dong, Y., Xia, T., Yu, M., Wang, L., Song, K., Zhang, C., dan Lu, K. (2022). Hydroxytyrosol attenuates high-fat-diet induced oxidative stress, apoptosis and inflammation of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) through its regulation of mitochondrial homeostasis. *Fishes*. 7(2): 78.
- Dworzanski, W., Sembratowicz, I., Cholewinska, E., Tutaj, K., Fotschki, B., Juskiwicz, J., dan Ognik, K. (2021). Effects of different chromium compounds on hematology and inflammatory cytokines in rats fed high-fat diet. *Frontiers in Immunology*. 12: 1-9.
- Erwiyani, A.R., Haswan, D., Agasi, A. dan Karminingtyas, S.R. (2020). Pengaruh sediaan gel dan krim ekstrak etanol daun kelor (*Moringa Oleifera Lamk*) terhadap penurunan luas luka bakar pada tikus. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Produc.*, 03(02): 41-52.
- Febriyatna, A., Damayati, R.P. dan Agustin, F. (2019). The effect of high fat diet (HFD) of HDL cholesterol level and body weight on male white wistar rats. *The Second International Conference on Food and Agriculture*. 74-78.
- Fitriani, D., Meliala, A. dan Agustiningasih, D. (2016). The effect of long-term high-fat diet in ovariectomized Wistar rat on leptin serum levels. *J Med Sci*, 48(2): 69-80.
- Gonzalez, A.C.D.O., Costa, T.F., Andrade, Z.D.A., dan Medrado, A.R.A.P. (2016). Wound healing - A literature review. *An Bras Dermatol*. 91(5): 614-620.
- Gothai, S., Arulselvan, P., Tan, W.S. dan Fakurazi, S. (2016). Wound healing properties of ethyl acetate fraction of *Moringa oleifera* in normal human dermal fibroblasts. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*. 5(1): 1-6.
- Gunawan, S.A., Berata, I.K. dan Wirata, I.W. (2019). Histopatologi kulit pada kesembuhan luka insisi tikus putih pasca pemberian *Extracellular Matrix* (ECM) yang berasal dari *Vesica Urinaria* babi. *Indonesia Medicus Veterinus*. 8(3): 313-324.
- Guo, S. dan DiPietro, L.A., (2010). Factors affecting wound healing. *J. Dental Research*. 89(3): 219-229.
- He, X., Zhao, Z., Wang, S., Kang, J., Zhang, M., Bu, J., Cai, X., Jia, C., Li, Y., Li, K., Reinach, P.S., Quantock, A.J., Liu, Z., dan Li, W. (2020). High-fat diet-induced functional and pathologic changes in lacrimal gland. *The American Journal of Pathology*. 190(12): 2387-2402.
- Holzer-Geissler, J.C.J., Schwingenschuh, S., Zacharias, M., Einsiedler, C., Kainz, S., Reisenegger, P., Holecek, C., Hofmann, E., Wolff-Winiski, B., Fahrngruber, H., Birngruber, T., Kamolz, L.P., dan Kotzbeck, P. (2022). The Impact of Prolonged Inflammation on Wound Healing. *Biomedicines*. 10: 1-14.
- Isrofah, I. (2015). Efektifitas salep ekstrak daun binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten) Steenis) terhadap proses penyembuhan luka bakar derajat 2 termal pada tikus putih (*Rattus Novergicus*). *Indonesian Journal of Nursing Practices*. 2(1): 27-39.
- Iwasa, T., Matsuzaki, T., Yano, K. dan Irahara, M. (2018). The effects of ovariectomy and lifelong high-fat diet consumption on body weight, appetite, and lifespan in female rats. *Elsevier: Hormones and Behavior*. 97: 25-30.
- Kesh, S.B., Sarkar, D. dan Mania, K. (2016). High-fat diet-induced oxidative stress and its impact on metabolic syndrome: A review. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 9(1): 47-52.
- Kintoko, K., Karimatulhadj, H., Elfasyari, T. Y., Ihsan, E. A., Putra, T. A., Hariadi, P. dan Nurkhasanah, N. (2017). Effect of

- diabetes condition on topical treatment of binahong leaf fraction in wound healing process. *Majalah Obat Tradisional*. 22(2): 103-110.
- Kiran, S., Rakib, A., Kodidela, S., Kumar, S., dan Singh, U.P. (2022). High-fat diet-induced dysregulation of immune cells correlates with macrophage phenotypes and chronic inflammation in adipose tissue. *Cells*. 11: 1327.
- Kopcewicz, M., Walendzik, K., Bukowska, J., Kur-Piotrowska, A., Machcinska, S., Gimble, J.M., Gawronska-Kozak, B. (2020). Cutaneous wound healing in aged, high fat diet-induced obese female or male C57BL/6 mice. *Aging*. 12(8): 7066.
- Landen, N.X., Li, D. dan Stahle, M. (2016). Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73: 3861-3885.
- Lasmadasari, N. (2013). Efektivitas pemberian oral dan topikal gel ekstrak daun kelor (*Moringa Oleifera*) dalam penyembuhan luka sayat pada tikus putih (*Rattus novergicus*). Tesis, Universitas Muhammadiyah, Yogyakarta.
- Lunsdgaard, A.M., Holm, J.B., Sjoberg, K.A., Bojsen-Moller, K.N., Myrmel, L.S., Fjaere, E., Jensen, B.A.H., Nicolaisen, T.S., Hingst, J.R., Hansen, S.L., Doll, S., Geyer, P.E., Deshmukh, A.S., Holst, J.J., Madsen, L., Kristiansen, K., Wojtaszewski, J.F.P., Richter, E.A., dan Kiens, B. (2019). Mechanisms preserving insulin action during high dietary fat intake. *Cell Metabolism Elsevier*. 29(1): 50-63.
- Maria, U, Wahyu, H. Dan Novelin, M.P. (2016). Formulasi gel ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) sebagai anti inflamasi topikal pada tikus (*Rattus novergicus*). *J. Pharmaceutical Medicinal Sci*. 2(1): 30–5.
- Maysami, S., Haley, M.J., Gorenkova, N., Krishnan, S., McColl, B.W., dan Lawrence, C.B. (2015). Prolonged diet-induced obesity in mice modifies the inflammatory response and leads to worse outcome after stroke. *Journal of Neuroinflammation*. 12: 140.
- McCance, K. L. dan Huether, S. E. (2014). *Pathophysiology: The Biologic Basis for Disease in Adults and Children*. Edisi ke-7. St. Louis, Mosby.
- Medina, F. 2019. Analisis kadar neuropeptida Y terhadap perubahan berat badan pada pasien bangkitan epileptik anak pengguna monoterapi asam valproate. Tesis, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Mbikay, M. (2012). Therapeutic potential of *Moringa oleifera* leaves in chronic hyperglycemia and dyslipidemia: a review. *Frontiers in Pharmacology*. 3(24): 1-12.
- Mutiyani, M., Soeatmadji, D.W. dan Sunindya, B.R. (2014). Effect of high carbohydrate diet and high fat diet on blood glucose and beta cell pancreas density in wistar rats. *Indonesian Journal of Human Nutrition*. 1(2): 106-113.
- Padmalochana. (2018). Anti-inflammatory activity and phytochemical analysis of *Moringa oleifera* ethanol and acetone leaves extract. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 8(6): 269-273.
- Pastar, I., Stojadinovic, O., Yin, N.C., Ramirez, H., Nusbaum, A.G., Sawaya, A., Patel, S.B., Khalid, L., Isseroff, R.R., dan Tomic-Canic, M. (2013). Epithelialization in wound healing: A comprehensive review. *Advances In Wound Care*. 3(7): 445-464.
- Pence, B.D. dan Woods, J.A. (2014). Exercise, obesity, and cutaneous wound healing: evidence from rodent and human studies. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 3(1): 71–79.
- Pipoyan, D., Stepanyan, S., Stepanyan., S., Beglaryan, M., Costantini, L., Molinari, R., dan Merendino, N. (2021). The effect of trans fatty acids on human health: regulation and consumption patterns. *Foods*. 10(10): 2452.
- Poernomo, H. dan Setiawan. (2019). The effect of moringa leaf (*Moringa oleifera*) gel on

- the bleeding time and collagen density of gingival incision wound healing in marmot (*Cavia porcellus*). *Interdental Jurnal Kedokteran Gigi*. 15(1): 34–39.
- Radzikowska, U., Rinaldi, A., Sozener, Z.C., Karaguzel, D., Wojcik, M., Cypriak, K., Akdis, M., Akdis, C.A., dan Sokolowska, M. (2019). The influence of dietary fatty acids on immune responses. *Nutrisi*. 11(12): 2990.
- Raina, N., Rani, R. dan Gupta, M. (2021). *Endothelial Signaling in Vascular Dysfunction and Disease*. India: Academic Press.
- Ruanpang, J., Pleumsamran, A., Pleumsamran, J., dan Mingmalariaik, S. (2018). Effect of a high-fat diet and cholesterol levels on depression-like behavior in mice. *Journal of Natural Sciences*. 17(2): 161-173.
- Samuel, S.A., Francis, A.O., Onyinyechi, U.O. dan Ayomide, O. (2015). Effects of *moringa oleifera* leaf extract on red and white blood cells counts. *International Journal of Current Medical and Pharmaceutical Research*. 1(9): 150-161.
- Sjamsuhidajat R. dan De Jong, W. (2017). *Buku Ajar Ilmu Bedah: Masalah, Pertimbangan Klinis Bedah, dan Metode Pembedahan; 4th ed.* Jakarta: EGC.
- Suryadi, I.A., Asmarajaya, A. dan Maliawan, S. (2013). Proses penyembuhan dan penanganan luka. *E-Jurnal Med Udayana*. 2(2): 254-72.
- Tchernof, A. dan Després, J.P. (2013). Pathophysiology of human visceral obesity: an update. *Physiol Rev*. 93(1): 359–404.
- Valentina, A.S., Najatullah, Nugroho, T., dan Susilaningsih, N. (2022). The effect of ethanolic extract of *Moringa oleifera* leaves on the macrophage count and vegf expression on wistar rats with burn wound. *Biocientika Medicina: Journal Of Biomedicine & Translational Research*. 6(6): 1959-1964.
- WHO. (2019). What causes obesity and overweight? Retrieved from <<https://www.who.int/en/news-room/factsheets/detail/obesity-and-overweight>>