

PENGARUH GEL EKSTRAK
DAUN RAMANIA (*Bouea
macrophylla* Griff) TERHADAP
JUMLAH SEL FIBROBLAS
PADA LUKA INSISI TIKUS
WISTAR (*Rattus norvegicus*)
JANTAN
by Salma Humaira

Submission date: 27-Jul-2020 10:55AM (UTC+0700)

Submission ID: 1362634418

File name: Jurnal_Salma_Humaira_1611111220030.pdf (442.62K)

Word count: 2547

Character count: 15584

PENGARUH GEL EKSTRAK DAUN RAMANIA (*Bouea macrophylla* Griff) TERHADAP JUMLAH SEL FIBROBLAS PADA LUKA INSISI TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) JANTAN

Salma Humaira¹, Irham Taufiqurrahman², Nurdiana Dewi³

PENDAHULUAN

Luka merupakan keadaan hilang atau terputusnya kontinuitas dari suatu jaringan. Luka umumnya terjadi karena pembedahan atau trauma.¹ Penelitian yang dilakukan oleh *Med Market Diligence* di tahun 2009 tentang insiden luka mencatat adanya 110,30 juta kasus luka bedah dan 1,60 juta kasus luka trauma di dunia.² Kejadian luka dalam bidang bedah mulut dapat disebabkan karena ekstraksi gigi dan bedah jaringan lunak atau jaringan keras. Riset Kesehatan Dasar tahun 2018 mencatat adanya 19% kasus ekstraksi gigi di Indonesia, secara spesifik, terdapat 17,8% kasus tersebut di Kalimantan Selatan. Menurut laporan yang sama, terdapat 0,3% tindakan bedah mulut di Indonesia dan 0,1% di Kalimantan Selatan.³

Proses penyembuhan luka di dalam rongga mulut pada prinsipnya sama dengan proses penyembuhan luka pada bagian tubuh yang lain. Proses penyembuhan luka terdiri dari tiga fase utama yaitu fase inflamasi, proliferasi, dan maturasi. Pasca fase inflamasi, luka akan mengalami proses proliferasi yang ditandai dengan munculnya angiogenesis, pembentukan jaringan granulasi, deposisi kolagen, dan epitelisasi. Fase proliferasi akan memperlihatkan peningkatan jumlah sel dan munculnya sel fibroblas yang merupakan salah satu faktor penyembuhan luka.^{1,4}

Sel fibroblas umumnya mengalami puncak peningkatan di hari ke-7 dan menurun di hari ke-14.^{1,5} Sel fibroblas akan bermigrasi menuju jaringan yang rusak dan mengalami proliferasi, kemudian mensintesis kolagen yang selanjutnya menghasilkan jaringan granulasi untuk menyatukan luka.⁶ Fase proliferasi yang mengalami gangguan akan mengakibatkan proses penyembuhan luka yang semakin lama dan dapat menyebabkan terjadinya luka kronis.⁷

Penyembuhan luka bertujuan untuk mengembalikan fungsi dan bentuk jaringan ke keadaan normal dengan komplikasi seminimal mungkin. Proses penyembuhan luka memerlukan kondisi yang steril sehingga seringkali dilakukan pemberian obat-obatan yang mengandung antiinflamasi, antibakteri, dan antiseptik untuk mengoptimalkan proses penyembuhan luka.¹ Pemberian obat penyembuhan luka yang kurang tepat mengakibatkan terhambatnya penyembuhan luka

sehingga meningkatkan biaya yang diperlukan untuk manajemen luka yang terinfeksi.^{7,8}

Alternatif yang dapat dipilih sebagai obat penyembuhan luka adalah penggunaan obat herbal karena ia memiliki efek samping yang minim dan harga yang lebih terjangkau.⁹ Salah satu tanaman yang ada di Kalimantan Selatan yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan herbal adalah ramania (*Bouea macrophylla* Griff).¹⁰ Hal tersebut dikarenakan daun ramania mempunyai metabolit sekunder seperti flavonoid, steroid, fenol, dan terpenoid.¹¹ Flavonoid dapat berperan sebagai imunomodulator dan mengaktifkan makrofag yang akan melepaskan *growth factors* dan menstimulasi migrasi serta proliferasi sel fibroblas.⁵

Menurut penelitian Rahman dkk (2017), daun ramania mengandung senyawa flavonoid sebanyak 167,06 µg/mg sehingga ekstrak daun ramania berpotensi untuk digunakan sebagai bahan terapi adjuvan penyembuhan luka.¹² Proses penyembuhan luka dapat terjadi secara fisiologis dan dipengaruhi beberapa faktor seperti usia, hormon, tingkat stres, asupan nutrisi, penyakit sistemik, konsumsi obat-obatan, alkohol, dan rokok. Faktor-faktor tersebut terkadang menyebabkan terhambatnya proses penyembuhan luka. Untuk itu dibutuhkan terapi adjuvan dalam manajemen perawatan luka untuk mengoptimalkan proses penyembuhan luka.^{13,14} Ekstrak daun ramania pada penelitian ini akan dibuat menjadi sediaan gel. Gel merupakan bahan sediaan obat yang sering digunakan untuk pemberian secara topikal. Pemilihan sediaan gel dilakukan karena gel memberikan efek lokal yang optimal dan absorpsinya lebih baik.¹⁵

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini telah melalui uji kelaikan etik yang diterbitkan oleh Komisi Etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin melalui surat keterangan No. 059/KEPKG-FKGULM/EC/I/2020.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni (*true experimental*) dengan rancangan *post-test only with control group design*. Sampel penelitian adalah 24 ekor tikus wistar (*Rattus norvegicus*). Kriteria inklusi sampel adalah tikus wistar jantan dengan berat 200-250 gr, umur 2-3 bulan, bergerak aktif, dan memiliki nafsu makan yang baik.

Prosedur penelitian dimulai dengan pembuatan ekstrak daun ramania menggunakan metode maserasi. Daun ramania dibersihkan dengan dicuci air mengalir sampai bersih, 4 kg daun ramania kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 4 jam. Daun dihaluskan dengan blender, serbuk simplisia yang didapat diayak dengan ayakan mesh. 650 gram serbuk simplisia dimaserasi dengan pelarut etanol 95%. Perbandingan serbuk dengan pelarut adalah 1:5. Maserasi dilakukan selama 3 hari dan penggantian pelarut etanol 95% dilakukan setiap 24 jam sekali, setelah 3 hari dilakukan penyaringan dan diambil filtratnya. Filtrat dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental kemudian ekstrak diuapkan di waterbath pada suhu 50°C dan didapatkan ekstrak kental daun ramania murni 100%. Ekstrak daun ramania tersebut kemudian dicampurkan dengan basis gel untuk pembuatan gel. Ekstrak daun ramania 5 gr dicampurkan dengan basis gel sebanyak 95 gr, ekstrak daun ramania 10 gr dicampurkan dengan basis gel sebanyak 90 gr, ekstrak daun ramania 15 gr dicampurkan dengan basis gel sebanyak 85 gr dan didapatkan gel ekstrak daun ramania dengan konsentrasi 5%, 10% dan 15%.

Hewan coba diadaptasikan selama 7 hari dengan diberikan makan dan minum standar dalam suasana laboratorium. Tikus dibagi secara intraperitoneal dengan obat bius ketamine 40-100 mg/kg BB yang dikombinasikan dengan xylazine dosis 5-10 mg/kg BB. Bulu di daerah punggung tikus wistar dicukur terlebih dahulu dengan panjang 5 cm dan tinggi 3 cm, kemudian didesinfeksi menggunakan alkohol 70%. Luka insisi dibuat pada punggung tikus dengan panjang 2 cm dengan kedalaman hingga subkutis menggunakan blade no. 15. Darah yang keluar dibersihkan dengan kapas yang diberi larutan akuades. Tikus dibagi menjadi 8 kelompok yaitu 2 kelompok kontrol dengan pemberian gel plasebo, 2 kelompok perlakuan yang diberikan gel ekstrak daun ramania konsentrasi 5%, 2 kelompok perlakuan yang diberikan gel ekstrak daun ramania konsentrasi 10% dan 2 kelompok perlakuan yang diberikan gel ekstrak daun ramania konsentrasi 15%. Masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor tikus. Gel ekstrak diaplikasikan 1 kali sehari dengan gerakan satu arah dan posisi aplikator cotton bud diputar, luka kemudian ditutup dengan kasa.

Prosedur euthanasia dilakukan berdasarkan pedoman dari The AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition. Setiap kelompok perlakuan tikus dilakukan proses euthanasia pada hari ke-7 dan ke-14 menggunakan obat bius ketamine 40-100 mg/kg BB yang dikombinasikan dengan xylazine 5-10 mg/kg BB secara intraperitoneal, tunggu beberapa menit hingga tikus tidak sadarkan diri kemudian dilakukan pengambilan jaringan. Pengambilan jaringan pada tikus wistar dilakukan secara eksisi. Daerah yang dieksisi yaitu daerah di sepanjang batas luka dengan panjang 3 cm, lebar 0,3 cm dan kedalaman subkutis. Tikus wistar yang telah dilakukan pengambilan jaringan selanjutnya

dikubur dengan kedalaman 75 cm. Masing-masing spesimen hasil eksisi tiap perlakuan diambil untuk membuat sediaan histopatologi luka insisi tikus wistar.

Sediaan histopatologi dibuat preparat dengan melakukan fiksasi jaringan menggunakan larutan Buffer Neural Formalin (BNF) 10%. Jaringan kemudian dipotong dengan ukuran 10 mm menggunakan scalpel lalu dilakukan proses dehidrasi. Jaringan dibuat menjadi blok parafin dan disimpan dalam freezer. Blok parafin dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5 mikron. Hasil potongan diletakkan dalam waterbath kemudian bentuk dirapikan dan diletakkan di atas gelas objek. Preparat yang sudah dibuat selanjutnya diwarnai dengan metode pewarnaan haematoxylin eosin (HE). Preparat diamati menggunakan mikroskop yang dilengkapi dengan optilab, perbesaran 400x pada 5 lapang pandang.

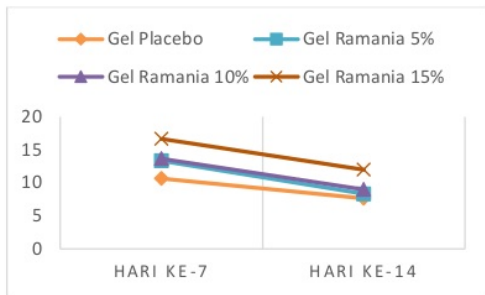
HASIL PENELITIAN

Hasil statistik menunjukkan bahwa data seluruh kelompok terdistribusi normal dan variasi data homogen dengan $p > 0,05$. Hasil uji statistik Two-way Anova didapatkan nilai $p = 0,640 > 0,05$ yang menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara penggunaan gel ekstrak daun ramania terhadap jumlah sel fibroblas di hari ke-7 dan ke-14. Uji Post Hoc Bonferroni menunjukkan adanya perbedaan jumlah sel fibroblas yang signifikan di hari ke-7 dan ke-14 antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan gel ekstrak daun ramania konsentrasi 15%.

Hasil penelitian rata-rata jumlah sel fibroblas di hari ke-7 dan ke-14 pada luka insisi tikus wistar dapat dilihat pada tabel 1. Grafik rata-rata jumlah sel fibroblas di hari ke-7 dan ke-14 pada luka insisi tikus wistar setiap kelompok terlihat pada gambar 1.

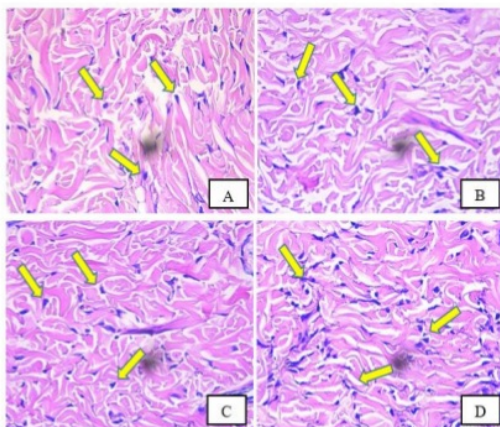
Tabel 1. Rata-rata (Mean±SD) Jumlah Sel Fibroblas pada Luka Insisi Tikus Wistar

Kelompok	Mean ± SD Jumlah sel	
	Hari ke-7	Hari ke-14
Gel plasebo	10,66 ± 1,52 (9-11 sel)	7,66 ± 0,57 (6-8 sel)
Gel ekstrak daun ramania konsentrasi 5%	13,33 ± 0,57 (12-14 sel)	8,33 ± 1,52 (7-9 sel)
Gel ekstrak daun ramania konsentrasi 10%	13,66 ± 1,52 (12-15 sel)	9 ± 2 (7-11 sel)
Gel ekstrak daun ramania konsentrasi 15%	16,66 ± 1,15 (15-17 sel)	12 ± 2 (10-14 sel)



Gambar 1. Grafik Rata-rata Jumlah Sel Fibroblas pada Luka Insisi Tikus Wistar di Hari ke-7 dan ke-14

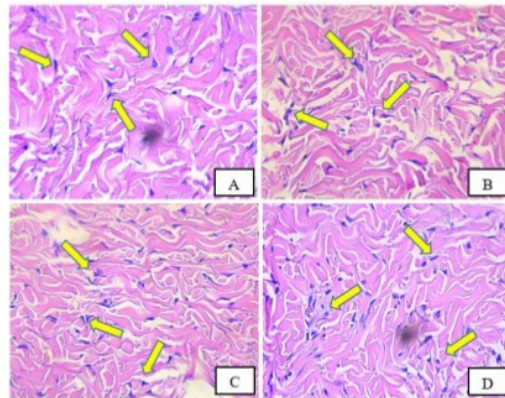
Berdasarkan grafik pada gambar 1 dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi gel ekstrak yang diberikan, maka jumlah sel fibroblas akan semakin meningkat pada luka insisi tikus wistar. Rata-rata jumlah sel fibroblas tertinggi secara berurutan terdapat pada kelompok gel ekstrak daun ramania konsentrasi 15%, 10%, 5% dan kelompok gel placebo.



Gambar 2. (A) Gel placebo di hari ke-7 (B) Gel ekstrak daun ramania 5% di hari ke-7 (C) Gel ekstrak daun ramania 10% di hari ke-7 (D) Gel ekstrak daun ramania 15% di hari ke-7

Gambar 2 menunjukkan gambaran histopatologi sel fibroblas milik kelompok tikus wistar dengan luka insisi pada hari ke-7. Berdasarkan perhitungan rata-rata di hari tersebut, kelompok tikus wistar dengan luka insisi yang diberikan gel placebo memiliki jumlah sel fibroblas sebanyak 9-11 sel, kelompok tikus wistar dengan luka insisi yang diberikan gel ekstrak daun ramania konsentrasi 5% memiliki jumlah sel fibroblas sebanyak 12-14 sel, kelompok tikus wistar dengan luka insisi yang diberikan gel ekstrak daun ramania konsentrasi 10% memiliki jumlah sel fibroblas sebanyak 12-15 sel, dan kelompok tikus wistar dengan luka insisi yang diberikan gel ekstrak daun ramania konsentrasi 15% memiliki jumlah sel fibroblas sebanyak 12-15 sel.

memiliki jumlah sel fibroblas sebanyak 12-15 sel, dan kelompok tikus wistar dengan luka insisi yang diberikan gel ekstrak daun ramania konsentrasi 15% memiliki jumlah sel fibroblas sebanyak 15-17 sel.



Gambar 3. (A) Gel placebo di hari ke-14 (B) Gel ekstrak daun ramania 5% di hari ke-14 (C) Gel ekstrak daun ramania 10% di hari ke-14 (D) Gel ekstrak daun ramania 15% di hari ke-14

Gambar 3 menunjukkan gambaran histopatologi sel fibroblas milik kelompok tikus wistar dengan luka insisi pada hari ke-14. Berdasarkan perhitungan rata-rata di hari tersebut, kelompok tikus wistar dengan luka insisi yang diberikan gel placebo memiliki jumlah sel fibroblas sebanyak 6-8 sel, kelompok tikus wistar dengan luka insisi yang diberikan gel ekstrak daun ramania konsentrasi 5% memiliki jumlah sel fibroblas sebanyak 7-9 sel, kelompok tikus wistar dengan luka insisi yang diberikan gel ekstrak daun ramania konsentrasi 10% memiliki jumlah sel fibroblas sebanyak 7-11 sel, dan kelompok tikus wistar dengan luka insisi yang diberikan gel ekstrak daun ramania konsentrasi 15% memiliki jumlah sel fibroblas sebanyak 10-14 sel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini menunjukkan peningkatan rata-rata jumlah sel fibroblas dan perbandingan antar kelompok menunjukkan rata-rata jumlah sel fibroblas tertinggi terdapat pada kelompok yang diberikan gel ekstrak daun ramania konsentrasi 15% dengan rata-rata 16,66 sel, diikuti kelompok gel ekstrak daun ramania konsentrasi 10% dengan rata-rata 13,66 sel, kelompok gel ekstrak daun ramania konsentrasi 5% dengan rata-rata 13,33 sel dan kelompok gel placebo dengan rata-rata 10,66 sel. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ardiana dkk (2015) yang menyatakan bahwa pemberian gel binahong (*Anredera cordifolia*) dapat meningkatkan jumlah sel fibroblas di hari ke-7.¹⁶

Hasil penelitian ini menunjukkan pengaplikasian gel ekstrak daun ramania di daerah luka lebih efektif dalam meningkatkan jumlah sel fibroblas

dibandingkan pengaplikasian gel plasebo. Hal ini kemungkinan terjadi karena adanya senyawa metabolit sekunder pada daun ramania yang dapat digunakan untuk mengoptimalkan proses penyembuhan luka dan meningkatkan jumlah sel fibroblas. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fitri dkk (2018), daun ramania mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, fenol, steroid dan terpenoid.¹¹ Daun ramania yang dimaserasi dengan larutan etanol memiliki senyawa flavonoid sebanyak 167,06 µg/mg.¹²

Flavonoid memiliki kemampuan imunomodulator yang dapat meningkatkan produksi IL-2. Produksi IL-2 akan merangsang terjadinya fase proliferasi dan diferensiasi sel T. Sel T yang berdiferensiasi akan berubah menjadi sel Th1 dan mensekresi IFN-γ yang berpotensi mengaktifkan makrofag. Makrofag yang aktif akan melepaskan beberapa *growth factors* yaitu PDGF, FGF, TGF-α, TGF-β dan EGF yang bertanggungjawab atas terjadinya proses mitogen fibroblas yang penting dalam proses penyembuhan luka.¹⁷ Proliferasi fibroblas menandakan bahwa jaringan granulasi mulai terbentuk melalui mekanisme yang akan menghasilkan jaringan ekstrakurikuler tiga dimensi pada jaringan ikat.¹⁵

Jaringan granulasi yang mulai terbentuk saat proliferasi fibroblas akan menghasilkan matriks ekstraseluler.¹⁸ Sel fibroblas bersama *matrix metalloproteinase* (MMP) akan menangkap matriks fibrin kemudian mengubahnya menjadi *glycosaminoglycan* (GAG), selanjutnya matriks ekstraseluler akan digantikan oleh produk fibroblas yang lain yaitu kolagen tipe III.¹⁹ Saat hari ke-5 sampai ke-7 inilah sel fibroblas aktif dalam berproliferasi sehingga terjadi puncak peningkatan. Peningkatan jumlah sel fibroblas pada penelitian ini diduga disebabkan oleh adanya senyawa flavonoid dalam tumbuhan. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Palumpun dkk (2017) mengenai pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle*) terhadap jumlah sel fibroblas dalam proses penyembuhan luka pada tikus jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang menyebutkan bahwa flavonoid pada daun sirih dapat meningkatkan proliferasi sel fibroblas, pembentukan jaringan granulasi, serta meningkatkan epitelisasi dan aktivitas miofibroblas.²⁰

Flavonoid juga dikenal mempunyai kemampuan sebagai antioksidan. Efek antioksidan pada flavonoid ini dapat mempercepat fase inflamasi dengan cara menangkap radikal bebas dan mencegah reaksi oksidasi dengan meningkatkan aktivitas enzim *superoxide dismutase* dan *glutathion transferase*.⁷ Flavonoid akan bekerja melindungi tubuh dari ROS berlebih agar proses penyembuhan luka dapat berjalan melalui proliferasi jumlah sel fibroblas yang nantinya berperan dalam proses sintesis kolagen untuk penutupan luka.²¹

Hasil penelitian pada hari ke-14 menunjukkan penurunan rata-rata jumlah sel fibroblas dan perbandingan antar kelompok menunjukkan rata-rata jumlah sel fibroblas paling optimal terdapat pada

kelompok gel ekstrak daun ramania konsentrasi 15%. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diketahui jumlah sel fibroblas mengalami puncak peningkatan di hari ke-7 dan mengalami penurunan jumlah di hari ke-14. Penurunan jumlah sel fibroblas pada hari ke-14 ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Etika dkk (2017) yang menyatakan jumlah sel fibroblas setelah hari ke-10 terjadinya luka akan mengalami penurunan dikarenakan sel fibroblas akan mengalami perubahan fenotip menjadi miofibroblas serta menjadi lebih progresif dalam mensintesis kolagen dan fibronectin.⁵

Penelitian ini mendapatkan hasil bahwa gel ekstrak daun ramania konsentrasi 15% memberikan pengaruh yang lebih baik dibandingkan gel ekstrak daun ramania konsentrasi 5% dan gel ekstrak daun ramania konsentrasi 10%. Hal ini terlihat dari jumlah sel fibroblas yang mengalami peningkatan tertinggi dibandingkan dengan jumlah sel fibroblas pada kelompok lain di hari ke-7 dan adanya penurunan jumlah sel fibroblas di hari ke-14. Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian Dewantari dan Sugihartini (2015) yang menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak dalam sediaan gel, maka akan semakin meningkatkan aktivitas penyembuhan luka.²²

Hasil penelitian ini menunjukkan gel ekstrak daun ramania dapat membantu proses penyembuhan luka terlihat dari perbandingan rata-rata jumlah sel fibroblas antar kelompok, akan tetapi berdasarkan statistik tidak terlihat perbedaan yang bermakna pada kelompok gel ekstrak daun ramania konsentrasi 5% dan kelompok gel ekstrak daun ramania konsentrasi 10%. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh rentang variasi konsentrasi gel yang digunakan terlalu pendek, konsentrasi gel yang lebih tinggi diduga dapat memberi pengaruh yang lebih signifikan pada jumlah sel fibroblas. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Putra dkk (2017) mengenai efektifitas gel ekstrak daun pisang (*Musa paradisiaca* L.) untuk penyembuhan luka yang menyebutkan konsentrasi ekstrak yang rendah menyebabkan hasil penelitian memiliki perbedaan yang tidak bermakna sehingga diperlukan konsentrasi yang lebih tinggi.²³ jumlah sel fibroblas yang nantinya berperan dalam proses sintesis kolagen untuk penutupan luka (Sabirin dkk, 2013).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan gel ekstrak daun ramania (*Bouea macrophylla* Griff) terbukti memiliki kemampuan meningkatkan jumlah sel fibroblas dan berpotensi sebagai bahan terapi adjuvan penyembuhan luka dengan konsentrasi yang paling efektif adalah konsentrasi 15%.