

BAB VI

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak cumi-cumi (*Loligo sp*) terhadap kadar *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α) serum, kadar *Transforming Growth Factor* (TGF- β 1) serum, faktor pendukung seperti jumlah makrofag, jumlah neutrofil, dan eritema pada luka kondisi diabetes dengan model tikus putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar. Penelitian ini merupakan penelitian *true experiment* yang terdiri dari 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol terdiri dari kelompok negatif (tikus tanpa diabetes, perawatan luka dengan NaCl 0,9%, dan diet standar) dan kelompok positif (tikus diabetes, perawatan luka dengan NaCl 0,9%, dan diet standar). Kelompok perlakuan terdiri dari kelompok perlakuan standar (tikus diabetes, perawatan NaCl 0,9%, dan diberi *chitosan*), kelompok perlakuan 1 (tikus diabetes, perawatan NaCl 0,9%, dan diberi ekstrak cumi-cumi satu kali sehari), kelompok perlakuan 2 (tikus diabetes, perawatan NaCl 0,9%, dan diberi ekstrak cumi-cumi dua kali sehari), perlakuan 3 (tikus diabetes, perawatan NaCl 0,9%, dan diberi ekstrak cumi-cumi dua hari sekali). Ekstrak cumi-cumi dibuat melalui proses ekstraksi dengan etanol 96%.

Dalam penelitian Zangiabadi *et al.*, (2011), induksi DM menggunakan metode injeksi STZ dosis tunggal 45 mg/kgBB intraperitoneal. Tiga hari setelah diinduksi STZ terjadi peningkatan kadar glukosa darah yang menandakan tikus dalam keadaan diabetes dengan ketentuan gula darah acak lebih dari 200 mg/dL. Begitu pula dalam penelitian ini, nilai *mean* kadar glukosa darah paling tinggi pada

kelompok perlakuan standar ($520,6 \pm 77,7612$) dan yang paling rendah pada kelompok perlakuan 3 ($389,2 \pm 90,0428$).

Seperti yang telah dijelaskan pada bab sebelumnya bahwa proses penyembuhan luka dibagi dalam 4 fase, yaitu: 1) fase homeostatis yang ditandai dengan adanya proses pembekuan darah; 2) fase inflamasi yang ditandai dengan adanya eritema, panas, nyeri, edema, dan kehilangan fungsi; 3) fase proliferasi yang ditandai dengan adanya granulasi jaringan; 4) fase *remodeling* atau maturasi yang ditandai dengan terjadinya kontraksi luka dan terbentuknya jaringan parut (*scar*) (Strecker-McGraw *et al.*, 2007; Roughton *et al.*, 2006; Oike *et al.*, 2004; O’Kane, 2002).

6.1 Pengaruh Ekstrak Cumi-Cumi (*Loligo sp*) Secara Oral pada Luka Kondisi Diabetes dengan Model Tikus Putih

Cumi-cumi mengandung asam *monosaturated fatty acid* (MUFA), asam lemak tidak jenuh ganda *polyunsaturated fatty acid* (PUFA), dan *lecithin*. *Lecithin* merupakan fosfolipid terbesar di otak, hati, plasma. *Lecithin* juga mengandung *unsaturated fatty acid*, berupa MUFA dan PUFA. PUFA terdiri dari *linoleic acid* (*omega-6*), *α -linolenic* (*omega-3*), *eicosapentaenoic acid* (EPA), dan *docosahexaenoic acid* (DHA), yang merupakan nutrisi esensial bagi tubuh (Rustan dan Drevon, 2005; Estiasih *et al.*, 2013; Maximiano *et al.*, 2008). Selain itu, *lecithin* berperan sebagai prekursor *choline* yang potensial (Koppen *et al.*, 1997; McFarland, 2003).

Disamping itu, cumi-cumi (*Loligo sp.*) mengandung *ascorbic acid*, dimana berperan sebagai antioksidan (Ilamparithi *et al.*, 2011). Antioksidan lainnya yang terkandung dalam cumi-cumi adalah *lecithin* (Kumar *et al.*, 2011). Antioksidan dalam cumi-cumi efektif untuk *scavenger* radikal bebas (ROS) dengan tingkat

aktifitas antioksidan sebesar 63% pada konsentrasi antioksidan 60 µg/mL, dan semakin meningkat pada konsentrasi yang meningkat (Ilamparithi et al., 2011).

6.1.1 Ekstrak Cumi-Cumi (*Loligo sp*) Secara Oral Menurunkan Kadar *Tumor Necrosis Factor-α* (TNF- α) Serum

Hasil uji *Post Hoc* dalam penelitian ini menunjukkan bahwa kelompok negatif berbeda secara signifikan dengan kelompok positif, yang dapat diartikan terjadi peningkatan kadar TNF- α serum pada luka kondisi diabetes. Kelompok pemberian *chitosan* tidak memiliki perbedaan yang secara signifikan dengan kelompok positif, sedangkan kelompok pemberian cumi-cumi dua hari sekali memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok positif. Berdasarkan pemaparan tersebut, dapat diketahui bahwa kelompok pemberian ekstrak cumi-cumi dua hari sekali memiliki efek yang paling optimal dalam menurunkan kadar TNF- α serum.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Ebaid *et al.*, (2013) dan Jorge *et al.*, (2010) yang menyatakan bahwa terdapat peningkatan kadar TNF- α serum pada luka kondisi diabetes. *Choline* yang terkandung dalam cumi-cumi dapat meningkatkan regulasi insulin yang berguna pada penderita diabetes (Ilcol, 2003). Selain itu, dalam Kumar *et al.*, (2011) *choline* dapat menstimulasi asetilkolin, yang mana asetilkolin berperan dalam aktivasi $\alpha 7$ *subunit-containing nicotinic acetylcholine receptor* ($\alpha 7$ nAChR). Aktivasi $\alpha 7$ nAChR akan menginduksi miR-124 yang dapat menghambat TNF-*converting enzyme* (TACE) mRNA. Penghambatan TACE mRNA dapat menghambat produksi TNF- α (Ulloa, 2013). Penurunan kadar TNF- α serum menandakan bahwa fase inflamasi dapat ditekan dan mempercepat penyembuhan luka diabetes (Brandner *et al.*, 2008; Gill *et al.*, 2008; Lobmann, 2002; Wall, 2002; Tellechea *et al.*, 2010). Penelitian Silva *et al.*, (2013) dan Li *et*

al., (2014) mengatakan bahwa *omega-3 polyunsaturated fatty acids* (PUFAs) dapat menurunkan kadar TNF- α serum.

Pemberian sonde yang terlalu sering memungkinkan terjadinya stress pada tikus dan radang pada saluran pencernaan. Stres tersebut dapat meningkatkan kadar TNF- α serum (Niu *et al.*, 2013; Ragab *et al.*, 2011). Selain itu, kondisi radang dapat ditandai dengan adanya peningkatan kadar TNF- α serum (Wallace dan Ma, 2001; Sigalet *et al.*, 2004; Veneker *et al.*, 2007; Ebaid *et al.*, 2013). Kelompok hewan coba yang lebih jarang dilakukan sonde adalah kelompok dengan pemberian ekstrak cumi-cumi dua hari sekali. Hal tersebut memungkinkan radang dan stress yang disebabkan oleh sonde lebih kecil terjadi.

Pada penelitian Kamba *et al.* (2013), dikatakan bahwa *chitosan* dapat menstimulasi produksi IL-10 yang merupakan sitokin anti-inflamasi. Dikatakan pula, sitokin ini dapat menekan sitokin pro-inflamasi yang berlebihan dalam fase inflamasi yang memanjang. Hal tersebut juga didukung oleh penelitian Yogeshkumar (2013), yang menyebutkan bahwa *chitosan* dapat menurunkan kadar TNF- α secara signifikan. Namun dalam penelitian ini, tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok pemberian *chitosan* dengan kelompok positif. Hal tersebut dapat terjadi karena *chitosan* tablet yang digunakan pada penelitian ini tidak larut dengan *aquades*, sehingga kadang kala terjadi pengendapan serbuk *chitosan* pada sonde tikus. Selain itu, pada penelitian ini *chitosan* yang digunakan berasal dari produk yang sudah jadi, sedangkan pada penelitian Aranaz *et al.*, (2009), *chitosan* didapatkan langsung dari ekstraksi cangkang udang, jamur, dan bahan alami lainnya. Begitu pula beberapa penelitian lain yang menggunakan ekstrak *chitosan* murni dengan berat molekul dan derajat deasetilasi yang sesuai dan diatur sesuai dengan literatur sebelumnya yang menunjukkan efek positif terhadap luka (Shinde *et al.*, 2011; Menda *et al.*, 2014; Zeng *et al.*, 2008; Intraraprasit *et al.*, 2012). Penelitian ini menjadi kurang akurat oleh karena peneliti

tidak menggunakan *chitosan* dalam bentuk ekstrak murni dan tidak memperhitungkan berat molekul *chitosan*, sehingga dibutuhkan penelitian selanjutnya dengan kelompok pembanding menggunakan ekstrak *chitosan* murni.

6.1.2 Ekstrak Cumi-Cumi (*Loligo sp*) Secara Oral Tidak Dapat Meningkatkan Kadar Transforming Growth Factor- β 1 (TGF- β 1) Serum

Hasil uji *Kruskal-Wallis* kadar TGF- β 1 serum menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan ($p > 0,05$) antara kelompok coba ($p = 0,261$). Berdasarkan nilai *mean* kadar TGF- β 1 serum, kelompok negatif memiliki nilai *mean* yang lebih tinggi dibandingkan kelompok positif, sehingga dapat diartikan terjadi penurunan kadar TGF- β 1 serum pada kondisi luka diabetes walaupun tidak secara signifikan. Apabila dibandingkan dengan kelompok pemberian *chitosan*, nilai *mean* kelompok pemberian *chitosan* lebih rendah, dapat diartikan kelompok pemberian *chitosan* tidak efektif dalam meningkatkan kadar TGF- β 1 serum. Begitu pula, kelompok pemberian cumi-cumi memiliki nilai *mean* yang lebih rendah dibandingkan kelompok positif, namun dibandingkan dengan kelompok pemberian *chitosan* dan kelompok pemberian cumi-cumi, kelompok pemberian cumi-cumi dua kali sehari memiliki nilai *mean* lebih tinggi. Hasil pemaparan tersebut, menunjukkan bahwa pemberian ekstrak cumi-cumi tidak efektif dalam meningkatkan kadar TGF- β 1 serum.

Penelitian oleh Huseynova *et al.*, (2009) dan Ibrahim dan Rashed (2007) menunjukkan bahwa pada kondisi diabetes terjadi peningkatan kadar TGF- β 1 serum meskipun studi lainnya menyatakan bahwa terjadi penurunan. Mi *et al.*, (2007) menunjukkan bahwa karakteristik luka diabetes yaitu adanya peningkatan TNF- α dan penurunan TGF- β 1, meskipun dari kedua hal tersebut yang mana penyebab dan yang mana akibat masih belum jelas. Hal ini mungkin menyebabkan hasil kadar TGF- β 1 serum kedua kelompok kontrol tidak berbeda secara

signifikan. Disamping itu, kadar TGF- β 1 serum tidak hanya dipengaruhi oleh kadar TNF- α , akan tetapi TGF- β 1 dapat dilepaskan ke dalam sirkulasi oleh beberapa faktor diantaranya oleh monosit, limfosit, endotel pembuluh darah, eosinofil, platelet, dan *natural regulatory T (nTreg) cells* (Sonkar *et al.*, 2009; Bystrom *et al.*, 2011; Lobmann *et al.*, 2005; Roohi *et al.*, 2014). Sehingga, meskipun TNF- α pada kondisi diabetes meningkat secara drastis dibandingkan pada kondisi tidak diabetes, tidak mutlak dapat diambil kesimpulan bahwa TGF- β 1 serum akan menurun oleh karena banyak faktor yang mempengaruhi sekresi maupun ekspresi TGF- β 1 (Roohi *et al.*, 2014; Jorge *et al.*, 2010).

Selain itu, hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Sustrova *et al.*, (2014), pada pemberian PUFA didapatkan kadar TGF- β 1 serum yang berbeda tidak signifikan dengan kelompok kontrol tanpa pemberian diet PUFA, yang membuktikan bahwa PUFA yang merupakan salah satu kandungan pada cumi-cumi tidak memiliki pengaruh TGF- β 1 serum yang signifikan terhadap *upregulasi*. Berbeda dengan penelitian Ling *et al.*, (2003), yang menyatakan bahwa PUFAs dapat meningkatkan kadar TGF- β 1 melalui penghambatan α 2M, yang berperan dalam *plasma clearance* dan katabolisme TGF- β 1.

Pada penelitian Inan *et al* (2013), dikatakan bahwa *chitosan* sangat efektif pada sekresi *growth factor* (TGF- β 1) di semua tahap penyembuhan luka. *Chitosan* juga dapat mempengaruhi secara efektif terhadap luka diabetes. Pengaruh *chitosan* dalam menekan fase inflamasi dan menstimulasi *growth factor* dapat mempercepat proses penyembuhan luka untuk memasuki fase proliferasi. Namun, pada penelitian ini tidak terdapat peningkatan kadar TGF- β 1 serum, yang dapat terjadi karena kurang larutnya *chitosan* dan tidak menggunakan *chitosan* dalam bentuk ekstrak murni seperti yang telah dipaparkan sebelumnya.

6.1.3 Ekstrak Cumi-Cumi (*Loligo sp*) Secara Oral Menurunkan Jumlah Neutrofil

Pada penelitian ini, terdapat perbedaan signifikan jumlah neutrofil antara kelompok coba menggunakan uji *One Way ANOVA*. Hasil uji *Post Hoc* menunjukkan bahwa kelompok negatif memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok positif, yang dapat diartikan jumlah neutrofil pada luka dalam kondisi diabetes lebih tinggi dibandingkan luka tanpa diabetes. Selain itu, didapatkan hasil bahwa pemberian *chitosan* dan cumi-cumi memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok positif. Berdasarkan pemaparan tersebut, dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak cumi-cumi efektif dalam menurunkan jumlah neutrofil pada luka dengan kondisi diabetes dan sama efektifnya dengan *chitosan*, namun diperlukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan *chitosan* dalam bentuk ekstrak murni dan memperhitungkan berat molekul *chitosan*.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Calder (2009), yang mengatakan bahwa omega-3 PUFAs dapat menurunkan jumlah neutrofil melalui penghambatan *eicosanoids*. *Eicosanoids* merupakan molekul sinyal proinflamasi yang dibuat oleh oksidasi asam lemak 20-karbon. *Eicosanoids* terdiri dari LTB4 dan PGE2, yang berperan sebagai kemo-atraktan dan activator neutrofil yang kuat (Boussetta *et al.*, 2009). Selain itu, antioksidan dan antiinflamasi dalam cumi-cumi dapat menurunkan sitokin proinflamasi dan menghambat ROS, yang mana sitokin proinflamasi dan ROS memengaruhi peningkatan jumlah neutrofil (Goldberg *et al.*, 2007; Lobmann *et al.*, 2005; Xu *et al.*, 2012).

6.1.4 Ekstrak Cumi-Cumi (*Loligo sp*) Secara Oral Menurunkan Jumlah Makrofag

Hasil uji *One-Way ANOVA* pada penelitian ini menunjukkan terdapat perbedaan signifikan antara kelompok coba. Uji *Post Hoc* menunjukkan bahwa

terdapat perbedaan signifikan antara kelompok negatif dan kelompok positif, dengan nilai *mean* kelompok negatif lebih kecil dibandingkan kelompok positif, yang mana dapat diartikan pada luka kondisi diabetes terdapat peningkatan jumlah makrofag. Pada uji ini juga didapatkan hasil bahwa pemberian *chitosan* dan cumi-cumi memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok positif. Berdasarkan pemaparan tersebut, dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak cumi-cumi efektif dalam menurunkan jumlah makrofag pada luka kondisi diabetes dan sama efektifnya dengan *chitosan*, namun masih diperlukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan pembandingan *chitosan* dalam bentuk ekstrak murni dan memperhitungkan berat molekul *chitosan*.

Hasil penelitian tersebut sejalan dengan penelitian Yolanda *et al.*, (2014) yang mengatakan bahwa DHA dapat menurunkan jumlah makrofag dengan menghambat aktivitas inflamasi dan NF- κ B. Selain itu, PUFAs dapat menghambat pengeluaran makrofag M1, yang berperan dalam menstimulasi sitokin proinflamasi, dan merangsang pengeluaran makrofag M2, yang berperan dalam menstimulasi sitokin anti-inflamasi (Schumann, 2013).

6.1.5 Ekstrak Cumi-Cumi (*Loligo sp*) Secara Oral Tidak Dapat Menurunkan Derajat Kemerahan (Eritema)

Uji *One-Way ANOVA* menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan pada eritema. Berdasarkan hasil *mean* pada eritema didapatkan bahwa kelompok negatif lebih rendah dibandingkan kelompok positif, dapat diartikan terjadi peningkatan derajat eritema pada luka kondisi diabetes dibandingkan luka tanpa diabetes walaupun tidak secara signifikan. Nilai *mean* kelompok pemberian *chitosan* lebih tinggi dibandingkan kelompok positif, dapat diartikan pemberian *chitosan* tidak efektif dalam menurunkan derajat kemerahan (eritema). Apabila dibandingkan dengan kelompok pemberian cumi-cumi, kelompok positif lebih

tinggi dibandingkan kelompok pemberian cumi-cumi satu kali sehari dan kelompok pemberian cumi-cumi dua hari sekali. Perbandingan nilai *mean* tersebut menunjukkan bahwa terjadi penurunan eritema namun tidak secara signifikan. Berdasarkan pemaparan tersebut, pemberian cumi-cumi tidak dapat menurunkan eritema pada luka dalam kondisi diabetes.

Fase inflamasi ditandai oleh 5 tanda secara makroskopis, yaitu rubor (kemerahan), calor (panas), dolor (rasa sakit), tumor (pembengkakan), fungsiolesa (kehilangan fungsi). Pada penelitian ini yang digunakan sebagai parameter berakhirnya fase inflamasi, yaitu eritema (rubor). Eritema terjadi akibat peningkatan aliran darah ke daerah yang meradang (Corwin, 2009; Gazaerly, 2013). Dalam Flanagan (2013), dikatakan bahwa terjadi peningkatan derajat kemerahan (eritema) pada luka diabetes. Dalam penelitian Kamba *et al* (2013), dikatakan *chitosan* berperan sebagai anti inflamasi. Selain itu, dalam penelitian Futamura *et al.*, (2013), dikatakan bahwa *omega-3* dan *omega-6* PUFAs dapat menurunkan eritema.

Akan tetapi, pada penelitian ini tidak terdapat perbedaan signifikan pada derajat kemerahan (eritema). Hal ini dapat terjadi karena pencukuran yang dilakukan saat perawatan luka. Selama perawatan luka, terdapat bulu tikus yang menutupi area luka, yang menyebabkan pengamatan derajat kemerahan terhalangi. Oleh karena itu, dilakukan pencukuran untuk menghilangkan bulu yang menutupi luka dan area sekitarnya. Namun, setelah dilakukan pencukuran, area sekitar luka tikus mengalami kemerahan. Selain itu, balutan luka sering terlepas karena pergerakan tikus yang tidak bisa dikontrol. Lepasnya balutan dapat mempengaruhi eritema karena luka terpapar mikroorganisme dan mengurangi kelembaban.

Berdasarkan pemaparan hasil penelitian di atas, ekstrak cumi-cumi efektif dalam mempercepat penyembuhan luka kondisi diabetes dengan model tikus putih pada fase inflamasi, yaitu pada parameter kadar TNF- α serum, jumlah makrofag, dan neutrofil. Oleh karena semua perlakuan dengan frekuensi pemberian yang berbeda-beda menunjukkan efektifitas yang sama dalam menurunkan fase inflamasi, frekuensi pemberian dua hari sekali lebih efektif dengan mempertimbangkan *cost effective* dan *food safety*. Dilain hal, penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak cumi-cumi tidak mempengaruhi penurunan eritema dan peningkatan kadar TGF- β 1 serum pada luka kondisi diabetes.

6.2 Implikasi Keperawatan

Alasan peneliti melakukan penelitian ini yaitu untuk mengembangkan potensi cumi-cumi yang sudah sering dikonsumsi masyarakat agar dapat menjadi terapi alternatif dan komplementer untuk luka kondisi diabetes yang mengalami kelambatan penyembuhan serta membantu mengatasi diagnosa kerusakan integritas kulit sesuai dengan yang ada di dalam NANDA 2012. Berdasarkan hasil penelitian mengenai efek ekstrak cumi-cumi terhadap jumlah kadar TNF- α serum dan TGF- β 1 serum, serta faktor pendukung berupa jumlah makrofag, neutrofil, dan derajat kemerahan pada luka kondisi diabetes dengan model tikus putih galur wistar dapat diketahui bahwa ekstrak cumi-cumi efektif dalam mempercepat penyembuhan luka di fase inflamasi. Sehingga, dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak cumi-cumi dapat diimplikasikan dalam praktek keperawatan sebagai pengobatan alternatif luka kondisi diabetes dan dapat dijadikan intervensi tambahan dalam diagnosa kerusakan integritas kulit.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Dalam pelaksanaan penelitian, ada beberapa keterbatasan yang dapat berpengaruh terhadap hasil yang diperoleh. Hal tersebut antara lain:

- a. Sistem imun tiap sampel tidak bisa dikontrol karena tergantung imunitas masing-masing sampel, sehingga hal ini dapat mempengaruhi proses penyembuhan luka pada masing-masing sampel.
- b. Dalam penelitian ini tidak dilakukan eksplorasi dosis sebelumnya sehingga belum dapat diketahui dosis optimum dalam pelaksanaan penelitian.
- c. Pergerakan tikus yang susah dikontrol, sehingga balutan luka sering lepas, yang dapat mempengaruhi proses penyembuhan luka, yaitu berupa infeksi.
- d. Bulu tikus yang tumbuh menutupi luka menghalangi pengambilan foto untuk pengukuran eritema, sehingga dilakukan pencukuran namun hal tersebut mengakibatkan warna kemerahan yang dapat mempengaruhi hasil derajat kemerahan.
- e. Pengambilan sampel darah untuk menghitung kadar TGF- β 1 serum yang bias dikarenakan terdapat beberapa sumber yang kontra mengenai peningkatan atau penurunan kadar TGF- β 1 serum pada kondisi diabetes. Selain itu, banyak faktor yang dapat memengaruhi pelepasan TGF- β 1 dalam sirkulasi.