

BAB VI

PEMBAHASAN

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak cumi-cumi (*Loligo sp.*) terhadap peningkatan jumlah *fibroblast* jaringan luka pada tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) dengan kondisi hiperglikemia. Penelitian ini menggunakan ekstrak cumi-cumi karena cumi-cumi merupakan salah satu biota laut yang mengandung sejumlah besar nutrisi yang penting seperti *lecithin*, mineral makro, mineral mikro, arginin, asam lemak tak jenuh ganda (omega-3), dan berbagai macam vitamin yang mempunyai peranan penting dalam proses penyembuhan luka.

Penelitian ini merupakan penelitian *True Experimental Laboratory* yang menggunakan 2 jenis kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Dan masing-masing terdapat 2 kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan. Kelompok coba dalam penelitian ini yaitu kelompok kontrol negatif (tidak hiperglikemia, dengan luka dan diberi diet standard), kontrol positif (kondisi hiperglikemia, dengan luka, dan diberi diet standard), perlakuan standard (kondisi hiperglikemia, dengan luka, dan diberi suplemen *chitosan*), perlakuan 1 (kondisi hiperglikemia, dengan luka, dan diberi ekstrak cumi-cumi dua hari sekali), perlakuan 2 (kondisi hiperglikemia, dengan luka, dan diberi ekstrak cumi-cumi satu kali sehari), perlakuan 3 (kondisi hiperglikemia, dengan luka, dan diberi ekstrak cumi-cumi dua kali sehari).

Tikus coba pada penelitian ini diinduksi DM (hiperglikemia) menggunakan injeksi Streptozotocin (STZ) dosis tunggal 45 mg/kgBB intraperitoneal. Dimana

STZ merupakan agen toksik yang bersifat diabetogenik dan dapat merusak sel beta pankreas secara ireversibel sehingga pankreas tidak dapat mensekresikan insulin, yang akan berdampak pada terjadinya kelebihan kadar glukosa darah atau hiperglikemia (Patil et al., 2011). Penelitian yang dilakukan oleh Zafar & Naqvi (2010), telah membuktikan bahwa dengan pemberian STZ dengan dosis tunggal sebanyak 45 mg/kgBB intraperitoneal dapat menyebabkan hiperglikemia secara efektif, dan menurut penelitian Adiga et al. (2010), telah membuktikan bahwa pemberian STZ dengan dosis 45 mg/kgBB dapat menyebabkan destruksi pankreas yang tidak lengkap namun dapat menyebabkan diabetes secara permanen.

Pada penelitian ini, rata-rata berat badan tikus setelah aklimatisasi adalah ± 200 gram. Rata-rata kadar glukosa darah sebelum induksi Diabetes Mellitus (DM) adalah ± 89 mg/dL yang menunjukkan bahwa tikus coba memiliki kadar glukosa darah normal. Setelah diinduksi DM menggunakan Streptozotocin (STZ) dosis tunggal 45 mg/kgBB intraperitoneal menghasilkan rata-rata kadar glukosa darah tikus coba adalah ± 401 mg/dL yang menunjukkan bahwa tikus coba mengalami peningkatan kadar glukosa darah yang progresif (hiperglikemia), dimana merupakan salah satu tanda dari DM. Pada penelitian ini, pengukuran kadar glukosa darah hanya dilakukan pada hari ketiga post-induksi DM. Peneliti berasumsi bahwa kadar glukosa darah tetap meningkat sampai hari ke-14, dan hal tersebut mengacu pada penelitian yang telah dilakukan oleh Krishna et al. (2012), yang menyatakan bahwa pemberian STZ dengan dosis 45 mg/kgbb akan menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah secara progresif hingga 45 hari.

Proses penyembuhan luka merupakan proses yang kompleks yang melibatkan interaksi terkoordinasi diantara banyak sistem imunologi dan biologi.

Proses penyembuhan dibagi menjadi fase-fase yang berbeda. Fase penyembuhan luka yaitu: (i) koagulasi dan hemostasis yang terjadi segera setelah cedera; (ii) fase inflamasi yang terjadi setelah hemostasis; (iii) fase proliferasi yang terjadi dalam beberapa hari setelah cedera dan merupakan proses penyembuhan luka yang penting dan utama; dan (iv) fase terakhir adalah fase *remodelling* atau maturasi yang terjadi pembentukan jaringan parut dan bisa berlangsung sampai satu tahun atau lebih (Guo and DiPietro, 2010).

6.1 Pengaruh Ekstrak Cumi-Cumi (*Loligo sp.*) secara Oral terhadap Jumlah *Fibroblast* Jaringan Luka

Penelitian terhadap jumlah *fibroblast* dilakukan pada hari ke-14 setelah tikus dilakukan perlakuan setelah dikonfirmasi mengalami diabetes yang ditandai dengan hiperglikemia. Pada hari ke-14 pasca perlakuan, jaringan kulit diambil untuk dilakukan pemeriksaan histologi dengan pewarnaan HE (Hematoksilin-Eosin). Pengamatan dilakukan terhadap jumlah *fibroblast* dan dibandingkan antara kelompok kontrol dan perlakuan, serta antar kelompok perlakuan.

Pengujian statistik menunjukkan bahwa pemberian ekstrak cumi-cumi (*Loligo sp.*) memberikan pengaruh yang signifikan terhadap jumlah sel *fibroblast* jaringan luka pada tikus putih dengan kondisi hiperglikemia di hari ke 14. Dari hasil uji *post hoc*, terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif (N) dengan kelompok kontrol positif (Po). Hal tersebut membuktikan bahwa dalam keadaan luka dengan kondisi hiperglikemia terjadi penurunan jumlah *fibroblast*. Selain itu, terdapat perbedaan yang signifikan pula antara kelompok kontrol positif (Po) dengan kelompok perlakuan menggunakan ekstrak cumi-cumi (P1, P2, dan P3). Hal tersebut membuktikan bahwa pemberian ekstrak cumi-cumi secara oral

terhadap luka pada tikus putih kondisi hiperglikemia efektif untuk meningkatkan jumlah *fibroblast*. Sedangkan kelompok perlakuan standard (PS) yang diberikan suplemen *chitosan* menunjukkan hasil yang tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif (Po)

Berdasarkan penghitungan jumlah *fibroblast*, didapatkan nilai mean tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan 3 (P3) (11.05 ± 0.19), dan nilai mean terendah terdapat pada kelompok perlakuan standard (5.8 ± 0.67). Dari hasil uji *post hoc* didapatkan hasil bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan dengan ekstrak cumi-cumi, namun terdapat perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa kandungan aktif yang terdapat dalam cumi-cumi (*Loligo sp*) meningkatkan jumlah *fibroblast* luka pada tikus putih dengan kondisi hiperglikemia. Ekstrak cumi-cumi dengan frekuensi pemberian yang berbeda-beda pada tiga kelompok perlakuan yakni, perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3 memberikan efektifitas yang baik dalam pengaturan jumlah *fibroblast* jaringan luka pada kondisi hiperglikemia. Frekuensi pemberian ekstrak cumi-cumi yang paling efektif adalah pada pemberian 2 hari sekali karena merupakan dosis terkecil dan frekuensi pemberian yang paling sedikit sehingga akan efektif terkait *cost effectiveness* dan *food safety*.

Cumi-cumi mengandung kurang lebih 7,5-14,2 mg/g *lecithin*. Berdasarkan penelitian dari Asaduzzaman dan Chun (2014), menyatakan bahwa *lecithin* yang berasal dari hewan laut mempunyai efek sebagai antioksidan. Efek antioksidan dalam *lecithin* dapat bermanfaat pada proses penyembuhan luka, yaitu dapat menghambat peningkatan ROS sehingga menghambat terjadinya inflamasi yang berkepanjangan pada proses penyembuhan luka dan akan mempercepat

terjadinya fase proliferasi yang penting dalam proses penyembuhan luka, dimana salah satu indikator pada fase proliferasi adalah jumlah sel *fibroblast*. Hal tersebut sejalan dengan penelitian peneliti terbaru bahwa ekstrak cumi-cumi yang mengandung *lecithin* meningkatkan jumlah *fibroblast* pada jaringan luka tikus putih dengan kondisi hiperglikemia.

Cumi-cumi mengandung berbagai macam asam amino yang sangat bermanfaat bagi tubuh, salah satunya adalah arginin. Arginin merupakan salah satu asam amino yang berperan penting dalam proses penyembuhan luka. Arginin berperan sebagai satu-satunya prekursor *nitric oxide* (NO), yang merupakan suatu molekul sinyal yang berperan dalam mekanisme penyembuhan luka, seperti berperan dalam respon imun, stimulasi proliferasi *fibroblast*, sintesis kolagen, dan angiogenesis. Aspek yang penting dari penyembuhan luka adalah modulasi produksi *nitric oxide* (NO) selama fase inflamasi, karena NO meregulasi pembentukan kolagen, proliferasi sel-sel seperti *fibroblast*, dan kontraksi luka. NO diproduksi oleh *nitric oxide synthase* (NOS) selama fase inflamasi (Debats et al., 2009). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Witte et al. (2002), membuktikan bahwa pemberian suplemen arginin dapat meningkatkan penyembuhan luka dengan keadaan diabetes melalui jalur NOS dan arginase. Dalam penelitian tersebut dijelaskan bahwa arginin merupakan satu-satunya substrat yang berperan dalam sintesis NO yang terlibat dalam berbagai mekanisme regulasi pada proses penyembuhan luka meliputi angiogenesis, proliferasi sel seperti *fibroblast*, sintesis kolagen, dan epitelisasi melalui induksi isoform iNOS. Selain itu pada keadaan luka, arginin dapat juga dimetabolisme menjadi urea dan ornitin oleh arginase. Jalur tersebut mempunyai peran penting dalam proses penyembuhan luka melalui penyediaan prolin untuk sintesis kolagen, dan poliamin

yang menstimulasi proliferasi sel salah satunya sel *fibroblast* pada luka. Hal tersebut sejalan dengan penelitian terbaru bahwa cumi-cumi yang mengandung arginin meningkatkan jumlah *fibroblast* pada jaringan luka tikus putih dengan kondisi hiperglikemia.

Vitamin A yang terdapat dalam cumi-cumi juga bermanfaat dalam proses penyembuhan luka. Menurut penelitian dari Brown and Phillips (2010), menyatakan bahwa kekurangan vitamin A dapat menghambat produksi *fibroblast* dan kolagen, dimana pada penelitian menggunakan hewan coba yang diberi suplemen vitamin A terjadi peningkatan proses penyembuhan luka, sehingga dapat disimpulkan bahwa vitamin A berperan penting dalam proses penyembuhan luka untuk membantu produksi *fibroblast* dan kolagen. Selain itu, menurut penelitian Mackay and Miller (2003), menyatakan bahwa vitamin A berperan dalam proses penyembuhan luka dengan meningkatkan jumlah monosit dan makrofag pada area luka untuk mempercepat inflamasi, memodulasi aktivitas kolagen, mendukung diferensiasi sel-sel epitel, dan meningkatkan respon imun untuk mempercepat penyembuhan luka. Hal tersebut sejalan dengan penelitian terbaru bahwa vitamin A yang terkandung dalam cumi-cumi meningkatkan jumlah *fibroblast* jaringan luka tikus putih dengan kondisi hiperglikemia.

Vitamin lain yang terdapat dalam cumi-cumi yaitu vitamin C, dimana setiap 100 gram cumi-cumi mengandung 4,7 mg vitamin C (USDA, 2014). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Lima et al (2009), yang bertujuan untuk membuktikan efek pemberian vitamin C terhadap proses penyembuhan luka pada hewan coba tikus dengan meneliti jumlah makrofag, pembentukan pembuluh darah baru, dan *fibroblast* serta menganalisa ketebalan serat kolagen didapatkan hasil bahwa vitamin C mempunyai efek antiinflamasi pada area luka yang ditandai

dengan jumlah makrofag yang lebih rendah, jumlah pembuluh darah baru yang lebih tinggi, proliferasi *fibroblast* yang lebih tinggi, dan produksi serat kolagen yang lebih tebal dengan pemberian vitamin C. Penelitian lain dari Kamer et al. (2010), membuktikan bahwa pemberian asam askorbat (vitamin C) secara oral mampu mempercepat proses penyembuhan luka pada keadaan diabetes melalui peningkatan kadar hidroksiprolin jaringan, neovaskularisasi, maturasi *fibroblast*, dan deposisi kolagen. Menurut penelitian dari Park and Lim (2011), menyatakan bahwa pada keadaan diabetes terjadi hiperglikemia yang menyebabkan terjadinya stress oksidatif dan terjadi inflamasi yang memanjang pada proses penyembuhan luka yang menyebabkan proses penyembuhan luka pada keadaan diabetes menjadi lama. Penelitian tersebut membuktikan bahwa pemberian suplemen antioksidan yang mengandung vitamin C dan vitamin E secara efektif dapat meregulasi inflamasi yang memanjang dan dapat meningkatkan proses penyembuhan luka pada keadaan hiperglikemia pada diabetes. Hal tersebut sejalan dengan hasil penelitian terbaru yang membuktikan bahwa ekstrak cumi-cumi yang mengandung vitamin C meningkatkan jumlah *fibroblast* pada jaringan luka tikus putih dengan kondisi hiperglikemia.

Menurut USDA (2014), cumi-cumi mengandung berbagai jenis asam lemak, dimana kandungan terbanyak adalah asam lemak tak jenuh ganda sebanyak 0,524g/100 gram cumi-cumi. Salah satu jenis asam lemak tak jenuh ganda yang berperan penting dalam proses penyembuhan luka adalah asam lemak omega-3. Omega-3 berperan sebagai agen antiinflamasi dan dapat menonaktifkan *Nuclear Factor-kB* (NF-kB) sehingga menghambat terjadinya degradasi matriks ekstra seluler yang dapat memperlambat proses penyembuhan luka (Huijberts et al., 2008). Kiecolt-Glaser et al. (2014) menyatakan bahwa diet

omega-3 dapat mempengaruhi respon inflamasi pada area luka, dimana omega-3 berperan untuk mempercepat terjadinya fase inflamasi sehingga fase selanjutnya dari proses penyembuhan luka dapat segera terjadi, yaitu fase proliferasi yang dapat meningkatkan proses penyembuhan luka. Penelitian lain mengenai efek omega-3 terhadap penyembuhan luka adalah penelitian dari McDaniel et al. (2008), menyatakan bahwa asam lemak omega 3 meliputi *eicosapentaenoic acid* (EPA) dan *docosahexaenoic acid* (DHA). EPA dan DHA dipercaya dapat mempengaruhi ekspresi gen sitokin proinflamasi pada tingkat transkripsi dengan mengubah ketidakstabilan membran seluler, pensinyalan dari sel ke sel, mobilitas sel, dan interaksi reseptor dengan agonisnya. Efek Omega-3 pada penyembuhan luka adalah dapat memproduksi sitokin proinflamasi selama fase inflamasi pada penyembuhan luka. Sitokin proinflamasi dapat membantu mengontrol infeksi, dan mempersiapkan jaringan untuk proses penyembuhan luka lebih lanjut melalui peningkatan aktivitas fagositosis, menstimulasi migrasi keratinosit, proliferasi dan kemotaksis *fibroblast*, dan mengatur pengeluaran sitokin tambahan dan *growth factors*. Sitokin proinflamasi yang dipicu oleh omega-3 adalah interleukin-1 (IL-1), IL-6 dan TNF-alpha. Interleukin 1 berperan dalam proliferasi *fibroblast* dan sintesis kolagen, sehingga pemberian diet suplemen EPA/DHA dapat meningkatkan penyembuhan luka salah satunya dengan menstimulasi proliferasi *fibroblast*. Hal tersebut sejalan dengan penelitian peneliti terbaru bahwa ekstrak cumi-cumi yang mengandung omega-3 meningkatkan jumlah *fibroblast* pada luka tikus putih dengan kondisi hiperglikemia.

Pada penelitian ini, tidak ada perbedaan hasil yang signifikan terhadap jumlah *fibroblast* pada kelompok perlakuan dengan ekstrak cumi-cumi. Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena pemberian ekstrak cumi-cumi

memberikan keadaan yang sesuai dengan keadaan normal pada proses penyembuhan luka. Pada kondisi normal terjadi keadaan yang disebut dengan homeostasis, dimana pada keadaan tersebut lingkungan internal tubuh cenderung untuk mempertahankan keadaan konstan tersebut. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak cumi-cumi dengan dosis 450mg/kgbb sebanyak satu kali sehari, dua kali sehari, dan dua hari sekali masih memberikan efek yang baik dan masih berada di dalam kondisi homeostasis (Watson and Fawcett, 2003).

Penelitian ini menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan standard (PS) dan kelompok perlakuan positif (Po) yang menunjukkan bahwa *chitosan* tidak memberikan efek yang signifikan terhadap peningkatan jumlah *fibroblast*. Hal tersebut berbanding terbalik dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Kilic et al. (2013), yang membuktikan bahwa pemberian *chitosan* mampu meningkatkan penyembuhan luka dan dapat menstimulasi produksi *fibroblast*. Pada fase awal penyembuhan luka, *chitosan* efektif dalam peningkatan infiltrasi sel-sel PMN yang diikuti dengan produksi kolagen oleh *fibroblast*. Selain itu *chitosan* juga mempunyai efek perlindungan dari mikroorganisme dan menstimulasi pembentukan granulasi jaringan melalui angiogenesis. Perbedaan hasil penelitian ini dapat terjadi karena *chitosan* yang digunakan dalam penelitian ini adalah *chitosan* dalam bentuk serbuk kapsul yang dihomogenkan dengan menggunakan akuades agar memudahkan untuk dilakukan administrasi oral (sonde) pada hewan coba. Dimana pada saat pemberian oral, *chitosan* tidak dapat tercampur secara homogen dengan akuades, sehingga hewan coba tikus tidak mendapatkan *chitosan* dengan dosis yang sesuai. Selain itu, Aranaz et al. (2009), menjelaskan bahwa dalam melakukan pelarutan *chitosan* ada beberapa variabel eksperimental yang harus

dipertimbangkan, yaitu *counter-ion* garam, derajat asetilasi, berat molekular, pH, kekuatan ionik, dan penambahan pelarut yang tidak berbahan dasar air. Penelitian yang dilakukan oleh Inan & Saraydin (2013), menggunakan asam asetat 1% sebagai pelarut, serta setelah dilarutkan dilakukan kalibrasi pH untuk mendapatkan pH yang sesuai. Dalam penelitian ini, variabel-variabel tersebut tidak diperhitungkan oleh peneliti sehingga menyebabkan hasil penelitian menjadi bias.

6.2 Implikasi Keperawatan

Penelitian ini dapat bermanfaat terhadap bidang keperawatan, khususnya dalam pengembangan intervensi perawatan luka dengan kondisi hiperglikemia melalui terapi komplementer alternatif dengan terapi nutrisi/suplemen. Berdasarkan hal tersebut, peneliti membagi implikasi keperawatan dalam 3 bidang, yaitu bidang pendidikan, penelitian, dan pelayanan keperawatan.

6.2.1 Pendidikan Keperawatan

Pendidikan keperawatan saat ini sudah berkembang dan selalu mengikuti *trend* dan *issue* yang sedang terjadi pada masyarakat maupun situasi klinik. Penelitian ini dapat memberkan kontribusi ilmu pengetahuan keperawatan khususnya terkait terapi komplementer alternatif untuk perawatan luka dengan kondisi hiperglikemia dengan memanfaatkan biota laut yang digunakan sebagai terapi nutrisi.

6.2.2 Penelitian keperawatan

Pada penelitian ini telah dibuktikan bahwa pemberian ekstrak cumi-cumi secara oral dapat meningkatkan jumlah *fibroblast* sehingga dapat mencegah terganggunya penyembuhan luka pada kondisi hiperglikemia. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar untuk mengembangkan

penelitian selanjutnya seperti penelitian uji toksisitas dan trial ekstrak cumi-cumi pada manusia, dan juga dapat dikembangkan penelitian dengan memanfaatkan ekstrak cumi-cumi sebagai bahan topikal perawatan luka.

6.2.3 Pelayanan Keperawatan

Pada tatanan pelayanan keperawatan khususnya dalam perawatan luka, telah banyak diteliti metode-metode penyembuhan luka baik secara medis maupun secara komplementer dengan memanfaatkan sumberdaya alam untuk mempercepat penyembuhan luka. Semua hasil penelitian memiliki *evidence based* yang cukup kuat dan bisa dibuktikan. Pada prinsipnya, secara keilmuan seorang perawat profesional harus mengetahui bagaimana proses penyembuhan luka secara fisiologis, proses apa saja yang terjadi pada penyembuhan luka, berapa lama luka akan sembuh, dan bagaimana cara perawatan luka. Hal ini mempengaruhi persepsi dan kemampuan perawat dalam melaksanakan perawatan luka, semakin memahami mekanisme yang terjadi pada luka, kualitas seorang perawat akan semakin baik dalam melakukan perawatan luka dan *outcome* yang dihasilkan juga akan baik sehingga kepuasan pasien meningkat.

6.3 Keterbatasan Penelitian

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

- a. Pada penelitian ini, peneliti tidak mengontrol status imunitas pada tiap sampel, dimana status imun merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi proses penyembuhan luka
- b. Pada pewarnaan dengan hematoksilin eosin gambaran jenis sel yang dihasilkan merupakan gambaran secara keseluruhan dan tidak spesifik hanya pada *fibroblast*, sehingga diperlukan ketelitian yang tinggi dalam

mengidentifikasi struktur *fibroblast* dan membedakannya dengan sel lain, oleh karena itu diperlukan pemeriksaan khusus menggunakan pewarnaan yang spesifik untuk *fibroblast*

- c. Penelitian ini masih menggunakan teknik balutan konvensional dengan menggulung balutan pada badan tikus, dan teknik tersebut kurang efektif karena terkadang menyebabkan balutan lepas karena bulu tikus yang licin. Balutan yang terlepas dapat mempengaruhi proses penyembuhan luka
- d. Pada penelitian ini menggunakan *chitosan* dalam bentuk serbuk kapsul yang dihomogenkan dengan akuades, dimana *chitosan* tidak dapat homogen dengan akuades sehingga hewan coba tidak mendapatkan dosis *chitosan* yang sesuai

