

BAB VI

PEMBAHASAN

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan pemberian ekstrak jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) meningkatkan jumlah fibroblas pada luka tikus putih galur wistar model diabetes mellitus. Pemilihan jamur tiram ini dilakukan karena jamur tiram banyak di temukan di Indonesia dan budidaya jamur di Indonesia saat ini berkembang cukup pesat, namun saat ini jamur tiram hanya dikenal manfaatnya sebagai bahan dari makanan dan belum di manfaatkan khasiatnya dan kandungan di dalamnya. Beberapa penelitian di luar negeri sudah memanfaatkan jamur tiram sebagai anti kolesterol dan *hepatoprotective*, akan tetapi belum ada penelitian yang menggunakan jamur tiram sebagai terapi untuk luka diabetes mellitus. Pada jamur tiram ini memiliki kandungan beta glukukan yang mampu berperan penting dalam proses penyembuhan luka melalui sistem imunologi.

Pada penelitian ini menggunakan enam kelompok, tiga kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan. Kelompok coba dalam penelitian ini yaitu Kelompok K1 (tikus normal dengan luka, dirawat menggunakan normal saline), K2 (tikus diabetes dengan luka, dirawat menggunakan normal saline), K3 (tikus diabetes dengan luka, dirawat menggunakan normal saline dan metformin oral 63 mg/kgBB, P1 (tikus diabetes dengan luka, dirawat menggunakan ekstrak jamur tiram oral 200mg/kgBB, P2 (tikus diabetes dengan luka, dirawat menggunakan ekstrak jamur tiram topikal 20%), perlakuan 3 (tikus diabetes dengan luka, dirawat menggunakan ekstrak jamur tiram oral 200mg/kgBB dan topikal 20%).

Dalam penelitian Mekala *et al.*, (2011), induksi diabetes mellitus menggunakan injeksi STZ tunggal 45 mg/kgBB secara intraperitoneal. Tujuh hari setelah diinduksi STZ terjadi peningkatan kadar glukosa darah yang menandakan tikus mengalami diabetes. Tikus diabetes ditentukan dari kadar glukosa darah puasa >250 mg/dL disertai dengan trias diabetes (poliuria, polifagi, polidipsi). Begitu pula dalam penelitian ini, nilai mean kadar glukosa darah paling tinggi terdapat pada kelompok K3 ($501,25 \pm 85,60$) dan yang paling rendah pada kelompok K2 ($372,75 \pm 79,55$).

Secara normal, proses penyembuhan luka akut terdiri 4 fase yaitu fase hemostasis inflamasi), fase proliferaatif (granulasi, epitelialisasi), dan fase remodeling (Sen & Roy, 2013; Bologna *et al.*, 2012). Pada fase hemostasis platelet mensekresikan faktor pembekuan darah seperti thrombin. Trombin menstimulasi pengeluaran sitokin pro-inflamasi dan inflamasi. Kemudian dilanjutkan dengan fase inflamasi dimediasi oleh sel mast, neutrofil, dan makrofag (Marston, 2014; Bologna, 2012). Setelah itu, terjadilah proses proliferasi dimana faktor pertumbuhan seperti PDGF, TGF- β , VEGF, KGF dan EGF disekresikan oleh beberapa jenis sel, terutama oleh makrofag yang memiliki fungsi sebagai proliferasi fibroblas dan memulai angiogenesis untuk mendukung regenerasi jaringan dan pertumbuhan epitel. Pada fase remodeling melibatkan peran fibroblast menjadi miofibroblast untuk menjadi struktur jaringan yang lebih kuat dan fase ini faktor pertumbuhan yang berperan yaitu TGF- β 1 (Marston, 2014; Sen & Roy, 2013).

6.1 Pengaruh Pemberian Obat Metformin terhadap Jumlah Fibroblas Jaringan Luka Diabetes Mellitus

Pada kelompok kontrol 3, perawatan yang di berikan merupakan NS serta Metformin. Menurut hasil statistik jumlah fibroblas kelompok kontrol 3 yang diberikan metformin menunjukkan rerata jumlah fibroblas yang menurun signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan oleh kelompok lain. Rerata jumlah fibroblas ($6,7 \pm 1,14$) yang menurun ini di perkuat oleh hasil dari kadar TGF- $\beta 1$ yang menurun juga ($96,5 \pm 65,97$ pg/ml) . Menurut hasil penelitian in-vitro oleh Abu-zaiton (2014), Pemberian metformin mampu menurunkan aktivitas dari proliferasi fibroblas di kulit. Selain itu pemberian metformin memiliki efek dalam mengaktifkan AMP-activated protein kinase (AMPK) (Lu *et al.*, 2015). AMPK merupakan *energy-sensing* yang aktif ketika tubuh mengalami kekurangan energi, sehingga sinyalnya akan menstimulasi penggunaan glukosa pada otot tulang, oksidasi asam lemak pada jaringan adiposa dan mengurangi produksi glukosa hati. AMPK dapat meningkatkan sensitivitas insulin sehingga mampu mengurangi kadar glukosa darah (Coughlan *et al.*, 2014). Namun aktivasi dari AMPK mampu menekan efek dari TGF- $\beta 1$ (Lu *et al.*, 2015). Keadaan inilah yang menyebabkan jumlah fibroblas pada kelompok kontrol 3 menurun signifikan.

6.2 Pengaruh Perawatan Menggunakan *Normal saline* terhadap Jumlah Fibroblas Jaringan Luka Diabetes Mellitus

Pada kelompok kontrol 2 perawatan luka menggunakan *normal saline* biasa digunakan pada praktek klinis untuk merawat luka terbuka (Lim *et al.*, 2000). Normal saline secara umum digunakan sebagai penatalaksanaan untuk melakukan debridemen luka dengan balutan saline yang lembab (Dealey, 2005). Menurut hasil statistik kelompok kontrol 2 memiliki jumlah fibroblas lebih

dibandingkan dengan kelompok kontrol 3 yaitu $10,7 \pm 0,82$, walaupun rerata jumlah fibroblas dalam kontrol 2 tidak terlalu meningkat signifikan dibandingkan dengan kelompok perlakuan. Keadaan ini dipengaruhi oleh faktor kemampuan normal saline yang dapat menjaga kondisi luka tetap moist (Salami *et al.*, 2006). Sehingga pada kelompok kontrol 2 dapat meningkatkan jumlah fibroblas tanpa adanya penghambat seperti metformin yang diberikan pada kelompok kontrol 3.

6.3 Pengaruh Perawatan Menggunakan Ekstrak Jamur Tiram terhadap Jumlah Fibroblas Jaringan Luka Diabetes Mellitus

Pada kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak jamur tiram (*Pleurotus ostretus*) memberikan pengaruh yang signifikan terhadap peningkatan jumlah fibroblas jaringan luka diabetes mellitus tikus putih dihari 14. Hasil dari uji post hoc menerangkan bahwa jumlah fibroblas pada kelompok perlakuan (P1, P2, P3) meningkat signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol (K2 dan K3). Hal ini karena jamur tiram (*Pleurotus ostretus*) memiliki salah satu kandungan yaitu beta glukan yang tinggi (Bobek dan Galbavy 2001). Seperti dijelaskan pada kerangka teori di BAB II, beta glukan dapat meningkatkan sistem imun di dalam tubuh dan meningkatkan penyembuhan luka (Sandvik, 2008; Mowsumi & Chaudhury, 2010). Menurut Penelitian Kikuchi (2002) secara *in vitro* beta glukan dapat mematurasi *Dendritic Cell*. *Dendritic cell* yang maturasi disebabkan oleh molekul beta glukan yang berikatan pada reseptor Dectin-1 dan TLR di *dendritic cell imature* (Chan *et al.*, 2009). *Dendritic Cell* matur merangsang sel T untuk berdiferensiasi menjadi himpunan bagian yang berbeda, yaitu sel Th1 dan Th2, sehingga mempengaruhi lingkungan mikro luka dengan mengeluarkan profil sitokin yang berbeda. (Bologna *et al.*, 2012; Kumar *et al.*, 2009). Menurut Celal *et al.* (2008) beta glukan dapat menyebabkan makrofag

menjadi aktif dan migrasi. Proses pengaktifan makrofag itu sendiri berasal dari profil sitokin Th1 dan Th2, sehingga makrofag dapat memperoleh keadaan aktivasi yang berbeda, makrofag yang "secara klasik aktif" (M1) dan makrofag "alternatif aktif" makrofag (M2) (Bologna *et al.*, 2012). Makrofag M1 diaktifkan oleh IFN- γ , setelah aktif makrofag ini akan terjadi aktifitas pro-inflamasi seperti produksi IL-1, NO, dan *eradication of invading* mikroorganisme (Bologna *et al.*, 2012). Sedangkan makrofag M2 diaktifkan oleh IL-4 dan IL-13, makrofag ini memiliki fungsi anti-inflamasi, angiogenesis, *remodelling* jaringan dan terutama meningkatkan produksi *growth factor* seperti TGF- β (*Transforming growth factor- β*), FGF (*Fibroblast growth factor*) dan PDGF (*Platelet-derived growth factor*) yang berfungsi untuk proliferasi fibroblas (Kumar *et al.*, 2009) (Bologna *et al.*, 2012).

Fibroblas sendiri merupakan faktor utama pada proses perbaikan untuk pembentukan protein struktural yang berperan dalam pembentukan jaringan (Li *et al.*, 2007). Fibroblas menjadi sel yang paling umum ditemui pada jaringan ikat dan mensintesis beberapa komponen matriks ekstraseluler (kolagen, retikuler elastin), beberapa makromolekul anionik (glikoasaminoglikans, proteoglikans) serta glikoprotein multiadesif (laminan dan fibronektin) yang dapat mendorong perlekatan sel dan substrat yang berguna membentuk kekuatan pada jaringan parut. Proliferasi dan migrasi fibroblas memegang peranan penting dalam pembentukan jaringan granulasi dan kontraksi luka (Kanazawa *et al.*, 2010). Fibroblas berperan pada hampir keseluruhan tahap dalam fase proliferasi penyembuhan luka yang terdiri pembentukan granulasi, epitelisasi, hingga kontraksi luka, oleh karena itu pertumbuhan fibroblas sangat penting dalam penyembuhan luka khususnya pada fase proliferasi dalam hal pembentukan

kolagen dan penutupan luka. Fibroblas mulai muncul secara signifikan pada hari ke 4 dan mencapai puncak pada hari ke 7-14, oleh karena itu dalam penelitian jumlah fibroblas dinilai pada hari ke 14 proses penyembuhan luka yang masih merupakan fase proliferasi.

Pada fase proliferasi fibroblas memerlukan *growth factor* untuk berproliferasi, seperti *growth factor* yang berperan yaitu TGF- β (Leong, 2013). Secara fisiologis peran dari TGF- β mengatur fungsi keratinosit, fibroblas, sel endotel, monosit dan tipe sel lainnya. TGF- β akan berikatan dengan reseptor TGF- β RII dan TGF- β RI untuk terjadinya fosforilasi. Setelah adanya fosforilasi, R-SMAD dan Co-SMAD berikatan untuk bereaksi di luar dan dalam inti sel, selanjutnya TGF- β 1 dikeluarkan dari dalam inti sel melalui proses transkripsi mRNA. TGF- β 1 ini di proses dan disekresikan oleh keratinosit, monosit, fibroblas dan makrofag. TGF- β 1 yang dikeluarkan akan menstimulasi angiogenesis dengan meningkatkan ekspresi VEGF (*Vascular endothelial Growth Factor*), migrasi keratinosit untuk melakukan re-epitelisasi, menstimulasi protomyofibroblas menjadi myofibroblast terdiferensiasi untuk menghasilkan kontraksi pada luka (Ramirez *et al.*, 2014; Nam *et al.*, 2010). Sehingga beta glukukan dari jamur tiram mampu mempercepat proses penyembuhan luka melalui pengaktifkan makrofag, dengan menstimulasi pengeluaran TGF- β 1, proliferasi fibroblas.

Keadaan tersebut dibuktikan dengan hasil penelitian di BAB V, bahwa ada perbedaan antara kelompok kontrol dan perlakuan, dimana kelompok perlakuan mampu mempercepat penutupan luka dibandingkan dengan kelompok K2 dan K3. Pada kelompok perlakuan menerangkan bahwa pemberian jamur tiram dapat meningkatkan jumlah fibroblas. Hal ini seperti studi invitro Son *et al.* (2005),

bahwa pemberian beta glukon mampu meningkatkan proliferasi fibroblas dibandingkan kelompok kontrol yang tanpa pemberian beta glukon. Selain itu telah dilaporkan bahwa terdapat reseptor khusus untuk glukon di fibroblas manusia, terutama yang ditemukan pada lingkungan luka. Beberapa hal yang perlu diketahui bahwa makrofag adalah sel penting dalam perbaikan luka dan terdapat reseptor glukon di makrofag mamalia. Dari hasil tersebut dapat di spekulasikan bahwa interaksi langsung beta glukon dengan fibroblas dapat terjadi sebagai mekanisme perbaikan luka. Sementara efek beta glukon dalam perbaikan meliputi makrofag mengeluarkan *growth factor* dengan mempengaruhi aktivitas fibroblas meliputi sintesa kolagen (Son *et al.*, 2005).

Menurut penelitian Celal *et al* (2008) menerangkan bahwa pemberian sistemik dan topikal beta glukon dapat meningkatkan secara signifikan penyembuhan luka, dari hasil penelitiannya juga menyebutkan bahwa pemberian beta glukon secara sistemik lebih efektif daripada topikal. Keadaan tersebut dibuktikan dari hasil histopatologi (fibroblas dan kolagen) yang meningkat signifikan. Fibroblas dan kolagen meningkat signifikan pada kelompok yang diberikan sistemik beta glukon (Celal *et al.*, 2008). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian peneliti yang menerangkan bahwa kelompok P1 yang diberikan dosis oral jamur tiram mengalami penyembuhan luka diabetes lebih cepat dan telah mencapai proses akhir penyembuhan luka, dengan jumlah fibroblas ($18,7 \pm 1,10$) dan kadar TGF- β 1 ($101,5 \pm 27,52$) dibandingkan dengan kelompok P2 yang diberikan topikal jamur tiram.

Secara teori, pada proses penyembuhan luka yang telah mencapai proses akhir, TGF- β 1 berfungsi untuk membantu deposisi dari matriks ekstraseluler. Fibroblast dan keratinosit akan berkomunikasi satu sama lain melalui TGF- β 1

untuk menurunkan regulasi dari proses penyembuhan, berdiferensiasi, dan berhenti (Hebda dan Sandulache, 2003). Keadaan ini untuk mencegah timbulnya scar/keloid pada kulit karena menurut Yamano *et al.* (2013) menyatakan bahwa tingginya TGF- β 1 pada penyembuhan luka dapat meningkatkan scarring.

Penelitian ini mengadaptasi teori model konservasi levine yang dibangun sebagai kerangka pembelajaran untuk keperawatan medikal bedah (Schaefer, 2014). Pada penelitian ini teori yang diterapkan yaitu teori konservasi integritas struktural dan teori konservasi energi. Menurut teori konservasi integritas struktural levine tubuh dibutuhkan untuk konservasi integritas struktural melalui proses penyembuhan dan perbaikan, dimana konservasi integritas struktural ini dapat dicapai dengan intervensi keperawatan. Maka untuk mencapai suatu integritas struktural perlu mengangkat diagnosa keperawatan NANDA *international (Nursing Diagnoses Definition and Classification) 2012-2014* pada domain *safety and protection class 2*, terdapat diagnosa kerusakan integritas kulit dan kerusakan integritas jaringan. Diagnosa tersebut patut diangkat pada penelitian ini, dengan batasan karakteristik meliputi kerusakan lapisan kulit, membran mukosa, integumen, subkutan, dan kerusakan jaringan. Penelitian ini menggunakan luka eksisi yang dibuat dari lapisan epidermis hingga hipodermis/subkutan, sehingga sesuai dengan batasan karakteristik yang ada pada diagnosa keperawatan kerusakan integritas kulit dan jaringan berhubungan dengan faktor mekanis yaitu eksisi (Herdman, 2012). Pada penelitian ini NOC yang sesuai yaitu *Wound Healing: Primary Intention* (indikator penaksiran tepi luka/proses epitelisasi) dan *Wound Healing: Secondary Intention* (indikator granulasi dan penurunan ukuran luka). Indikator NOC *Wound Healing: Secondary Intention* bisa tercapai jika jumlah sel fibroblas mengalami

peningkatan, sehingga perlu dilakukan intervensi keperawatan agar jumlah fibroblas pada penelitian ini mengalami peningkatan (Moorhead *et al.*, 2008). Intervensi yang dapat dilakukan pada kerusakan integritas jaringan mengacu pada NIC (*Nursing Intervention Classification*) adalah *wound care* atau perawatan luka. Intervensi tersebut meliputi monitor terhadap karakteristik luka seperti warna, ukuran, bau, eksudat dan dilanjutkan dengan membersihkan luka dengan larutan *normal saline*. Pemberian *Normal saline* dapat diberikan saat irigasi, penggantian dressing, hingga dokumentasi keadaan luka. Selain itu juga tetap menjaga teknik steril dalam perawatan luka agar luka diabetes tidak menjadi infeksi yang berlebihan. Intervensi lain mengganti balutan ketika jumlah eksudat sudah banyak dan balutan menjadi basah, pada penelitian ini dilakukan setiap 1 hari sekali. Bentuk perawatan luka yang dilakukan pada penelitian ini sudah sesuai dengan bentuk perawatan luka yang direkomendasikan pada NIC, sehingga dapat disimpulkan bahwa penelitian ini juga turut mengaplikasikan teori keperawatan di dalamnya (Dochterman *et al.*, 2008).

Pada penelitian ini intervensi keperawatan spesifik yang dapat memperbaiki integritas struktural meliputi perawatan luka diabetes mellitus menggunakan ekstrak jamur tiram untuk mencegah kondisi luka yang semakin buruk. Dimana ekstrak jamur tiram ini mampu berpengaruh pada proses penyembuhan luka secara primer dan sekunder. Pada proses penyembuhan secara primer, ekstrak jamur tiram itu mampu meningkatkan kadar TGF- β 1. Kadar TGF- β 1 ini mampu menstimulasi migrasi keratinosit sehingga terjadi suatu reepitelisasi jaringan kulit sehingga indikator penaksiran tepi luka pada NOC *Wound Healing: Primary Intention* bisa tercapai (Ramirez *et al.*, 2014; Nam *et al.*, 2010; Moorhead *et al.*, 2008). Pada proses penyembuhan sekunder, ekstrak

jamur tiram ini mampu mengaktifkan makrofag. Makrofag akan mengeluarkan growth factor seperti TGF- β , FGF, dan PDGF yang berguna bagi proliferasi fibroblas. Sehingga dengan adanya proliferasi fibroblas, indikator granulasi dan penurunan ukuran luka pada NOC *Wound Healing: Secondary Intention* bisa tercapai (Kumar *et al*, 2009; Bologna *et al.*, 2012; Moorhead *et al.*, 2008). Akan tetapi, konservasi integritas struktural tidak dapat dipelihara tanpa mengkonservasi energi (Leach, 2006).

Kaitan teori konservasi energi Levine dengan penyembuhan luka ialah semakin cepat masa penyembuhan luka maka semakin banyak energi yang dikonservasi. Hal ini maksudnya pada kondisi sehat tubuh menggunakan level energi yang minimal untuk konservasi energi. Akan tetapi jika tubuh mengalami gangguan atau sakit, energi yang dibutuhkan pada level maksimal sampai ke dalam keadaan normal atau sehat. Pada penelitian ini perawatan menggunakan jamur tiram berpengaruh pada sistem imunologi dan peningkatan jumlah fibroblas yang akan membutuhkan energi untuk memperbaiki homeostasis dan mempercepat kesembuhan luka. Jika luka cepat mengalami penyembuhan, maka energi yang akan dikeluarkan dapat diminimalisir (Leach, 2006).

6.4 Implikasi Keperawatan

Penelitian ini dapat bermanfaat terhadap keperawatan, khususnya dalam pengembangan intervensi perawatan luka pada kasus luka diabetes mellitus melalui terapi komplementer alternatif. Berdasarkan analisa tersebut, maka peneliti membagi implikasi dalam 3 bidang yaitu pendidikan, penelitian, dan pelayanan keperawatan.

6.4.1 Pendidikan Keperawatan

Pendidikan keperawatan saat ini sudah berkembang dan selalu mengikuti trend dan issue yang sedang terjadi pada masyarakat maupun pada situasi klinik. Penelitian ini dapat memberikan kontribusi ilmu pengetahuan keperawatan khususnya terkait perawatan luka dan bahan herbal yang dapat digunakan sebagai alternatif dalam pemilihan bahan rawat luka.

6.4.2 Penelitian Keperawatan

Pada penelitian ini telah dibuktikan bahwa pemberian ekstrak jamur tiram secara oral dan topikal dapat meningkatkan jumlah fibroblas sehingga dapat mencegah terganggunya penyembuhan luka pada kondisi diabetes mellitus. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar untuk mengembangkan penelitian selanjutnya seperti penelitian uji dosis oral bertingkat, uji LD-50 tikus, dan uji ekstrak jamur tiram pada manusia.

6.4.3 Pelayanan Keperawatan

Pada tatanan pelayanan keperawatan, khususnya dalam perawatan luka, banyak diteliti metode-metode penyembuhan luka, baik penyembuhan secara medis maupun secara komplementer dengan menggunakan media yang ada di alam untuk mempercepat penyembuhan luka. Semua hasil penelitian memiliki *evidence based* yang cukup kuat dan bisa dibuktikan. Pada prinsipnya, secara keilmuan seorang perawat professional harus mengetahui bagaimana proses penyembuhan luka secara fisiologis, proses apa saja yang terjadi pada penyembuhan luka, berapa lama luka akan sembuh dan penyebab luka tersebut dapat sembuh dengan atau tanpa meninggalkan jaringan parut, dan bagaimana cara perawatan luka dengan berbagai klasifikasinya. Hal ini akan 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.

6.5 Keterbatasan Penelitian

1. Kadar beta glukukan pada jamur tiram diketahui banyak terdandung pada jamur tiram. Akan tetapi peneliti belum mengetahui kadar beta glukukan dalam hasil ekstrak jamur tiram, sehingga perlu adanya pemeriksaan khusus untuk menilai kadar beta glukukan dalam tiap ekstrak jamur tiram.

