

BAB VI

PEMBAHASAN

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian gel campuran ekstrak etanol daun lidah buaya (*Aloe barbadensis miller*) dan lendir bekicot (*Achatina fulica*) terhadap ketebalan epitel pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi panas.

Pengamatan pada penelitian ini dilakukan di hari ke-3, ke-5 dan ke-7 setelah semua hewan coba dilakukan ulserasi. Lesi yang timbul dari trauma pada mukosa labial tikus putih (*Rattus norvegicus*) menunjukkan gambaran klinis ulser 1 hari setelah induksi panas dilakukan. Tampak gambaran lesi ulser berbentuk bulat atau oval dengan diameter 1,5 mm, dasar lesi berwarna putih kekuningan atau putih pucat, dikelilingi oleh pinggiran kemerahan. Hal tersebut sesuai dengan Ghom (2014) yang menjelaskan bahwa ulkus traumatik bentuknya tunggal dengan margin lesi kemerahan. Ukurannya sedang dan bentuk biasanya irregular serta bisa datar atau sedikit cekung. permukaan terdiri dari eksudat serosanginous atau serofibrinous keabu-abuan.

Campuran ekstrak etanol daun lidah buaya (*Aloe barbadensis miller*) dan lendir bekicot (*Achatina fulica*) diformulasikan dalam bentuk gel dengan *gelling agent carbomer 934*, karena *carbomer 934* memiliki stabilitas dan kompatibilitas yang tinggi dan toksisitas yang rendah (Sudjono, 2012). Pembuatan ekstrak etanol daun lidah buaya (*Aloe barbadensis miller*) dengan cara dingin yaitu maserasi karena metode yang digunakan sederhana tetapi efektifitasnya tinggi untuk menarik zat-zat aktif (*acemannan*, *glucmannan*, saponin, flavonoid) yang terkandung dalam lidah buaya (*Aloe barbadensis miller*) (Fidayatika dkk., 2012;

Puspitasari *dkk.*, 2012; NN Azwanida, 2015). Sedangkan lendir bekicot (*Achatina fulica*) dalam penelitian tidak dilakukan ekstraksi karena memungkinkan pelarut yang menarik zat aktif dapat merusak zat aktif *heparan sulfate* yang terkandung dalam lendir bekicot. Hal tersebut juga didukung oleh penelitian Dewi (2010) bahwa lendir bekicot tidak dilakukan ekstraksi. Oleh karena itu, lendir bekicot (*Achatina fulica*) langsung ditambahkan dengan *gelling agent carbomer 934* untuk memudahkan aplikasi dan mempercepat proses penyembuhan luka karena bersifat mendinginkan (Sudjono, 2012).

Dari penelitian terdahulu belum ada yang melakukan pencampuran lidah buaya (*Aloe barbadensis miller*) dan lendir bekicot (*Achatina fulica*). Oleh karena itu, dosis dari gel campuran ekstrak etanol daun lidah buaya (*Aloe barbadensis miller*) dan lendir bekicot (*Achatina fulica*) adalah 100%. Dosis tersebut didapatkan melalui *trial* pembuatan gel campuran ekstrak etanol daun lidah buaya (*Aloe barbadensis miller*) dan lendir bekicot (*Achatina fulica*) sebelum melakukan penelitian.

6.1 Hasil Uji Oneway ANOVA

Dalam uji *oneway ANOVA* yang telah dilakukan menunjukkan bahwa rata-rata ketebalan epitel pada kelompok K(-), K(+) dan P memiliki perbedaan bermakna. Hal tersebut sesuai dalam penelitian Bhalang *et al.* (2013) dijelaskan bahwa *acemannan* dalam lidah buaya mampu meningkatkan epitel dan proliferasi fibroblas melalui aktivasi *growth factors*. Dalam penelitian hewan coba menunjukkan efek *acemannan* mempercepat penyembuhan luka rongga mulut, mengurangi ukuran dan nyeri dari ulserasi serta aman digunakan pada kulit dan mukosa mulut. Dalam penelitiannya juga menunjukkan *acemannan* efektif dalam penyembuhan ulser pada manusia. Dalam penelitian Zakine *et al.* (2011) dijelaskan bahwa *heparan sulfate* yang terkandung dalam lendir bekicot

meningkatkan pelepasan KGF sehingga mempercepat proses penyembuhan ulser traumatik tikus putih (*Rattus norvegicus*).

6.2 Perbandingan Ketebalan Epitel Kelompok yang Tidak Diberi Perlakuan (K(-)) Hari Ke-3, Ke-5 dan Ke-7

Pada rerata (gambar 5.5) menunjukkan ketebalan epitel pada kelompok yang tidak diberi perlakuan (K(-)) mengalami peningkatan dari hari ke-3 sampai hari ke-5, dan penurunan pada hari ke-7. Pada uji *Post-Hoc Tukey* menunjukkan bahwa ketebalan epitel pada kelompok K(-) hari ke-3 dibanding hari ke-5 memiliki perbedaan yang tidak signifikan, dan hari ke-5 dibanding hari ke-7 memiliki perbedaan yang tidak signifikan, serta hari ke-7 dibanding hari ke-3 memiliki perbedaan yang tidak signifikan.

Ketebalan epitel pada kelompok K(-) hari ke-3 dibanding hari ke-5 memiliki perbedaan yang tidak signifikan dikarenakan pengaruh *growth factor* yang dihasilkan oleh makrofag kemungkinan terdegradasi, sehingga stimulasi sel basal rendah dan mengakibatkan epitel yang terbentuk pada hari ke-3 menuju hari ke-5 rendah. *Growth factor* sendiri merupakan protein berukuran kecil yang berperan penting dalam proses penyembuhan luka (haemostasis, inflamasi, proliferasi, epitelisasi, maturasi dan remodelling jaringan *scar*) (Gibson, 2009). Degradasi *growth factor* akan menghilangkan sinyal yang merangsang proliferasi sel-sel yang diperlukan untuk penggantian jaringan (Fibroblas, sel endotel dan keratinosit) (Gibson, 2009).

Sedangkan ketebalan epitel pada kelompok K(-) hari ke-5 dibanding hari ke-7 memiliki perbedaan yang tidak signifikan dan kelompok K(-) hari ke-3 dibanding hari ke-7 memiliki perbedaan yang tidak signifikan. Hal ini dikarenakan peningkatan sel makrofag pada tahap proliferasi akibat adanya infeksi sehingga menyebabkan proses inflamasi yang berkepanjangan. Padahal sel makrofag

pada tahap proliferasi seharusnya menurun. Hal tersebut juga didukung pada saat penelitian, tikus yang tidak diberi perlakuan (K(-)) pada hari ke-7, secara makroskopis menunjukkan adanya infeksi sehingga peradangan masih berlanjut. Dalam penelitian Young *et al.* (2011) dijelaskan bahwa fase inflamasi akan bertahan selama masih terdapat invasi bakteri (infeksi) yang berlebihan. Inflamasi berkepanjangan dapat terjadi dan menyebabkan tertundanya proliferasi, sehingga berpengaruh pada fase reepitelisasi.

Inflamasi merupakan bagian normal dari proses penyembuhan luka dan sangat penting dalam menghilangkan kontaminasi mikroorganisme. Dengan adanya dekontaminasi bakteri akan menyebabkan inflamasi yang berkepanjangan, hal tersebut diakibatkan karena pembersihan mikroba yang tidak sempurna. Bakteri dan endotoksinya akan menyebabkan peningkatan sitokin pro-inflamatori yang berkepanjangan seperti *Interleukin-1* dan *TNF- α* dan memperpanjang fase inflamasi. Jika berlanjut, luka akan masuk dalam tahap kronis dan terjadi kegagalan penyembuhan (Guo and Di Pietro, 2010).

6.3 Perbandingan Ketebalan Epitel Kelompok yang Diaplikasikan *Triamcinolone acetonide* 0,1 % (K(+)) Hari Ke-3, Ke-5 dan Ke-7

Pada rerata (gambar 5.5) menunjukkan ketebalan epitel pada kelompok yang diaplikasikan *Triamcinolone acetonide* 0,1 % (K(+)) mengalami peningkatan dari hari ke-3, menuju hari ke-5, sampai hari ke-7. Pada uji *Post-Hoc Tukey* menunjukkan bahwa ketebalan epitel pada kelompok K(+) hari ke-3 dibanding hari ke-5 memiliki perbedaan yang tidak signifikan, hari ke-5 dibanding hari ke-7 memiliki perbedaan yang tidak signifikan, dan hari ke-3 dibanding hari ke-7 memiliki perbedaan yang tidak signifikan.

Perbedaan yang tidak signifikan pada kelompok K(+) hari ke-3 dibanding hari ke-5, hari ke-5 dibanding hari ke-7 dan hari ke-3 dibanding hari ke-7 sesuai

dengan penelitian Eaglstein (1978) bahwa steroid topikal dilaporkan dapat menurunkan sintesis DNA epitel, tertundanya pengembalian barrier epitel, dan menyebabkan atrofi epitel serta menurunkan migrasi epitel pada luka. Aplikasi steroid topikal secara rutin setelah luka terbentuk secara signifikan akan menghambat penyembuhan luka. Hal tersebut dikarenakan pengaruh steroid topikal pada migrasi sel epitel.

6.4 Perbandingan Ketebalan Epitel Kelompok yang Diaplikasikan Gel Campuran Ekstrak Etanol Daun Lidah Buaya (*Aloe barbadensis miller*) dan Lendir Bekicot (*Achatina fulica*) (P) Hari Ke-3, Ke-5 dan Ke-7

Pada rerata (gambar 5.5) menunjukkan ketebalan epitel pada kelompok yang diaplikasikan gel campuran ekstrak etanol daun lidah buaya (*Aloe barbadensis miller*) dan lendir bekicot (*Achatina fulica*) (P) mengalami peningkatan dari hari ke-3 menuju hari ke-5 dan dari hari ke-5 menuju hari ke-7. Pada uji *Post-Hoc Tukey* menunjukkan bahwa ketebalan epitel pada kelompok P hari ke-3 dibanding hari ke-5 memiliki perbedaan yang tidak signifikan, hari ke-5 dibanding hari ke-7 memiliki perbedaan yang signifikan, dan pada hari ke-3 dibanding hari ke-7 memiliki perbedaan yang signifikan.

Ketebalan epitel pada kelompok P hari ke-3 dibanding hari ke-5 memiliki perbedaan yang tidak signifikan dikarenakan kandungan *acemannan* dan *glucomannan* dalam lidah buaya dan *heparan sulfate* dalam lendir bekicot yang merupakan polisakarida memungkinkan terjadinya degradasi. Padahal dalam penelitian Khamlue (2012) dijelaskan bahwa polisakarida dapat meningkatkan migrasi epitel dalam proses penyembuhan luka.

Polisakarida menjadi tidak stabil dan terdegradasi terutama dibawah kondisi stress seperti panas, adanya aktivitas enzim dan asam. Degradasi polisakarida dapat menyebabkan hilangnya molekul dengan berat melekul tinggi

(Hamman, 2008). Selain itu, adanya respon jaringan terhadap stress, stress dalam bentuk gangguan integritas seperti *injury*, inflamasi, penggunaan yang berlebihan, respon auto-imun, dapat menyebabkan degradasi pada protein dan glikosaminoglikan pada matrik ekstraseluler seperti *heparan sulfate*. Melalui degradasi tersebut, peran *heparan sulfate* pada penyerapan *growth factor* dan sitokin akan hilang (Neck *et al.*, 2012).

6.5 Perbedaan Ketebalan Epitel Kelompok yang Tidak Diberi Perlakuan, Kelompok yang Diaplikasikan *Triamcinolone acetonide* 0,1 %, Kelompok yang Diaplikasikan Gel Campuran Ekstrak Etanol Daun Lidah Buaya (*Aloe barbadensis miller*) dan Lendir Bekicot (*Achatina fulica*) Hari Ke-3 dan ke-5

Pada rerata (gambar 5.5) menunjukkan perbedaan ketebalan epitel pada kelompok K(-), kelompok K(+), kelompok P pada hari ke-3 dan ke-5 didapatkan bahwa kelompok P memiliki ketebalan epitel yang lebih rendah dibanding K(-) dan kelompok P memiliki ketebalan epitel yang lebih tinggi dibanding K(+). Pada uji *Post-Hoc Tukey* menunjukkan bahwa ketebalan epitel kelompok K(-) dibanding K(+), kelompok K(+), dan kelompok K(-) dibanding P memiliki perbedaan yang tidak signifikan, dan kelompok K(-) dibanding P memiliki perbedaan yang tidak signifikan.

Ketebalan epitel kelompok P hari ke-3 dan hari ke-5 lebih rendah dibanding kelompok K(-) dan memiliki perbedaan yang tidak signifikan. Hal ini didukung oleh penelitian Zaky (2017) yang menunjukkan jumlah limfosit hari ke-3 dan ke-5 pada kelompok P memiliki jumlah limfosit yang lebih sedikit dibanding kelompok K(-). Jumlah limfosit yang lebih sedikit tersebut mengakibatkan proses fagositosis pada kelompok P hari ke-3 dan ke-5 lebih rendah dibanding kelompok K(-) hari ke-3 dan ke-5 sehingga proses inflamasi berjalan lebih lama dan

mengakibatkan tahap proliferasi mulainya lebih lambat. Hal ini sesuai dengan teori bahwa segera setelah luka terjadi, sel imun bawaan akan menginisiasi respon inflamasi ke lokasi luka. Salah satunya adalah leukosit (monosit dan limfosit) yang berperan dalam proses fagositosis patogen dan bakteri asing; menghasilkan dan melepaskan mediator proinflamatori untuk merangsang respon vaskular (Monestero, 2014).

Penurunan jumlah limfosit T akan menyebabkan proses fagositosis menurun sehingga proses inflamasi berkepanjangan. Hal ini dikarenakan menurunnya pelepasan *growth factor* dan sitokin oleh limfosit T, yaitu sitokin berupa IL-2 dan IFN- γ yang merupakan mediator inflamasi; *growth factor* berupa TGF- β dan sitokin berupa IL-10 dan IL-4 yang merupakan mediator antiinflamasi. Hal tersebut mengakibatkan tahap proliferasi mulainya lebih lambat (Monestero, 2014).

6.6 Perbedaan Ketebalan Epitel Kelompok yang Tidak Diberi Perlakuan, Kelompok yang Diaplikasikan *Triamcinolone acetonide* 0,1 %, Kelompok yang Diaplikasikan Gel Campuran Ekstrak Etanol Daun Lidah Buaya (*Aloe barbadensis miller*) dan Lendir Bekicot (*Achatina fulica*) Hari Ke-7

Pada rerata (gambar 5.5) menunjukkan perbedaan ketebalan epitel pada kelompok K(-), kelompok K(+), kelompok P pada hari ke-7 didapatkan bahwa kelompok P memiliki ketebalan epitel 2 kali lebih tinggi dibanding kelompok K(-) dan K(+). Pada uji *Post-Hoc Tukey* menunjukkan bahwa ketebalan epitel hari ke-7 pada kelompok K(-) dibanding K(+) memiliki perbedaan yang tidak signifikan, kelompok K(+) dibanding P memiliki perbedaan yang signifikan, dan kelompok P dibanding K(-) memiliki perbedaan yang signifikan.

Ketebalan epitel pada kelompok P, 2 kali lebih tinggi dibanding kelompok K(-) dan K(+), serta memiliki perbedaan yang signifikan. Hal ini dikarenakan kandungan *acemannan*, *glucomannan*, saponin dan flavonoid dalam lidah buaya. *Acemannan* meningkatkan aktivitas makrofag dalam pelepasan sitokin, yaitu IL-1 berperan dalam kemotaksis fibroblas & keratinosit; IL-6 berperan dalam proliferasi kolagen, kemotaksis PMN dan makrofag, dan proliferasi keratinosit; TNF- α berperan dalam marginasi PMN dan sitotoksitas, meningkatkan sintesis kolagen, dan reepitelisasi. *Acemannan* juga meningkatkan aktivitas makrofag dalam pelepasan KGF yang bekerjasama dengan EGF dan menstimulasi keratinosit (Hamman, 2008; Jettanacheawchankit *et al.*, 2009; Neck *et al.*, 2012; Monestero, 2014).

Glucomannan menstimulasi aktivitas fibroblas yang akan meningkatkan sintesis kolagen dan proliferasi sel epitel (HS Grover *et al.*, 2015; Kumbhar *et al.*, 2015). Saponin meningkatkan aktivitas makrofag dengan menstimulasi sintesis fibroblas oleh fibronectin dan fungsi saponin berkaitan dengan aktivasi TGF- β (Saeed *et al.*, 2007). TGF- β bekerjasama dengan EGF untuk mengikatnya pada reseptor EGF, mitogenik dan kemotaktik untuk sel epidermal dan endotelial, stimulasi angiogenesis dan pembentukan matrik luka, sebagai sitokin antiinflamatori, dan menghambat pembentukan scar. Flavonoid meningkatkan aktivitas metabolisme di dalam sel makrofag sehingga meningkatkan fagositosis (Saeed *et al.*, 2007).

Sedangkan *Heparan sulfate* dalam lendir bekicot merangsang EGF dan KGF sehingga meningkatkan proses epitelisasi (Neck *et al.* (2012). Kandungan zat-zat aktif tersebut menunjukkan keberhasilan penyembuhan ulser pada kebanyakan kasus (Youmie *et al.*, 2008).

6.7 Hasil Uji korelasi Pearson

6.7.1 Uji Korelasi Pearson Kelompok yang Tidak Diberi Perlakuan (K(-)) Hari Ke-3, Ke-5 dan Ke-7

Berdasarkan uji korelasi Pearson pada penelitian ini diketahui bahwa ketebalan epitel pada kelompok yang tidak diberi perlakuan (K(-)) pada hari ke-3, ke-5 dan ke-7 menunjukkan hubungan yang tidak kuat. Dari hari ke-3 sampai hari ke-5 mengalami peningkatan dan pada hari ke-7 mengalami penurunan. Hubungan yang tidak kuat tersebut dikarenakan penurunan ketebalan epitel pada hari ke-7, yang disebabkan karena pada saat penelitian tikus yang tidak diberi perlakuan (K(-)) pada hari ke-7 secara makroskopis menunjukkan adanya infeksi sehingga peradangan masih berlanjut.

6.7.2 Uji Korelasi Pearson Kelompok yang Diaplikasikan *Triamcinolone acetonide* 0,1 % (K(+)) Hari Ke-3, Ke-5 dan Ke-7

Berdasarkan uji korelasi Pearson pada penelitian ini diketahui bahwa ketebalan epitel pada kelompok K(+) pada hari ke-3, ke-5 dan ke-7 menunjukkan hubungan yang kuat. Dari hari ke-3 menuju hari ke-5, sampai hari ke-7 mengalami peningkatan. Peningkatan tersebut sesuai dengan teori bahwa sel epitel mukosa akan memulai migrasi dalam 12-24 jam diatas luka, dan memuncak pada 24-36 jam. Progresnya mencapai 0,5 mm/hari. Keratinosit epitel menjadi aktif setelah luka terjadi karena aktivasi *growth factor* dan sitokin, yaitu KGF, EGF, dan IGF yang dilepaskan oleh sel-sel inflamatori disekitar bekuan darah. Hal tersebut menandakan bahwa semakin hari epitel akan semakin bertambah tebal (Monestero, 2014).

6.7.3 Uji Korelasi Pearson Kelompok yang Diaplikasikan Gel Campuran Ekstrak Etanol Daun Lidah Buaya (*Aloe barbadensis miller*) dan Lendir Bekicot (*Achatina fulica*) (P) Hari Ke-3, Ke-5 dan Ke-7

Berdasarkan uji korelasi Pearson pada penelitian ini diketahui bahwa ketebalan epitel pada kelompok P pada hari ke-3, ke-5 dan ke-7 menunjukkan hubungan yang tidak kuat. Dari hari ke-3 menuju hari ke-5 mengalami peningkatan ketebalan epitel yang rendah, dari hari ke-5 menuju hari ke-7 mengalami peningkatan ketebalan epitel yang tinggi. Peningkatan yang tidak teratur tersebut menyebabkan hubungan yang tidak kuat pada kelompok P. Peningkatan ketebalan epitel yang rendah dari hari ke-3 menuju hari ke-5 dikarenakan kandungan *acemannan* dan *glucomannan* dalam lidah dan *heparan sulfate* dalam lendir bekicot yang merupakan polisakarida memungkinkan terjadinya degradasi (Hamman, 2008; Neck *et al.*, 2012).

Dari hari ke-5 menuju hari ke-7 mengalami peningkatan yang tinggi karena kandungan *acemannan*, *glucomannan*, saponin, flavonoid dalam lidah buaya dan *heparan sulfate* dalam lendir bekicot. Selain itu juga karena adanya kandungan lain dalam lidah buaya seperti fraksi glikoprotein G1G1M1DI2 yang meningkatkan pelepasan EGF yang berperan dalam stimulasi proliferasi dan migrasi semua tipe sel epitel (Park and Lee, 2006; Viogt, 2006; Monestero, 2014). Vitamin A mampu merangsang terbentuknya kolagen, membantu diferensiasi sel epitel. Anti tromboxane A₂ dan vitamin E meningkatkan aliran darah pada sel yang cedera sehingga mempercepat normalisasi sel-sel epitel yang rusak dan mencegah kerusakan sel epitel (Goodman *et al.*, 2011). Enzim-enzim berperan dalam menghilangkan sel-sel yang telah mati di permukaan epitel yang rusak akibat luka. Asam amino yang terkandung dalam lidah membantu regenerasi sel yang sangat cepat (Furnawanthi, 2006).

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa gel campuran ekstrak etanol daun lidah buaya (*Aloe barbadensis miller*) dan lendir bekicot (*Achatina fulica*) berpengaruh terhadap penambahan ketebalan epitel pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih (*Rattus norvegicus*). Hal ini menunjukkan bahwa hipotesis penelitian yang telah disusun dapat diterima.

