

## BAB 6

## PEMBAHASAN

**6.1 Analisis Jumlah Makrofag Luka Bakar Derajat 2B pada Kelompok Kontrol (NS 0,9%) dan Kelompok Perlakuan yang Dirawat Menggunakan SSD, Hidrogel, Ekstrak Etanol Daun Cincau Hijau (*Cyclea barbata Miers*) Konsentrasi 40%, 50%, dan 60%**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perawatan topikal ekstrak etanol daun cincau hijau (*Cyclea barbata Miers*) dalam meningkatkan jumlah makrofag luka bakar derajat 2B pada tikus putih (*Rattus norvegicus Strain Wistar*). Terdapat 6 kelompok dalam penelitian ini yang terdiri dari 1 kelompok kontrol dan 5 kelompok perlakuan. Kelompok kontrol dirawat dengan NaCl 0,9%. Kelompok perlakuan dirawat dengan *Silver Sulfadiazine* (SSD), hidrogel, ekstrak etanol daun cincau hijau (*Cyclea barbata Miers*) konsentrasi 40%, 50%, dan 60%. Jumlah makrofag pada luka bakar derajat 2B dianalisis pada hari ke-4 pasca cedera (fase inflamasi). Hal ini karena makrofag berada pada puncaknya ketika berada pada hari ke-3 sampai hari ke-5 pasca cedera (Trott, 2012; Greaves *et al.*, 2013; Leong & Phillips, 2013).

Rata-rata jumlah makrofag berikut ini berturut-turut memiliki nilai terendah sampai tertinggi yaitu NaCl 0,9% sejumlah  $4.83 \pm 0.46$ ; SSD sejumlah  $7.85 \pm 2.11$ ; hidrogel sejumlah  $8.13 \pm 0.50$ ; ekstrak etanol daun cincau hijau 60% sejumlah  $9.40 \pm 2.21$ ; ekstrak etanol daun cincau hijau 50% sejumlah  $9.75 \pm 2.64$ ; dan ekstrak etanol daun cincau hijau 40% sejumlah  $9.93 \pm 3.57$ . Dari hasil tersebut diketahui bahwa kelompok yang dirawat menggunakan ekstrak etanol daun cincau hijau konsentrasi 40% memiliki

jumlah rata-rata sel makrofag paling tinggi dibandingkan kelompok lainnya. Sedangkan pada kelompok yang dirawat menggunakan NaCl 0,9% memiliki jumlah rata-rata makrofag paling rendah dibandingkan kelompok lainnya.

Secara makroskopik dapat terlihat bahwa area tepi luka tampak masih eritema karena pada hari ke-4 pasca cedera masih berada di fase inflamasi. Daun cincau hijau (*Cyclea barbata Miers*) mengandung vitamin A yang cukup tinggi, yaitu sebanyak 107,50 SI (Depkes, 1972). Vitamin A sangat penting dalam meningkatkan respon inflamasi pada luka, walaupun prosesnya belum diketahui dengan pasti (MacKay & Miller, 2003; Nestlé Healthcare Nutrition, 2009; Arun *et al.*, 2013). Kurang vitamin A menyebabkan berkurangnya produksi makrofag yang konsekuensinya dapat menunda penyembuhan luka dan rentan terhadap infeksi (Suriadi, 2004).

Daun cincau hijau mengandung polisakarida *pectin* yang mampu membentuk gel cincau berupa hidrokoloid sehingga dapat memfasilitasi *auto-debridement* dengan mempertahankan kelembaban area luka (Pancarini, 2007; Muchtaridi *et al.*, 2008; Rahayu *et al.*, 2013). *Auto-debridement* merupakan proses fagositosis dari bakteri dan sel-sel debris pada luka melalui peningkatan kerja neutrofil dan makrofag (Kumala, 1998; Suriadi, 2004). Jika kelembaban area luka dapat dipertahankan maka proses inflamasi dapat berlangsung lebih singkat dan segera memasuki fase proliferasi (Sanjaya *et al.*, 2011). Kondisi luka lembab akan memicu migrasi sel-sel menuju ke area luka sehingga monosit dalam darah akan berdeferensiasi menjadi makrofag di jaringan ikat untuk melakukan fagositosis (Bashir & Afzal, 2010).

Selain itu, daun cincau juga mengandung flavonoid, saponin, dan alkaloid yang berefek sebagai imunostimulan sel makrofag sehingga aktivasi makrofag dapat ditingkatkan (Yuneda, 2013). Imunostimulan akan meningkatkan aktivasi sel limfosit T yang kemudian akan menghasilkan IFN- $\gamma$  dalam jumlah banyak. Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) inilah yang akan meningkatkan aktivasi dari sel makrofag. Peningkatan aktivasi sel makrofag juga akan meningkatkan kemampuan fagositosis dan produksi *growth factor* penyembuhan luka, sehingga jumlah sel-sel baru juga dapat ditingkatkan dan proses penyembuhan luka terjadi lebih optimal dan cepat (Bryany, 2005; Febram *et al.*, 2010).

Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi daun cincau hijau (*Cyclea barbata Miers*) harus memiliki selektivitas yang tinggi dan aman sesuai standar farmasi. Dalam penelitian ini digunakan pelarut etanol karena memiliki kemampuan ekstraksi sangat baik dan aman digunakan dalam jumlah yang sedikit menurut standar *Federal Food, Drug and Cosmetic Regulation*. Etanol mempunyai titik didih yang rendah dan cenderung aman sehingga tidak beracun dan berbahaya. Etanol juga mempunyai polaritas yang tinggi sehingga akan lebih banyak melarutkan komponen polar seperti flavanoid dan saponin. Selain itu, etanol juga larut dalam air dan mampu melarutkan komponen lain seperti karbohidrat (polisakarida *pectin*), resin, dan gum (Ramadhan & Phaza, 2010).

## 6.2 Pengaruh Perawatan Topikal Ekstrak Etanol Daun Cincau Hijau (*Cyclea barbata* Miers) Dalam Meningkatkan Jumlah Makrofag Luka Bakar Derajat 2B Dibandingkan dengan Semua Kelompok Perlakuan pada Tikus Putih

Berdasarkan uji *One Way ANOVA* jumlah makrofag pada luka bakar derajat 2B pada hari ke-4 diperoleh nilai signifikansi (*p-value*) sebesar  $0.040 < \alpha (0.05)$ . Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok terhadap jumlah makrofag pada luka bakar derajat 2B. Berdasarkan uji *Post Hoc Tukey* didapatkan hasil bahwa jumlah makrofag luka bakar derajat 2B pada kelompok yang dirawat menggunakan ekstrak etanol daun cincau hijau konsentrasi 40% berbeda secara signifikan dengan kelompok kontrol yang dirawat menggunakan NaCl 0,9% dengan *p-value* ( $0.043 < \alpha (0.05)$ ).

Makrofag berperan sebagai sel fagosit kedua setelah neutofil (Suriadi, 2004; Orsted *et al.*, 2007; Febram *et al.*, 2010). Kondisi luka lembab akan memicu migrasi sel-sel menuju ke area cedera sehingga monosit dalam darah akan berdeferensiasi menjadi makrofag di jaringan ikat untuk melakukan fagositosis (Bashir & Afzal, 2010). Hal ini akan menyebabkan jumlah makrofag di area luka meningkat. Fagositosis merupakan *auto-debridement* dari bakteri dan sel-sel debris pada luka melalui peningkatan kerja neutrofil dan makrofag (Kumala *et al.*, 1998; Suriadi, 2004). Makrofag mensekresikan enzim ekstrasellular untuk degradasi jaringan nekrotik pada area luka tersebut (Orsted *et al.*, 2007). Daun cincau hijau mengandung polisakarida *pectin* yang mampu membentuk gel cincau yang struktur kimianya serupa dengan hidrokoloid sehingga dapat memfasilitasi *auto-debridement* (Pancarini, 2007; Muchtaridi *et al.*, 2008; Rahayu *et al.*, 2013).

Hal ini akan menyebabkan proses inflamasi berlangsung lebih singkat dan segera memasuki fase proliferasi (Sanjaya, *et al.*, 2011).

Daun cincau hijau juga mengandung flavonoid, saponin, dan alkaloid yang berefek sebagai imunostimulan pada sel makrofag sehingga aktivasi makrofag dapat ditingkatkan (Yuneda, 2013). Imunostimulan akan meningkatkan aktivasi sel limfosit T yang kemudian akan menghasilkan IFN- $\gamma$  dalam jumlah banyak. Interferon- $\gamma$  inilah yang akan meningkatkan aktivasi dari sel makrofag. Sel makrofag yang teraktivasi menyebabkan ukuran sel bertambah besar, kandungan enzim lisosomnya meningkat, dan metabolismenya aktif sehingga maka kemampuan fagositosis dan produksi *growth factor* penyembuhan luka juga meningkat (Cui *et al.*, 2011). Hal ini akan meningkatkan jumlah sel-sel baru dan proses penyembuhan luka terjadi lebih optimal dan cepat (Bryany, 2005; Febram *et al.*, 2010).

Cairan NaCl 0,9% untuk sering digunakan di rumah sakit untuk membersihkan luka dan juga diaplikasikan sebagai perawatan luka berupa kompres NaCl 0,9% (Potter & Perry, 2005; Bashir & Afzal, 2010). NaCl 0,9% merupakan cairan yang bersifat fisiologis, non-toksik, non-iritan, mudah didapat, mudah diaplikasikan, dan diperiksa secara reguler, serta *cost-effective* (Bashir & Afzal, 2010; Azizah, 2012; Pramana *et al.*, 2012). Pengompresan luka dengan NaCl 0,9 % dapat melindungi granulasi jaringan dari kondisi kering, namun NaCl 0,9% mudah menguap sehingga membuat balutan mudah kering dan sering kali menempel pada area luka (Moenadjat, 2009; Ardhani, 2013). Kasa yang telah kering akan menempel pada area luka sehingga beresiko merusak jaringan granulasi yang kaya akan pembuluh darah (Morison, 2003). Hal tersebut dapat memperlama fase inflamasi. Selain

itu, NaCl 0,9% mengubah temperatur luka (McGuinness *et al.*, 2004). Penurunan temperatur pada area luka akan mempengaruhi aktivitas fagositosis dan aktivitas mitosis secara khusus. Makrofag akan mengalami disfungsi sampai nol jika berada pada suhu di bawah 28°C (Morison, 2003). Hal ini juga akan menghambat dan memperlama proses penyembuhan.

Hasil uji beda antara beberapa kelompok menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok yang dirawat menggunakan ekstrak etanol daun cincau hijau dengan kelompok SSD dan hidrogel terhadap peningkatan jumlah makrofag. Hal ini berarti SSD, hidrogel, dan ekstrak etanol daun cincau konsentrasi 40%, 50%, dan 60% memperlihatkan hasil yang sama bagusnya dalam meningkatkan jumlah makrofag pada luka bakar derajat 2B. *Silver sulfadiazine 1%* (SSD) merupakan obat golongan sulfa yang menjadi *gold standard* terapi topikal pada luka bakar terutama derajat 2 dan 3 (Moenadjat, 2009; Hosseini *et al.*, 2011). Obat ini berguna sebagai agen antibakteri gram positif dan negatif, bersifat bakterisidal, spektrumnya luas, penetrasi pada eskar minimal, krimnya larut air, mudah menembus dan melepaskan eskar, tidak menghambat pertumbuhan jaringan granulasi dan epitelisasi (Smeltzer & Bare, 2002; Adrianto & Mertowidjojo, 2003; Moenadjat, 2003). *Silver sulfadiazine* (SSD) berkerja dengan menghentikan pertumbuhan dan penyebaran bakteri ke sekitar kulit atau dari darah yang mana dapat menyebabkan sepsis (Moenadjat, 2009).

Hidrogel merupakan gel *hydrophilic* yang mudah digunakan, tidak menyebabkan nyeri, preparat penyembuhan luka ideal yang lembut, ekonomis terhadap debridemen luka nekrotik, dan tidak lengket di kulit

(Erizal, 2008; Edwards, 2010). Hidrogel dapat menyebabkan pelunakan jaringan nekrotik karena menyerap eksudat secara perlahan-lahan dan terus menerus. Selain itu, hidrogel mampu meningkatkan angiogenesis, meningkatkan aliran darah sehingga mempercepat penyembuhan luka, membantu menjaga lingkungan tetap lembab, dan memberikan suhu optimal untuk penyembuhan luka karena kandungan airnya yang tinggi (Rosyid, 2011). Di samping dapat menyerap air sebanyak 50-80%, hidrogel juga dapat mengekang obat (misalnya antibiotik) serta melepaskannya kembali ke dalam media cairan secara spesifik dalam jangka waktu tertentu (Erizal *et al.*, 2009)

Hasil uji beda antara beberapa kelompok menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah makrofag antar kelompok yang dirawat menggunakan ekstrak etanol daun cincau hijau konsentrasi 40%, 50%, dan 60%. Hal ini berarti ekstrak etanol daun cincau hijau konsentrasi 40%, 50%, dan 60% memperlihatkan hasil yang sama bagusnya dalam meningkatkan jumlah makrofag. Hal ini diduga karena daun cincau hijau mempunyai toksisitas sangat rendah sehingga jumlah makrofag tidak mengalami perbedaan yang signifikan pada kelompok ekstrak etanol daun cincau hijau konsentrasi 40%, 50%, maupun 60%. Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun cincau hijau terhadap mencit jantan menunjukkan bahwa tidak ada efek toksik yang bermakna pada dosis tunggal oral sampai 30000 mg/kg bb dan nilai LD50 semu lebih besar dari 30000 mg/kg bb (Angelina *et al.*, 2008).

Proses penyembuhan luka dalam penelitian ini dipengaruhi juga oleh faktor-faktor sistemik lainnya, meliputi usia, nutrisi, dan obat-obatan selama

menjalani perawatan luka (Suriadi, 2004). Faktor usia tikus sudah dihomogenkan. Untuk faktor obat-obatan, tikus tidak mendapatkan pengobatan apapun sebelum dan selama penelitian. Dalam penelitian ini, faktor yang mungkin mempengaruhi penyembuhan luka adalah faktor nutrisi. Hal ini karena nafsu makan tikus yang berbeda-beda dan tidak dapat dikontrol selama penelitian, walaupun masing-masing tikus diberi makan setiap hari dengan porsi yang sama sesuai standar laboratorium.

Nutrisi harus dianggap sebagai dukungan dasar dari manajemen luka. Salah satu jenis nutrisi yang sangat dibutuhkan adalah protein karena berfungsi memelihara dan memperbaiki jaringan tubuh. Kekurangan protein akan menyebabkan penurunan produksi kolagen dan memperlambat penyembuhan luka (Nestlé Healthcare Nutrition, 2009). Selain itu, asupan vitamin A juga penting karena kekurangan vitamin A dapat menyebabkan berkurangnya produksi makrofag yang konsekuensinya rentan terhadap infeksi (Suriadi, 2004). Walaupun prosesnya belum diketahui dengan pasti, vitamin A sangat penting dalam meningkatkan respon inflamasi pada luka (MacKay & Miller, 2003; Nestlé Healthcare Nutrition, 2009; Arun *et al.*, 2013). Nutrisi memegang peran penting selama perawatan untuk menunjang proses penyembuhan luka karena peningkatan status gizi memungkinkan percepatan penyembuhan luka sehingga lebih menghemat biaya perawatan (Nestlé Healthcare Nutrition, 2009). Hal ini karena adanya stress jaringan akibat luka bakar mengakibatkan belipat gandanya kebutuhan akan energi selama perbaikan jaringan dan energi untuk aktifitas sehari-hari dalam menjalankan fungsi organ dan sistem tubuh (Moenadjat, 2009).

### 6.3 Keterbatasan Penelitian

1. Peneliti tidak dapat mengendalikan sampel yang pergerakannya berlebihan sehingga banyak balutan yang lepas setelah dilakukan perawatan luka. Lepasnya balutan ditemukan pada keesokan harinya karena rawat luka hanya dilakukan satu kali per hari. Jika kondisi luka terbuka maka kelembaban yang tinggi di antara luka dan balutan tidak dapat dipertahankan.
2. Beberapa hasil *scan* slide jaringan ada tidak fokus karena *cover glass* yang masih tertutup *entellan*. Solusi masalah ini adalah penempelan *entellan* pada *cover glass* slide jaringan dibersihkan dulu kemudian di-*scan* ulang.

### 6.4 Implikasi Penelitian

#### 6.4.1 Teori

1. Menambah ilmu pengetahuan dan wawasan mengenai pengaruh perawatan menggunakan ekstrak etanol daun cincau hijau (*Cyclea barbata Miers*) konsentrasi 40%, 50%, dan 60% terhadap jumlah makrofag pada luka bakar derajat 2B.
2. Menambah ilmu pengetahuan dan wawasan mengenai manfaat ekstrak etanol daun cincau hijau (*Cylea barbata Miers*) sebagai perawatan luka bakar derajat 2B.

#### 6.4.2 Praktek Keperawatan

Perawat dapat mengembangkan rencana intervensi perawatan luka bakar menggunakan ekstrak etanol daun cincau hijau (*Cyclea barbata Miers*) sebagai terapi komplementer.