

BAB VI PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak etanol daun cincau hijau (*Cylea barbata Miers*) terhadap peningkatan ekspresi VEGF pada luka bakar derajat II B tikus putih galur wistar. Pelarut yang digunakan pada ekstrak daun cincau hijau (*Cylea barbata Miers*) adalah etanol, karena ekstrak daun cincau hijau memiliki kandungan yang bersifat polar seperti flavonoid dan saponin. Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tidak tersulih atau suatu gula, sehingga akan larut dalam pelarut polar seperti etanol, methanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida dan air. Pengambilan bahan aktif dari suatu tanaman dapat dilakukan dengan cara ekstraksi, bahan aktif akan larut oleh zat pelarut yang sesuai sifat kepolarannya (Rahardini, 2013).

Penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus dan terdiri dari 6 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif diberikan perawatan menggunakan *Normal saline* (NS), kelompok kontrol positif diberikan perawatan menggunakan *Silver sulfadiazine* (SSD) dan hidrogel, sedangkan kelompok perlakuan diberikan perawatan menggunakan ekstrak daun cincau hijau (*Cylea barbata Miers*) konsentrasi 40%, 50% dan 60%. Tikus dilakukan perawatan selama 4 hari. Pengambilan data dilakukan dengan mengambil preparat jaringan kulit, kemudian dibuat preparat histologi untuk dihitung ekspresi VEGF melalui teknik *imunohistokimia*. Ekspresi VEGF dianalisis menggunakan fotomikroskopik

OLYMPUS seri XC 10 yang dilengkapi *software* OlyVia pada 20 lapang pandang dengan perbesaran 400 kali tiap lapang pandang.

6.1.1. Analisis Perbedaan Ekspresi VEGF Pada Tikus Putih Galur Wistar dengan Luka Bakar Derajat II B Kelompok Kontrol yang Dirawat Menggunakan NS 0,9%, SSD, Hidrogel, dan Kelompok Perlakuan yang Dirawat Menggunakan Ekstrak Etanol Daun Cincau Hijau (*Cylea barbata Miers*) Konsentrasi 40%, 50%, 60% secara Topikal

Penelitian ini dilihat secara histologi terhadap peningkatan ekspresi VEGF dilakukan pada hari ke-4 atau fase inflamasi. Proses euthanasia tikus coba dilakukan pada hari tersebut, selanjutnya dilakukan eksisi jaringan kulit dan pembuatan preparat histologi dengan menggunakan pewarnaan *imunohistokimia*.

Analisis uji *One Way Anova* dari ekspresi VEGF didapatkan nilai signifikan 0,008 ($\alpha < 0,05$) artinya terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok terhadap ekspresi VEGF. Nilai rata-rata \pm standar deviasi dari ekspresi VEGF pada masing-masing kelompok yaitu kelompok ekstrak etanol daun cincau hijau konsentrasi 40% (14.30 ± 2.41), 50% (11.71 ± 1.28), dan 60% (5.91 ± 2.79), *normal saline* (13.35 ± 1.70), *silver sulfadiazine* (9.61 ± 4.69) dan hidrogel (7.75 ± 4.06).

Nilai rata-rata \pm standar deviasi tertinggi didapatkan pada ekstrak daun cincau hijau 40% dengan nilai (14.30 ± 2.41). Hal ini dikarenakan ekstrak etanol daun cincau hijau memiliki kandungan seperti flavonoid, saponin, karbohidrat, vitamin A dan C. Flavonoid memiliki kemampuan imunomodulator yang dapat mengaktivasi makrofag. Makrofag yang aktif berfungsi untuk melakukan fagositosis, memproduksi TNF, perbaikan jaringan (*fibroblas stimulating factor*, fibronectin kolagenase), sitokin dan memproduksi hormon pertumbuhan (*growth factor*) seperti VEGF (Widyastomo *et al*, 2013). *Vascular endothelial growth factor* (VEGF) memiliki peranan penting dalam perbaikan jaringan dan angiogenesis

serta meningkatkan permeabilitas pembuluh darah selama penyembuhan luka (Kimura *et al*, 2006).

Saponin juga mempunyai peranan penting dalam penyembuhan luka, saponin berfungsi sebagai antitumor dan antiinflamasi dengan meningkatkan ekspresi VEGF dalam merangsang angiogenesis melalui peningkatan kegiatan protease dan migrasi sel endotel (Morisaki *et al*, 1998 ; Kimura *et al*, 2006). Komponen lain yaitu karbohidrat mampu berikatan dengan banyak air dalam pembentukan gel sehingga dapat meningkatkan kelembaban luka, memberikan efek *autolysis debridement*, daya sebar pada kulit baik dan mudah berpenetrasi pada kulit serta memberikan efek penyembuhan (Pitojo & Zurniati, 2005 ; Rohmawati, 2008).

6.1.2. Efek Perawatan Menggunakan Ekstrak Daun Cincau Hijau (*Cylea barbata Miers*) Secara Topikal dalam Meningkatkan Ekspresi VEGF pada Luka Bakar Derajat II B Dibandingkan Dengan Perawatan Luka Menggunakan *Normal saline*, *Silver sulfadiazine* dan Hidrogel.

Hasil uji *One Way Anova* ekspresi VEGF luka bakar derajat II B pada hari ke-4 (fase inflamasi) diperoleh nilai signifikansi (*p-value*) sebesar $0.008 < \alpha$ (0,05). Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok terhadap ekspresi VEGF. Berdasarkan uji *Post Hoc Tukey* didapatkan hasil bahwa ekspresi VEGF pada kelompok cincau 40% berbeda secara signifikan dengan kelompok cincau 60% yang ditunjukkan dengan *p-value* (0.012) $< \alpha$ (0.05). Hasil uji *Pearson Correlation* konsentrasi ekstrak daun cincau terhadap peningkatan ekspresi VEGF juga didapatkan nilai sebesar -0.853 yang menunjukkan terdapat korelasi negatif yang kuat, dengan nilai signifikansinya sebesar 0,00 ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa ada hubungan terbalik yang bermakna antara peningkatan ekspresi VEGF dengan konsentrasi ekstrak daun cincau, yaitu semakin besar dosis ekstrak yang diberikan maka ekspresi

VEGF semakin menurun. Penurunan ini dapat disebabkan oleh adanya hubungan antara konsentrasi ekstrak dan respon ekstrak. Respon terhadap konsentrasi ekstrak yang rendah biasanya akan meningkat berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi. Setelah didapat konsentrasi dengan respon maksimal, peningkatan konsentrasi tidak lagi menimbulkan respon, namun respon yang dihasilkan bahkan turun. Biasanya hubungan ini digambarkan dalam kurva *quantal dose-effect*. Respon terhadap konsentrasi ekstrak dipengaruhi juga oleh distribusi ekstrak di dalam jaringan yang dipengaruhi oleh afinitas (kekuatan penggabungan) terhadap reseptor di jaringan dan efek pengikatan dengan protein. Apabila konsentrasi melebihi jumlah reseptor yang ada, maka jumlah pengikatan dengan reseptor akan semakin berkurang, sehingga efek terapeutik yang didapat tidak dapat maksimal. Kadar ekstrak yang terlalu tinggi di jaringan juga akan menyebabkan toksisitas (Katzung, 2001).

Hasil *post hoc tukey* ekspresi VEGF pada kelompok ekstrak daun cincau hijau konsentrasi 60% berbeda signifikan dengan kelompok *normal saline* 0,9%. Hal ini mungkin disebabkan oleh tidak adanya reaksi hipersensitivitas dari sodium klorida. *Normal saline* 0,9% aman digunakan untuk kondisi apapun, sebab sodium klorida atau natrium klorida mempunyai Na dan Cl yang sama seperti plasma. Larutan ini tidak mempengaruhi sel darah merah, melindungi granulasi jaringan dari kondisi kering, menjaga kelembaban sekitar luka dan membantu luka menjalani proses penyembuhan (Laksono, 2009). Selain itu normal saline banyak direkomendasikan untuk irigasi dan solusi pembalut luka, seperti yang diketahui cocok dengan jaringan manusia, serta tidak menimbulkan kerusakan jaringan baru dan tidak mempengaruhi fungsi fibroblast dan keratinosit dalam penyembuhan luka (Salami *et al*, 2006).

Penelitian ini terjadi peningkatan jumlah ekspresi VEGF pada kelompok perlakuan ekstrak etanol daun cincau hijau konsentrasi 40% dan 50%, tetapi pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi 60% terjadi penurunan jumlah ekspresi VEGF, sedangkan pada konsentrasi 50% masih lebih tinggi dari konsentrasi 60%. Penurunan jumlah ekspresi VEGF pada konsentrasi 60% mungkin disebabkan oleh adanya hubungan antara konsentrasi dengan respon ekstrak. Respon terhadap konsentrasi ekstrak yang rendah biasanya akan meningkat berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi. Setelah didapat konsentrasi dengan respon maksimal, peningkatan konsentrasi tidak lagi menimbulkan respon, namun respon yang dihasilkan bahkan turun. Disisi lain juga disebabkan oleh proses pengeringan pada proses ekstraksi daun cincau hijau. Proses ekstraksi daun cincau hijau jika melebihi suhu 60°C dapat menyebabkan komponen pembentuk gel (*pectin*) daun cincau mengalami kerusakan, sehingga ekstrak tidak mampu memberikan efek *autolysis debridement* pada luka (Katzung, 2001 ; Rahayu *et al*, 2013).

Hasil uji *One Way ANOVA* ekspresi VEGF menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok yang dirawat menggunakan ekstrak daun cincau hijau dengan *Silver sulfadiazine* dan hidrogel terhadap ekspresi VEGF. Hal tersebut berarti *Silver sulfadiazine*, hidrogel dan ekstrak daun cincau hijau memiliki efek yang sama bagus dalam meningkatkan ekspresi VEGF. *Silver sulfadiazine* merupakan standart perawatan topikal luka bakar yang paling sering digunakan di pusat-pusat perawatan luka bakar (Schwartz, *et al*, 1999). *Silver sulfadiazine* merupakan golongan sulfa untuk pencegahan dan *treatment* terhadap infeksi fungi dan bakteri pada luka bakar derajat II dan III. *Silver sulfadiazine* juga merupakan agen bakterisida topikal yang efektif melawan

bakteri gram positif dan negatif sebaik pada fungi (Vincy, 2004). *Silver sulfadiazine* memiliki kemampuan penetrasi eskar terbatas (Schwartz *et al*, 1999).

Hidrogel adalah salah satu jenis makromolekul polimer hidrofilik yang berbentuk jaringan berikatan silang, mempunyai kemampuan mengembang dalam air (*swelling*), serta memiliki daya diffusi air yang tinggi. Hidrogel juga permeabel terhadap oksigen dan uap air (Erizal, 2008 ; Edwards, 2010). Hidrogel mampu mempertahankan bentuk fisik mereka karena hidrogel dapat menyerap cairan secara stabil, *macrostructure cross-linked*. Hidrogel juga mudah digunakan, nyaman dan *cost effective* karena kandungan air yang tinggi sehingga cocok untuk perawatan luka kering mampu rehidrasi luka dan memberikan autolisis (Edwards, 2010).

Hasil uji regresi linier berganda didapatkan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0.727. Hal ini dapat diartikan bahwa kontribusi perawatan menggunakan ekstrak etanol daun cincau hijau dalam meningkatkan ekspresi VEGF sebesar 72,7% sedangkan sisanya 22,8% dipengaruhi oleh faktor lain selain dari besarnya konsentrasi ekstrak daun cincau. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak daun cincau hijau sangat bagus digunakan untuk peningkatan ekspresi VEGF dalam penyembuhan luka, sebab selain flavonoid dan saponin, daun cincau hijau juga memiliki komponen polisakarida *pectin* yang mampu berikatan dengan air dan membentuk gel cincau sehingga dapat memfasilitasi *auto-debridement* melalui peningkatan kerja neutrofil dan makrofag untuk memfagosit bakteri dan mengeluarkan sel-sel debris pada luka (Rahayu *et al*, 2013). Komponen lain yang dimiliki oleh daun cincau hijau yaitu vitamin C yang mampu membantu dalam pembentukan kolagen, selain itu dapat meningkatkan

fungsi neutrofil, angiogenesis dan berfungsi sebagai antioksidan. Komponen lain yang dimiliki oleh ekstrak daun cincau hijau yaitu protein. Protein memiliki peranan penting dalam proses neoangiogenesis, proliferasi fibroblas, sintesa kolagen dan remodeling pada luka. Sehingga dengan adanya protein diharapkan dapat meningkatkan proses angiogenesis (Suriadi, 2004). Faktor-faktor lain dalam perawatan luka yang dapat mempengaruhi penyembuhan luka adalah usia, nutrisi dan obat-obatan. Faktor usia tikus sudah dihomogenkan dan tikus tidak mendapatkan pengobatan apapun sebelum dan selama penelitian. Dalam penelitian ini faktor yang mungkin mempengaruhi penyembuhan luka adalah faktor nutrisi karena peneliti tidak dapat mengontrol nafsu makan tikus yang berbeda-beda, meskipun masing-masing tikus diberi makan dan minum dengan porsi yang sama setiap hari sesuai standart laboratorium. Faktor nutrisi sangat penting dalam proses penyembuhan luka, karena energi yang diperlukan untuk aktifitas sehari-hari dalam menjalankan fungsi organ dan sistem tubuh tikus berlipat ganda karena luka bakar menyebabkan katabolisme protein. Jika asupan nutrisi tikus berkurang maka dapat mengganggu proses penyembuhan luka (Moenadjat, 2009).

6.2 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini tidak dilakukan pada saat ekspresi VEGF mencapai puncaknya, sehingga masih terdapat data bias. Penelitian ini juga belum dilakukan studi eksplorasi pada dosis lebih rendah dari konsentrasi 40%. Peneliti juga tidak dapat mengendalikan sampel yang over aktivitas seperti, banyaknya balutan yang lepas setelah dilakukan perawatan luka yang diamati keesokan harinya dan garukan maupun gigitan yang dilakukan oleh tikus. Hal ini dapat menyebabkan perlukaan baru dan tidak dapat melindungi luka dari

mikroorganisme serta tidak dapat mempertahankan kelembaban yang tinggi diantara luka dan balutan.

6.3 Implikasi Penelitian

6.3.1 Teori

Hasil penelitian ini bisa digunakan sebagai dasar pengetahuan untuk memahami efek dan manfaat penggunaan ekstrak etanol daun cincau hijau (*Cyclea barbata Miers*) terhadap proses penyembuhan luka bakar derajat II B.

6.3.2 Praktik Keperawatan

Penanganan luka bakar derajat II B menggunakan ekstrak etanol daun cincau hijau dapat dijadikan sebagai terobosan baru di dunia keperawatan dalam pemberian intervensi keperawatan dan juga lebih *cost effective* artinya digunakan dan dijangkau untuk semua kalangan. Hasil penelitian pemberian ekstrak daun cincau hijau (*Cyclea barbata Miers*) terbukti secara efektif dapat meningkatkan ekspresi VEGF dalam penyembuhan luka sehingga dapat menjadi alternatif *treatment* untuk perawatan luka bakar derajat II B dan juga lebih ekonomis.