

## BAB VI

### PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan jumlah makrofag pada proses penyembuhan luka pada mukosa labial tikus yang di induksi termal tanpa diberi pengobatan dengan yang diaplikasikan gel ekstrak cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) konsentrasi 100% secara topikal pada hari ke-3, ke-5, dan ke-7. Selanjutnya penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh gel ekstrak cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) terhadap perubahan jumlah makrofag pada proses penyembuhan ulkus traumatik pada mukosa labial tikus putih (*Rattus novergicus*). Pada penelitian ini, jumlah makrofag yang dihitung adalah pada hari ketiga, kelima, dan ketujuh sehingga dapat diketahui perbedaan antara masing-masing kelompok dan untuk melihat adanya pengaruh pemberian gel ekstrak cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) terhadap proses penyembuhan luka.

Dari hasil uji *one way Anova* dapat diketahui rata-rata jumlah makrofag pada kelompok kontrol negatif dan perlakuan memiliki perbedaan. Pada kelompok perlakuan, rata-rata jumlah makrofag lebih rendah dari kelompok kontrol negatif. Jumlah makrofag terbanyak pada kelompok kontrol negatif pada hari ke-5 pasca ulserasi kemudian mengalami penurunan pada hari ke-7. Hal ini sesuai dengan pernyataan Guyton (2008), bahwa makrofag dan limfosit akan muncul bersamaan dan memiliki jumlah bermakna pada hari kelima. Sedangkan jumlah makrofag terbanyak pada hari ke-3 dan semakin menurun pada hari ke-7. Hal ini menandakan bahwa pada kelompok perlakuan proses penyembuhan luka berjalan lebih cepat dibandingkan kelompok kontrol negatif karena pemberian gel ekstrak cacing tanah (*Pheretima aspergillum*).

Jumlah makrofag pada kelompok perlakuan memiliki rata-rata yang lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif sejak hari ketiga. Hal tersebut dikarenakan pada kelompok kontrol negatif pasca ulserasi tidak diberi gel ekstrak cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) sehingga proses peradangan tidak ditekan yang menyebabkan jumlah makrofag lebih tinggi dibanding kelompok perlakuan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ni Y, dkk (2004) bahwa apabila terjadi peradangan kemudian diberikan suatu bahan tertentu maka akan mengurangi keparahan reaksi inflamasi sehingga proses penyembuhan berlangsung lebih cepat.

Flavonoid merupakan salah satu unsur di dalam polifenol yang terkandung dalam ekstrak cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) berfungsi sebagai antiinflamasi yakni berperan penting dalam menjaga permeabilitas serta meningkatkan resistensi pembuluh darah kapiler. Flavonoid mempengaruhi endotelium mikrovaskular untuk mengurangi terjadinya hiperpermeabilitas dan edema. Mekanisme flavonoid dalam menghambat terjadinya inflamasi melalui dua cara yaitu menghambat asam arakhidonat, sekresi enzim lisosom dari sel endothelial, dan menghambat fase proliferasi dan eksudasi dari proses inflamasi. Terhambatnya pelepasan asam arakhidonat menyebabkan substrat arakhidonat pada jalur siklooksigenase dan lipooksigenase berkurang sehingga akan menekan jumlah prostaglandin, tromboksan, prostasiklin, endoperoksida, asam hidroksatetraienoat, dan leukotrin (Padmawinata K, 1995). Penekanan jumlah tersebut mempengaruhi migrasi sel-sel inflamasi (Sabir, 2003).

Menurut Chang et al (2011b) senyawa yang terkandung dalam gel ekstrak cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) mampu meningkatkan EGF dan FGF. Makrofag yang teraktivasi oleh set T CD4<sup>+</sup>, cedera fisik, sitotoksis ataupun

keberadaan partikel asing selanjutnya akan mampu menghasilkan berbagai *growth factor* seperti EGF dan FGF yang berfungsi menstimulasi dan meningkatkan proliferasi sel fibroblas yang nantinya akan mensintesis serat-serat kolagen sehingga proses penyembuhan berjalan lebih cepat. Jumlah makrofag yang menurun pada hari ke-5 dan ke-7 tidak berhubungan dengan aktivasinya dalam pengeluaran sitokin, sehingga jumlah makrofag yang meningkat belum tentu aktivasinya lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah makrofag yang menurun. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Nitawati dkk (2014), bahwa untuk melihat aktivasi dari sel makrofag dipengaruhi oleh berbagai hal dan prosedurnya menggunakan pewarnaan imunohistokimia. Jadi dikarenakan makrofag teraktivasi lebih awal untuk menjalankan tugasnya dalam proses inflamasi, maka peradangan berjalan lebih singkat sehingga proses *wound healing* berjalan lebih cepat.

Berdasarkan uji *Post Hoc Tukey* yang telah dilakukan untuk mengetahui kelompok yang berbeda secara signifikan sebagai uji lanjutan *one way Anova*, didapatkan rata-rata jumlah makrofag kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan hari ke-5 berbeda secara signifikan. Jumlah makrofag kelompok perlakuan mengalami penurunan mulai hari ke-3 yang didukung gambaran klinis gambaran pus yang terlihat pada P3 (lihat gambar 5.8) lebih sedikit dari K3 (lihat gambar 5.2) dan bentukan ulkus K3 lebih merah dan lebih mudah berdarah. Jumlah makrofag yang berbeda secara bermakna dengan kontrol negatif pada hari ke-5 ini menandakan daerah luka pada kelompok perlakuan sudah memasuki fase proliferasi dalam tahap penyembuhan luka. Gambaran makroskopis mukosa labial pasca ulserasi pada kelompok perlakuan (lihat gambar 5.10) terlihat pus mulai berkurang, ulkus yang berwarna sangat merah

menjadi lebih pucat, sedangkan gambaran makroskopis K5 (lihat gambar 5.4) masih cukup banyak pus yang keluar pada daerah luka dan ulkus masih berwarna kemerahan. Rata-rata jumlah makrofag kelompok kontrol negatif yang meningkat pada hari ke-5 dibandingkan kelompok perlakuan merupakan suatu respon imun lokal yang ditandai dengan masih adanya partikel asing seperti mikroba penyebab infeksi, sehingga menunjukkan antigen masih mendominasi daerah ulser pada kelompok kontrol negatif, sehingga tubuh akan merespon dengan keluarnya sel T CD4<sup>+</sup> yang selanjutnya akan mengaktifkan makrofag (Guyton and Hall, 2008).

Uji korelasi *Pearson* dilakukan untuk mengetahui hubungan antara lama pemberian ekstrak cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) dengan jumlah makrofag pada kelompok perlakuan menunjukkan hubungan yang kuat. Rata-rata jumlah makrofag pada kelompok perlakuan hari ke-3 kemudian menurun pada hari ke-5 dan ke-7 cukup signifikan, didukung dengan gambaran makroskopis pada kelompok perlakuan yang diaplikasikan gel ekstrak cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) semakin lama menunjukkan perbaikan jaringan di daerah luka. Berdasarkan pemeriksaan klinis intraoral pada P7 (lihat gambar 5.12), ulkus telah hilang dan jaringan mukosa labial yang diulserasi hampir kembali seperti semula walaupun masih tampak kemerahan. Sedangkan pada K7 (lihat gambar 5.6) ulkus yang berwarna putih masih terlihat pada beberapa hewan coba dan masih terdapat pus. Hal ini dikarenakan pemberian gel ekstrak cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) di kelompok perlakuan mampu mempercepat aktivasi makrofag sehingga segera setelah terjadinya luka, makrofag teraktivasi lalu mengeluarkan *growth factor* sehingga mempercepat pembentukan jaringan granulasi dan reepitelisasi yang menandai proses

penyembuhan luka masuk ke tahap selanjutnya. Proses tersebut sesuai dengan pernyataan Cookbill (2002), bahwa pada penyembuhan luka jumlah makrofag yang ada dengan perlakuan yang sama akan mengalami penurunan dan memasuki fase penyembuhan berikutnya.

Penurunan rata-rata jumlah makrofag pada kelompok perlakuan yang diaplikasikan gel ekstrak cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) memiliki komponen bioaktif yaitu polifenol dan *G-90 glycolipoprotein*. Komponen polifenol pada cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) dapat mempercepat aktivasi makrofag sebagai respon imun sekaligus salah satu sel radang dalam proses penyembuhan luka (Chang et al, 2011b; Mardiaty NPJ dkk, 2013). Setelah makrofag teraktivasi, ia mampu mengeluarkan protein (kemokin), lisozim, komplemen, interferon, sitokin (*growth factor*) yang semuanya bertugas untuk pertahanan spesifik dan non spesifik. *Growth factor* yang berperan penting untuk proses proliferasi dan remodeling dalam *wound healing* salah satunya adalah *Transforming Growth Factor* (TGF- $\beta$ ) yang berfungsi sebagai pengontrol aktivitas sel yakni dapat memicu serta menghambat fungsi dan proliferasi dari sel NK, limfosit T, fibroblas, menghambat regulasi IFN- $\gamma$ , TNF- $\gamma$ , dan menghambat pengeluaran IL-1 (Soeroso, 2007; Mitchell dan Cotran, 2010).

Produk biologis berupa *growth factor* lain yang dikeluarkan makrofag antara lain adalah *Fibroblas Growth Factor* (FGF) dan *Epidermal Growth Factor* (EGF) yang berfungsi meningkatkan proliferasi fibroblas yang selanjutnya dapat meningkatkan sintesa serat-serat kolagen, *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) berfungsi dalam proses angiogenesis, *Nitrit oksida* (NO) dan *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) yang berperan dalam memfagosit bakteri (Mitchell dan Cotran, 2010). Komponen lain yang terkandung dalam cacing tanah (*Pheretima*

*aspergillum*) yaitu *G-90 glycolipoprotein* mampu menstimulasi keluarnya EGF dan FGF sehingga mempercepat proliferasi fibroblas untuk regenerasi jaringan sehingga secara tidak langsung dapat mempengaruhi kecepatan penyembuhan luka (Chang et al, 2011b).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat dikatakan bahwa gel ekstrak cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) berpengaruh terhadap perubahan jumlah makrofag serta mampu mempercepat proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih (*Rattus novergicus*). Hal ini menunjukkan bahwa hipotesis penelitian yang telah disusun ditolak.

