

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 jumlah makrofag pada 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*) terbentuk satu hari setelah induksi panas dilakukan. Tampak gambaran lesi dengan dasar berwarna putih kekuningan dan dikelilingi oleh kemerahan. Sesuai dengan pernyataan (Scully, 2006) bahwa ulkus traumatik akut ditandai dengan adanya kerusakan pada mukosa dengan batas tepi eritema dan ditengahnya berwarna putih kekuningan.

Pembuatan ekstrak etanol daun lidah buaya (*Aloe barbadensis miller*) dengan cara dingin yaitu maserasi karena cara pengerjaannya sederhana dan efektifitasnya tinggi untuk dapat memisahkan zat aktif seperti *acemannan*, saponin dan flavonoid yang terkandung dalam daun lidah buaya (*Aloe barbadensis miller*) (Sarker *et al.*, 2006; Saeed *et al.*, 2007). Sedangkan lendir bekicot (*Achatina fulica*) tidak dilakukan ekstraksi dikarenakan jika dilakukan ekstraksi memungkinkan pelarut yang berfungsi menarik zat aktif justru merusak zat aktif seperti *heparan sulfat* yang terkandung dalam lendir bekicot. Selain itu didukung dari penelitian oleh Dewi, 2010 bahwa lendir bekicot tidak dilakukan pengestrakan. Pembuatan campuran ekstrak etanol daun lidah buaya (*Aloe barbadensis miller*) dan lendir bekicot (*Achatina fulica*) diformulasikan dalam bentuk gel dengan menggunakan *gelling agent carbomer 934*, karena *carbomer*

934 memiliki stabilitas dan kompatibilitas yang tinggi dan toksisitas yang rendah (Sudjono, 2012).

Penelitian oleh Sulistiawati, 2011 menyatakan bahwa pengaruh lidah buaya dengan konsentrasi 75% lebih cepat menyembuhkan radang mukosa mulut dibandingkan konsentasi 25% dan 50%. Selain itu, penelitian oleh Firdaus (2012) menyatakan bahwa gel lendir bekicot dengan konsentrasi 20% lebih efektif dalam menyembuhkan luka bakar dibandingkan konsentrasi 5% dan 10%. Sehingga pada penelitian lanjutan disarankan untuk melakukan penelitian campuran ekstrak daun lidah buaya dan lendir bekicot dengan konsentrasi bervariasi, contohnya konsentrasi 75% dan 25%.

Dalam penelitian sebelumnya belum ada yang melakukan pencampuran daun lidah buaya (*Aloe barbadensis miller*) dan lendir bekicot (*Achatina fulica*), sehingga dosis dari gel campuran ekstrak etanol daun lidah buaya (*Aloe barbadensis miller*) dan lendir bekicot (*Achatina fulica*) adalah 100%, dosis tersebut didapatkan melalui trial sebelum melakukan penelitian.

Hasil analisis data uji *oneway ANOVA* dari penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan jumlah makrofag antar kelompok. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian gel campuran ekstrak etanol daun lidah buaya (*Aloe barbadensis miller*) dan lendir bekicot (*Achatina fulica*) terhadap jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa tikus putih (*Rattus norvegicus*). Hal ini sesuai dengan penelitian Saeed *et al* (2007) yang menunjukkan bahwa kandungan *acemannan* pada daun lidah buaya meningkatkan aktivitas makrofag dengan pelepasan *growth factor* yang berpengaruh terhadap penyembuhan radang mukosa mulut tikus putih. Selain itu penelitian Dewi (2011) menunjukkan bahwa *Heparan Sulfat* yang terkandung dalam lendir bekicot berpengaruh terhadap jumlah makrofag pada proses penyembuhan ulser traumatik tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Pada kelompok K(+) memiliki rata-rata jumlah makrofag paling tinggi dibandingkan dengan kelompok K(-) dan P. Hal tersebut dikarenakan *Triamcinolone acetonide* 0,1% merupakan kortikosteroid topikal yang telah diteliti bahwa dapat mempengaruhi makrofag dengan cara menghambat MIF (*Migration Inhibitory Factor*) sehingga makrofag mudah keluar dari jaringan yang dipengaruhinya (Arimbi, 2010). Pada kelompok K(+)₅ dan K(+)₇ terjadi penurunan makrofag dibandingkan dengan hari K(+)₃ hal ini disebabkan karena makrofag mengalami peningkatan pada fase inflamasi, kemudian pada hari ke 5 masuk tahap proliferasi dimana terjadi proliferasi fibroblas dan angiogenesis sehingga terjadi penurunan jumlah makrofag. Kemudian pada hari ke 7 jumlah makrofag semakin menurun karena makrofag mengalami apoptosis dan telah digantikan oleh adanya fibroblas dan angiogenesis yang mendominasi daerah luka (Hardiono, 2012).

Adanya peningkatan jumlah makrofag pada kelompok P₃ dan P₅ dibandingkan kelompok K(-)₃ dan K(-)₅ disebabkan karena pemberian gel campuran ekstrak etanol daun lidah buaya (*Aloe barbadensis miller*) yang mengandung *acemannan*, saponin, flavonoid dan lendir bekicot (*Achatina fulica*) yang mengandung *heparan sulfate* yang dapat meningkatkan agregasi makrofag sehingga pada kelompok P memiliki jumlah makrofag yang lebih banyak dibanding K(-). Terjadi penurunan makrofag pada P₅ dan P₇ dibandingkan P₃. Hal ini dikarenakan kandungan-kandungan tersebut mampu mempercepat aktivasi makrofag segera setelah diberi perlakuan dengan peningkatan jumlah makrofag pada awal fase penyembuhan. Lalu pada hari ke 5 terjadi penurunan jumlah makrofag karena makrofag sudah melaksanakan tugasnya untuk melepaskan sitokin dan *Growth Factor* seperti TGF- β , PDGF dan FGF yang merangsang fibroblas, angiogenesis dan epitelisasi. Kemudian pada hari ke 7

jumlah makrofag semakin menurun yang menandakan fase inflamasi akan berakhir dan tergantikan oleh fibroblas, angiogenesis dan epitelisasi.

Pada kelompok K(-)3 dan K(-)5 memiliki jumlah makrofag paling sedikit dibandingkan kelompok K(+), K(+) 3, K(+) 5 dan P(3), P(5). Jumlah makrofag sedikit pada kelompok K(-) dikarenakan pada K(-) tidak diberikan suatu rangsangan yang dapat meningkatkan aktivitas makrofag sehingga proses penyembuhan pada K(-) dengan cara *self-healing*. Berbeda dengan kelompok K(+) dan P menunjukkan bahwa terjadi peningkatan jumlah makrofag dikarenakan diberikan rangsangan yang berpengaruh terhadap jumlah makrofag. Pada K(-)7 terjadi peningkatan jumlah makrofag dan memiliki jumlah makrofag yang tertinggi dibandingkan kelompok K(-)3 dan K(-)5. Hal ini tidak sesuai dengan pernyataan Guo dan DiPietro (2010) yang menyatakan makrofag mencapai puncak pada hari ke 3. Penelitian yang telah peneliti lakukan menunjukkan terbentuknya abses pada kelompok kontrol negatif. Pada abses, eksudasi yang terbentuk bersifat purulent karena adanya infeksi bakteri yang membentuk pus. Pus tersusun dari air, zat-zat pelarut, PMN yang mati dan jaringan nekrotik sehingga terbentuk penimbunan yang berisi cairan pada daerah tersebut. Sel fibroblas dan makrofag mengelilingi jaringan nekrotik. Infeksi tersebut dikarenakan adanya bakteri karena adanya ulkus yang tidak dirawat, selain itu faktor hormon dan sistemik juga dapat memperparah timbulnya abses tersebut (Balaji, 2007). Sehingga pada kelompok K(-)7 mengalami peningkatan jumlah makrofag. Peningkatan tersebut 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 (Guyton & Hall, 2008).

Terjadi penurunan rata-rata jumlah makrofag yang bermakna pada kelompok P7 dibandingkan dengan P5. Hal ini dikarenakan adanya peran TGF- β sebagai inhibitor. TGF- β mempunyai dua dampak terhadap proliferasi sel, yaitu

inhibitor dan stimulasi (Sporn, 2007). Jika makrofag telah mengalami peningkatan dan telah melaksanakan tugasnya untuk fagositosis dan pengeluaran *growth factor*, adanya makrofag tidak diperlukan lagi sehingga TGF- β dapat bersifat sebagai inhibitor sehingga menekan laju makrofag dan makrofag mengalami apoptosis.

Pada kelompok P5 memiliki perbedaan jumlah makrofag yang tidak bermakna dengan kelompok K(+). Hal ini dikarenakan proses inflamasi pada kelompok P lebih cepat dibandingkan dengan kelompok K(+). Sehingga pada kelompok P makrofag lebih cepat untuk memfagositosis dan mengeluarkan *growth factor* sehingga pembentukan jaringan granulasi berupa fibroblas, angiogenesis dan epitelisasi lebih cepat.

Uji korelasi Pearson dilakukan untuk mengetahui hubungan lamanya pemberian gel campuran ekstrak etanol daun lidah buaya (*Aloe barbadensis miller*) dan lendir bekicot (*Achatina fulica*) pada kelompok perlakuan menunjukkan hubungan yang kuat. Pada kelompok P pada hari ke 3, menuju hari ke 5 dan ke 7 menunjukkan bahwa jumlah makrofag semakin menurun hal ini disebabkan oleh karena kandungan *acemannan*, saponin dan flavonoid pada daun lidah buaya dan *heparan sulfat* pada lendir bekicot dapat meningkatkan agregasi makrofag segera setelah diberi perlakuan sehingga makrofag mengalami peningkatan pada fase inflamasi dan mengalami penurunan pada fase penyembuhan.

Kandungan *Acemannan*, saponin dan flavonoid dalam daun lidah buaya merangsang makrofag segera setelah diberikan perlakuan. *Acemannan* mengaktivasi makrofag dengan meningkatkan aktivasi *Tumor Necrotizing Factor alpha* (TNF- α) dan *interferon- γ* (INF- γ). Selain itu terdapat kandungan lain yaitu saponin dan flavonoid. Saponin dapat meningkatkan aktivitas makrofag menuju daerah luka dan fungsi saponin berkaitan erat dengan aktivasi TGF- β yang

berpengaruh terhadap proliferasi fibroblas, angiogenesis dan epitelisasi. Flavonoid mampu berperan sebagai imunostimulan yang dapat meningkatkan aktivitas metabolisme di dalam sel makrofag sehingga metabolisme di dalam sel akan meningkatkan enzim-enzim dan bahan lain yang berperan dalam fagositosis sehingga kemampuan fagositosis semakin meningkat (Saeed *et al.*, 2007). Kandungan-kandungan tersebut dapat meningkatkan aktivitas makrofag pada fase inflamasi. Lalu pada hari ke 5 makrofag mengalami penurunan dengan melepaskan TGF- α , EGF, PDGF, TGF- β , FGF dan VEGF yang akan merekrut fibroblas, angiogenesis, keratosit dan sel endotel untuk memperbaiki jaringan. Lalu pada hari ke 7 jumlah makrofag semakin menurun dan didominasi oleh fibroblas, angiogenesis, keratosit dan sel endotel (Setianingtyas, 2012).

Selain kandungan yang terdapat pada daun lidah buaya, terdapat kandungan pada lendir bekicot yaitu *heparan sulfat* yang berfungsi sebagai pengikat dan *reservoir* (penyimpanan) bagi faktor pertumbuhan fibroblas dasar (BFGF) yang disekresikan ke dalam ECM. ECM dapat melepaskan bFGF yang akan merangsang rekrutmen sel radang yaitu limfosit. Limfosit melepaskan limfokin *interferon γ (IFN- γ)* yang merangsang agregasi makrofag. Lalu makrofag menghasilkan *Nitric Oxide (NO)* dan *Reactive Oxygen Spesies (ROS)* yang berperan dalam fagositosis (Dewi, 2010). Lalu terjadi penurunan jumlah makrofag pada hari ke 5 karena adanya *growth factor (VEGF)* yang menstimulasi proses angiogenesis. Kemudian pada hari ke 7 jumlah makrofag semakin menurun karena makrofag mengalami apoptosis dan tergantikan oleh angiogenesis yang mengalami peningkatan. Sehingga dapat mempercepat penyembuhan ulkus karena mendapat suplai nutrisi yang cukup untuk berproliferasi.

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat dikatakan bahwa gel campuran ekstrak etanol daun lidah buaya (*Aloe barbadensis miller*) dan lendir bekicot

(*Achatina fulica*) berpengaruh terhadap jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih (*Rattus norvegicus*). Hal ini menunjukkan bahwa hipotesis penelitian yang telah disusun dapat diterima.

