

BAB 6

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini aplikasi gel ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis*) dengan konsentrasi 20% diharapkan dapat menurunkan jumlah sel neutrofil sehingga dapat mempercepat penyembuhan inflamasi akut pasca gingivektomi tikus putih (*Rattus norvegicus*). Dalam penelitian digunakan tikus percobaan sejumlah 24 ekor tikus putih jantan yang dibagi dalam 2 kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol negatif (K) dan Kelompok perlakuan gel 20% (P) dengan 3 *time series*. Hewan coba diberikan perlakuan gingivektomi pada regio anterior mandibula dan diaplikasikan gel ekstrak daun sukun. Prosedur gingivektomi pada gingiva tikus dilakukan menggunakan bur *handpiece low speed* nomor ½. Tindakan gingivektomi dilakukan dengan desain menyerupai persegi namun tidak menyudut tepinya. Luka dibuat tidak menyudut dengan tujuan menghindari terbentuknya *flabby tissue* yang dapat mempengaruhi penyembuhan luka.

Pembuatan ekstrak daun sukun dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi. Metode maserasi dipilih karena metode ini sederhana dan yang paling mudah digunakan, selain itu dikhawatirkan senyawa yang terkandung dalam daun sukun merupakan senyawa yang tidak tahan terhadap panas. Metode maserasi dilakukan dengan menggunakan serbuk daun sukun yang akan diekstrak dengan etanol 96%. Pelarut yang sering digunakan untuk pelarut flavonoid, saponin dan tanin adalah etanol karena zat ini bersifat polar dan sesuai dengan sifat flavonoid, saponin dan tanin yang berafinitas baik dengan senyawa polar, dan memiliki bioavailabilitas yang lebih baik pada tubuh (Taroreh, 2015). Metode ini memiliki beberapa keuntungan yaitu terhindarnya kerusakan

senyawa-senyawa yang termolabil (zat yang mudah rusak akibat proses pemanasan), ikut terlarutnya metabolit sekunder dalam sitoplasma sel karena pecahnya dinding sel ketika maserasi terjadi sehingga akan didapatkan ekstrak yang maksimal namun tetap bergantung pada jenis pelarut yang digunakan, dan tidak memerlukan alat khusus seperti metode soxhletasi (Mukhriani, 2014).

Sediaan gel digunakan karena memiliki beberapa keuntungan yaitu, mudah merata jika dioleskan pada kulit tanpa penekanan, memberi sensasi dingin, tidak membekas di kulit, tidak lengket, viskositas gel tidak mengalami perubahan selama penyimpanan, mampu berpenetrasi lebih jauh daripada bentuk sediaan krim dan pelepasan substansi obat yang baik (Ridwan, 2012).

Pembuatan gel ekstrak daun sukun dalam penelitian ini menggunakan bahan-bahan carbomer, propylene glycol dan methyl paraben yang memiliki biokompatibilitas yang baik, sehingga gel ekstrak daun sukun yang digunakan dalam penelitian ini aman digunakan di dalam rongga mulut. Carbomer adalah suatu bioadhesive material, amulsifying agent, amulsion stabilize, dan stabilizing agent. Carbomer dengan tingkat residual ethyl acetat yang rendah aman digunakan untuk formulasi oral. Methyl paraben adalah suatu bahan pengawet yang baik untuk mempertahankan gel. Methyl paraben juga tidak menimbulkan reaksi incompabilitas dengan zat aktif dalam ekstrak daun sukun. Propylene glycol sebagai *humectants* (bahan penyerap air dari udara dan menjaga kelembaban biasanya digunakan untuk menjaga pasta gigi tetap lembab), bahan pelarut, *plasticizer*, agen stabilitas, dan sebagai pengawet. Tergolong *non toxic matherial*, dan biasanya digunakan pada makanan dan kosmetik. Propylen glicol juga tidak menimbulkan reaksi incompabilitas dengan zat aktif dalam ekstrak daun sukun (Johnson dan Steer, 2006).

Pada penelitian ini uji statistik *One Way Anova* menunjukkan adanya pengaruh jumlah neutrofil antar kelompok perlakuan yang diberikan aplikasi gel ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dengan kelompok kontrol yaitu kelompok yang tidak diberi aplikasi gel ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*). Perbedaan yang bermakna menunjukkan kesesuaian dengan penelitian Ebadi (2001) dan penelitian Miller (2001), bahwa senyawa flavonoid, saponin dilaporkan mampu menghambat sintesis eikosanoid sehingga bersifat antiradang. Penghambatan ini disebabkan penurunan kandungan asam arakhidonat pada jaringan membran fosfolipid sel yang mengakibatkan terhambatnya pelepasan sejumlah mediator inflamasi seperti prostaglandin, leukotrin dan tromboksan. Asam arakhidonat dimetabolisme melalui dua jalur yaitu jalur siklooksigenase menghasilkan prostaglandin dan tromboksan, sedangkan pada jalur lipooksigenase menghasilkan empat leukotrin yaitu LTB₄, LTC₄, LTD₄, dan LTE₄. Prostaglandin menunjukkan efek fisiologis seperti peningkatan permeabilitas vaskuler, dilatasi vaskuler, dan induksi kemotaksis neutrofil. Leukotrin merupakan zat kemotaktik poten untuk neutrofil. Aplikasi gel ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) terbukti mampu menurunkan jumlah neutrofil serta mempercepat penyembuhan inflamasi akut pasca gingivektomi pada mukosa oral tikus putih (*Rattus norvegicus*).

6.1 Perbandingan Jumlah Neutrofil pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Pasca Gingivektomi Tanpa Pemberian Gel Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)

Menurut hasil penelitian didapatkan data bahwa rata – rata jumlah neutrofil pada kelompok K3 paling sedikit dibandingkan pada kelompok K1 dan K2 yaitu sebesar 5,4. jumlah rata – rata neutrofil paling banyak adalah pada kelompok K1

yaitu sebesar 22,5. Kelompok K1 signifikan dibanding kelompok K2 dan kelompok K3, hal ini disebabkan jumlah rata-rata neutrofil pada hari 1 lebih banyak sesuai dengan pernyataan Parslow TG et al (2003) bahwa beberapa jam setelah dimulainya radang akut, sejumlah neutrofil dalam darah mulai menginvasi area yang meradang. Hal ini menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah neutrofil yang tersedia pada area jaringan yang meradang.

Peningkatan hari menunjukkan penurunan jumlah sel neutrofil kelompok kontrol, hal ini sesuai dengan teori bahwa sel neutrofil aktif memfagosit di daerah sekitar luka sesaat setelah terjadi injury dan bertahan hingga 24-48 jam, kemudian sel neutrofil akan melakukan apoptosis dan digantikan oleh sel monosit (Jaeschke, 2006). Telah diketahui bahwa didalam tubuh normal terdapat neutrofil yang kemudian akan meningkat seiring dengan bertambahnya paparan bakteri, agen fisik, agen kimia, jaringan nekrotik dan reaksi imunologi. Jumlah neutrofil yang meningkat merupakan salah satu indikator yang menunjukkan adanya inflamasi akut didalam tubuh. Inflamasi akut adalah radang yang berlangsung relatif singkat, dari beberapa menit sampai beberapa hari, dan ditandai dengan perubahan vaskular, eksudasi cairan dan protein plasma serta akumulasi neutrofil yang menonjol (Sunatmo, 2007).

6.2 Perbandingan Jumlah Neutrofil pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Pasca Gingivektomi dengan Pemberian Gel Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Konsentrasi 20%

Menurut hasil penelitian didapatkan data bahwa rata – rata jumlah neutrofil pada kelompok P3 lebih sedikit dibandingkan pada kelompok P2 sebesar 1,3. Jumlah neutrofil rata - rata paling tinggi yakni pada kelompok P1 sebesar 13,95. Kelompok P1 signifikan dibanding kelompok P2 dan kelompok P3. Setiap

peningkatan hari menunjukkan penurunan neutrofil kelompok perlakuan hal ini sesuai dengan teori bahwa pada hari ke-3 neutrofil sewajarnya mengalami penurunan jumlah, karena apabila neutrofil terus menerus meningkat tajam, akan menyebabkan infeksi dan inflamasi berkepanjangan sehingga penyembuhan luka berlangsung lebih lama. Hal ini justru tidak baik bagi kesembuhan luka (Jaeschke, 2006). Namun flavonoid, saponin dan tanin yang terkandung dalam daun sukun (*Artocarpus altilis*) juga membantu mempercepat penyembuhan sehingga terjadi penurunan neutrofil yang signifikan akibat penghambatan aktivasi asam arakhidonat.

Menurut penelitian Maharani dkk pada tahun 2009 kandungan utama daun sukun yaitu flavonoid, saponin, tanin. Flavonoid untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektifitas vitamin c, anti inflamasi, mencegah keropos tulang, dan sebagai antibiotik (Waji dan Sugrani, 2009). Saponin berperan sebagai antibakteri dan sebagai penghilang rasa sakit (wijaya, 2010) serta merangsang pembentukan sel-sel baru (Priosoeryanto dkk., 2006). Tanin bersifat astringensia dan antimikroba, sehingga mengurangi peradangan. Kandungan utama flavonoid, saponin dan tanin pada daun sukun inilah yang dapat menghambat pelepasan mediator proinflamasi, sehingga dapat menurunkan vasodilatasi dan permeabilitas pembuluh darah, serta dapat menurunkan jumlah sel neutrofil pada inflamasi akut. Penelitian daun sukun (*Artocarpus altilis*) yang mengandung flavonoid, saponin dan tanin menunjukkan hasil yang sesuai dengan penelitian sebelumnya.

6.3 Perbandingan Jumlah Neutrofil Antara Kelompok Kontrol dengan Kelompok Perlakuan

Kelompok hari pertama, yaitu antara kelompok K1 dan P1 menunjukkan

perbedaan yang bermakna. Jumlah rata – rata neutrofil P1 lebih sedikit daripada K1 dan signifikan. Hal ini terjadi karena pada hari pertama masih terjadi fase inflamasi yaitu dominasi leukosit PMN ke area luka untuk fagositosis, sehingga akumulasi sel neutrofil masih sangat banyak.

Kelompok hari ketiga, yaitu antara kelompok K2 dan P2 menunjukkan perbedaan yang bermakna. Jumlah rata – rata neutrofil P2 lebih sedikit daripada K2 dan signifikan, hal ini menunjukkan bahwa aplikasi gel ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) berpengaruh terhadap penurunan jumlah sel neutrofil. Berdasarkan teori, pada hari ketiga terjadi fase proliferasi yaitu angiogenesis, proliferasi fibroblas, penurunan PMN serta peningkatan limfosit dan makrofag (telah terbentuk jaringan granulasi) sehingga jumlah neutrofil yang terbentuk jauh lebih sedikit dibandingkan hari pertama (Sinno dan Satya Prakash, 2013).

Kelompok hari ketujuh, yakni antara kelompok K3 dan P3 juga menunjukkan perbedaan yang bermakna. Jumlah rata – rata neutrofil P3 lebih sedikit daripada K3 dan signifikan, hal ini menunjukkan bahwa aplikasi gel ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) berpengaruh terhadap penurunan jumlah sel neutrofil. Berdasarkan teori, pada hari ketujuh proses proliferasi telah membentuk epitel gingiva, disertai peningkatan angiogenesis dan proliferasi fibroblas, serta mulai terjadi fase maturasi jaringan (Kumar V et al., 2010). Apabila dibandingkan dengan hari pertama dan ketiga jumlah neutrofil lebih sedikit pada hari ketujuh dikarenakan sel neutrofil aktif hanya akan bertahan hingga 24-48 jam, kemudian sel neutrofil akan melakukan apoptosis dan digantikan oleh sel monosit (Jaeschke, 2006).

Berdasarkan hasil pengamatan dan analisa data, didapatkan hasil bahwa jumlah neutrofil pada kelompok kontrol negatif pada hari pertama menunjukkan

jumlah neutrofil paling tinggi dan yang paling terendah adalah kelompok tikus yang diaplikasikan gel ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) konsentrasi 20% pada hari ketujuh. Perbedaan yang signifikan ditunjukkan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan pada hari 1, 3, 7, hal ini terjadi karena gel ekstrak daun sukun memiliki kandungan saponin, flavonoid dan tanin yang dapat menghambat metabolisme asam arakhidonat yang selanjutnya juga akan menghambat jalur siklooksigenase dan lipooksigenase (Randhawa, 2011). Setelah jalur siklooksigenase terhambat maka prostaglandin juga akan terhambat, demikian juga terhambatnya leukotrien pada jalur lipooksigenase. Prostaglandin merupakan mediator inflamasi dan nyeri yang juga bertindak sebagai vasodilator. Vasodilatasi pembuluh darah ini mengakibatkan peningkatan aliran darah dan peningkatan permeabilitas vaskular yang akan membawa neutrofil ke daerah infeksi atau trauma. Neutrofil kemudian melekat pada dinding endotel pembuluh darah menggunakan molekul adhesi dan selanjutnya akan bermigrasi ke arah jaringan yang meradang (Ricciotti, 2011). Sedangkan pada jalur lipooksigenase terbentuk leukotrin, yang mana akan menghasilkan LTB₄. LTB₄ akan mengaktifasi fagosit, Meningkatkan kemotaksis leukosit PMN sehingga merekrut neutrofil ke daerah kerusakan jaringan. Pada keadaan ini akan terjadi akumulasi neutrofil, di daerah sekitar jejas.

Inflamasi akut merupakan respon awal tubuh dan garis pertahanan pertama dari tubuh terhadap infeksi, trauma, nekrosis jaringan dan benda asing. Neutrofil mempunyai fungsi yang sangat penting saat terjadi inflamasi akut. Neutrofil akan berakumulasi pada pusat luka dan akan langsung teraktivasi. Cairan intraseluler pada neutrofil yang terdiri dari oksidatif dan nonoksidatif dapat diaktifkan secara bersamaan pada saat fagositosis. Meskipun penghancuran

agen infeksi terjadi intraseluler, pelepasan molekul sitotoksik kelingkuangan ekstraseluler dapat merusak jaringan tubuh (Wright, 2010). Proses terjadinya inflamasi sebenarnya merupakan salah satu mekanisme pertahanan diri (homeostasis) terhadap trauma, perdarahan, masuknya benda asing kedalam tubuh dalam jangka waktu tertentu, tetapi jika proses ini berlangsung secara terus menerus justru akan merusak jaringan yang sehat (Docke, 2007). Untuk membatasi respon inflamasi yang berlebihan tersebut dibutuhkan obat anti inflamasi (Meliala, 2007)

Keterbatasan penelitian ini yaitu tidak dilakukanya uji kestabilan mengenai lama penyimpanan gel ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*), penyimpanan yang lama mungkin akan mengubah efektivitas dari gel ekstrak ini. Keterbatasan lainnya yaitu tidak dilakukan uji organoleptik mengenai gel ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*), sehingga belum diketahui biokompatibilitas dan toksisitasnya, sehingga perlu dilakukan uji toksisitas apabila akan dilakukan aplikasi secara oral base pada manusia. Uji ini tidak dilakukan mengingat keterbatasan waktu peneliti. Hasil yang didapatkan dari penelitian ini adalah terbukti bahwa gel ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dengan konsentrasi 20% berpengaruh terhadap penurunan jumlah sel neutrofil pada proses penyembuhan luka mukosa oral pasca gingivektomi.