

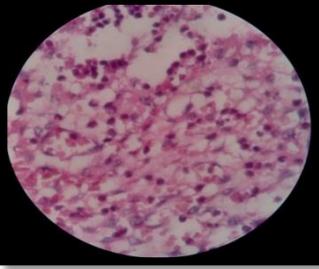
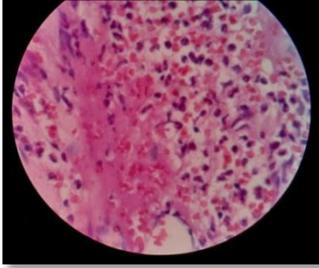
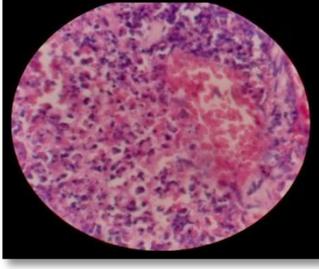
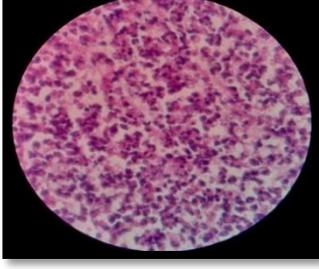
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Dari penelitian yang berjudul Efektifitas Gel Ekstrak Kulit Buah Jengkol (*Pithecellobium lobatum benth*) terhadap Angka Sel Makrofag Pada Proses Penyembuhan Luka Pasca Pencabutan Gigi Marmut (*Cavia Cobaya*) Jantan telah dilakukan pengamatan secara mikroskopis untuk mengetahui angka sel makrofag pada masing-masing kelompok perlakuan. Pengamatan dilakukan pada 10 lokasi di setiap 3 preparat, dari hasil pengamatan 10 lapang pandang pada 5 perlakuan didapatkan hasil rata-rata.

Dari hasil histopatologis dapat dilihat sebagai berikut :

Kelompok	Preparat Perbesaran 100x
I <i>Povidone</i> <i>Iodine</i>	
II Tanpa Perlakuan	
III Gel Ekstrak Kulit Jengkol 1%	
IV Gel Ekstrak Kulit Jengkol 5%	
V Gel Ekstrak Kulit Jengkol 10%	

Berdasarkan kriteria penelitian makrofag dengan menghitung 10 lapang pandang pada perbesaran 100x, rata-rata dari kelima kelompok perlakuan diperoleh data sebagai berikut :

Tabel 1. Data sel makrofag

Kelompok	Hari	Makrofag			Rata-rata
		Preparat 1	Preparat 2	Preparat 3	
I	1	129	132	133	131,3
	3	153	157	148	152,6
	7	186	191	183	186,6
II	1	69	58	60	62,3
	3	100	141	134	125
	7	159	160	145	154,6
III	1	143	147	141	143,6
	3	195	183	187	188,3
	7	209	211	203	207,6
IV	1	149	140	147	145,3
	3	191	195	196	194
	7	205	214	221	213,3
V	1	151	154	160	155
	3	204	212	217	211
	7	259	249	244	250,6

Keterangan:

Kelompok I : Kontrol + (Povidon iodine)

Kelompok II : Kontrol – (Tanpa Perlakuan)

Kelompok III : Gel Ekstrak kulit buah jengkol 1%

Kelompok IV : Gel Ekstrak kulit buah jengkol 5%

Kelompok V : Gel Ekstrak kulit buah jengkol 10%

Berdasarkan tabel 1, menunjukkan sel makrofag yang tertinggi pada kelompok I (kontrol positif *Povidon iodine*) dengan rata-rata sebesar 186,6 pada hari ketujuh, pada kelompok II (kontrol negatif tanpa perlakuan) dengan rata-rata sebesar 154,6 pada hari ketujuh, pada kelompok III (gel ekstrak kulit buah jengkol konsentrasi 1%) dengan rata-rata sebesar 207,6 pada hari ketujuh, pada kelompok IV (Gel ekstrak kulit buah jengkol konsentrasi 5%) dengan rata-rata sebesar 213,3 pada

hari ketujuh, dan pada kelompok V (Gel ekstrak kulit buah jengkol konsentrasi 10%) dengan rata-rata sebesar 250,6. Secara umum dapat dikatakan bahwa hari dekapitulasi ketujuh pada kelima kelompok perlakuan tersebut secara konsisten menunjukkan angka sel makrofag tertinggi pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi marmut (*Cavia cobaya*) jantan, sebaliknya pada hari kesatu secara konsisten menunjukkan angka sel makrofag terendah pada kelima kelompok perlakuan.

Data yang didapat, sebelum dilakukan pengujian statistik terhadap hipotesis penelitian, terlebih dahulu dilakukan pengujian normalitas data *Shapiro Wilk* untuk mengetahui sebaran data tersebut normal atau tidak. Uji normalitas *Shapiro Wilk* karena jumlah sampel pada penelitian ini kurang dari 50, yaitu sebesar 45 sampel. Uji *Shapiro Wilk* data sesuai dengan tabel 2

Tabel 2. Uji Normalitas *Shapiro Wilk*

	kombinasi kelompok perlakuan dan hari ke	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
total angka sel makrofag	kelompok 1	.191	9	.200 [*]	.882	9	.166
	Kelompok 2	.236	9	.158	.851	9	.077
	kelompok 3	.210	9	.200 [*]	.850	9	.074
	Kelompok 4	.254	9	.098	.868	9	.118
	kelompok 5	.194	9	.200 [*]	.893	9	.216

Berdasarkan uji normalitas dengan menggunakan *Shapiro Wilk* diperoleh hasil bahwa sebaran data normal karena diperoleh nilai

$p > 0.05$ pada setiap kelompok perlakuan. Perhitungan data dilanjutkan dengan uji homogenitas. Tujuan uji homogenitas untuk mengetahui apakah setiap kelompok perlakuan memiliki varians yang sama. Syarat untuk melakukan uji parametrik *One Way Anova* telah terpenuhi.

Tabel 3. Uji Homogenitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.007	4	40	.112

Tabel 4. Uji One Way Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	43688.889	4	10922.222	9.195	.000
Within Groups	47511.556	40	1187.789		
Total	91200.444	44			

Berdasarkan hasil uji homogenitas diperoleh data signifikansi sebesar $p = 0,112$ seperti yang ditunjukkan pada tabel 3, hal ini menunjukkan bahwa data yang diperoleh homogen karena nilai $p > 0.05$. Pengujian distribusi dan variansi data didapatkan hasil normal dan variansinya sama, maka data dapat dilakukan pengujian berikutnya dengan menggunakan uji analisis parametrik *One Way Anova* didapatkan nilai signifikansi $p = 0,000$ bahwa data yang diperoleh signifikan karena nilai $p < 0.05$.

Pengujian dengan menggunakan *One Way Anova* hanya dapat menunjukkan ada tidaknya perbedaan efektifitas antara kelompok perlakuan, untuk mengetahui besar perbedaan efektifitas dari setiap kelompok perlakuan maka dilakukan pengujian dengan menggunakan uji *Tukey HSD (Honestly Significant Difference)*.

Tabel 5. Uji Tukey HSD (*Honestly Significant Difference*)

(I) kombinasi kelompok	(J) kombinasi kelompok	Mean Difference		Sig.	95% Confidence Interval	
		(I-J)	Std. Error		Lower Bound	Upper Bound
1	kelompok 2	42.889	16.247	.082	-3.51	89.29
	kelompok 3	-23.000	16.247	.621	-69.40	23.40
	kelompok 4	-27.333	16.247	.456	-73.74	19.07
	kelompok 5	-48.667*	16.247	.036	-95.07	-2.26
2	kelompok 1	-42.889	16.247	.082	-89.29	3.51
	kelompok 3	-65.889*	16.247	.002	-112.29	-19.49
	kelompok 4	-70.222*	16.247	.001	-116.62	-23.82
	kelompok 5	-91.556*	16.247	.000	-137.96	-45.15
3	kelompok 1	23.000	16.247	.621	-23.40	69.40
	kelompok 2	65.889*	16.247	.002	19.49	112.29
	kelompok 4	-4.333	16.247	.999	-50.74	42.07
	kelompok 5	-25.667	16.247	.519	-72.07	20.74
4	kelompok 1	27.333	16.247	.456	-19.07	73.74
	kelompok 2	70.222*	16.247	.001	23.82	116.62
	kelompok 3	4.333	16.247	.999	-42.07	50.74
	kelompok 5	-21.333	16.247	.685	-67.74	25.07
5	kelompok 1	48.667*	16.247	.036	2.26	95.07
	kelompok 2	91.556*	16.247	.000	45.15	137.96
	kelompok 3	25.667	16.247	.519	-20.74	72.07
	kelompok 4	21.333	16.247	.685	-25.07	67.74

Berdasarkan uji *Tukey HSD (Honestly Significant Difference)* yang dilakukan menunjukkan bahwa kelompok yang paling signifikan adalah kelompok perlakuan 5 dengan nilai 91.556 dibandingkan dengan kelompok perlakuan 2.

Berdasarkan data tersebut membuktikan bahwa hipotesis peneliti terbukti benar.

B. Pembahasan

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui efektifitas gel ekstrak kulit buah jengkol 1%, 5%, dan 10% untuk meningkatkan jumlah sel makrofag dalam penyembuhan luka. Penelitian ini menggunakan subyek 45 ekor marmut (*Cavia cobaya*) yang telah diseleksi berdasarkan kriteria inklusi penelitian, yaitu jenis kelamin jantan, umur 2-3 bulan, berat badan 200-400 gram, bulu halus, kondisi sehat dan aktif termasuk dalam kategori dewasa, pada marmut dewasa sudah dapat dilakukan pemeriksaan *bacteria*, *mycoplasma*, *fungi* dan *parasit* (Suryanto, 2012). Semua marmut pada penelitian ini di aklimatisasi selama tujuh hari di Laboratorium Hewan Uji Farmasi Universitas Gadjah Mada dalam kandang yang terkena sinar matahari langsung agar marmut tidak rentan terhadap infeksi, kandang tersebut telah diberi nama sesuai dengan kelompoknya. Dalam satu kandang masing-masing berisi dari sembilan ekor marmut.

Penelitian ini marmut (*Cavia cobaya*) jantan dilakukan anestesi dengan injeksi ketamin yang diencerkan dengan aquades untuk mengurangi rasa sakit. Anestesi dilakukan di pangkal paha. Pencabutan gigi dilakukan dengan Eksavator dan klem yang ditempatkan di sulkus gingival. Gigi digerakkan ke arah labial dan lingual selama beberapa kali gigi kemudian dirotasi atau diputar dalam sumbunya dan klem ditarik

ketika jaringan periodontalnya sudah terlepas seluruhnya. Setelah pencabutan gigi, dilakukan aplikasi dengan gel konsentrasi 1%, 5%, 10 % atau *povidon iodine* sesuai kelompok perlakuan, diaplikasikan menggunakan *cotton bud* 0,1 ml.

Kulit jengkol yang digunakan dalam penelitian adalah kulit yang berwarna cokelat dan bertekstur halus. Pembuatan gel ekstrak kulit buah jengkol, menggunakan bahan ekstrak kulit yang diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 70%. Penggunaan etanol 70% karena etanol memiliki keunggulan sebagai pelarut yang memiliki kemampuan melarutkan ekstrak yang besar. Etanol merupakan pelarut yang bersifat semi polar, sehingga dapat melarutkan senyawa polar maupun non polar. Flavonoid, saponin, dan tanin berdasarkan sifat kepolaran masing-masing dapat tersaring dalam etanol 70% (Ansel, 2008). Dilanjutkan dengan pembuatan gel, bahan yang digunakan dalam pembuatan gel yaitu ekstrak etanol kulit buah jengkol, CMC-Na, dan aquades. Semua gel yang telah jadi dimasukkan kedalam wadah pot dengan diberi label, setelah bahan tersebut homogen diamkan sampai dingin sebelum dicampurkan ekstrak agar kandungan saponin dan flavonoid tidak rusak (Ansel, 2008).

Pada hari pertama semua soket marmut pasca pencabutan gigi diaplikasikan gel 1%, 5%, 10% atau *povidon iodine* sesuai dengan kelompok perlakuan dengan perlakuan dengan menggunakan *cotton bud* sebanyak 0,1 ml yang diukur dengan memasukan gel ke dalam spuit 1ml,

kemudian didiamkan selama satu menit agar gel masuk sedalam soket. Pada hari pertama, tiga ekor marmut dari tiap kelompok perlakuan didekapitulasi tulang rahang. Pada hari kedua sampai hari ketujuh, marmut diaplikasikan gel 1%, 5%, 10% atau *povidon iodine* sesuai dengan kelompok perlakuan. Pada hari ketiga dan hari ketujuh, tiga ekor marmut dari tiap kelompok perlakuan didekapitulasi tulang rahang.

Prosedur untuk mengambil tulang rahang pada marmut dengan melakukan euthanasia menggunakan anestesi kloroform. Marmut yang akan dikorbankan dimasukkan ke dalam toples yang berisi kloroform satu persatu sampai mati kemudian tulang rahang dan jaringan sekitar didekapitulasi, setelah itu difiksasi di dalam larutan formalin 10% untuk menjaga agar struktur jaringan tetap dan tidak berubah. Pembuatan preparat histopatologi dengan menggunakan pewarnaan *Hematoksilin* dan *Eosin (HE)* dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi FK UGM yang selanjutnya diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x.

Penelitian ini didapatkan hasil dari analisis antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dimana hasil dari kelompok perlakuan menunjukkan peningkatan angka makrofag yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol terutama pada gel ekstrak kulit jengkol dengan konsentrasi 10%. Berdasarkan hasil uji anova menunjukkan adanya perbedaan efektifitas, ini dapat dilihat dari hasil signifikansi yang didapatkan yaitu $p = 0.000$ dimana $p < 0.05$. Untuk melihat kelompok perlakuan yang paling efektif dapat dilihat pada uji

Tukey, berdasarkan uji *Tukey HSD (Honestly Significant Difference)* yang dilakukan menunjukkan bahwa kelompok yang paling signifikan adalah kelompok perlakuan 5 dengan nilai 91.556 dibandingkan dengan kelompok perlakuan 2. Sel-sel pada hari ke-3 tersebut umumnya terdiri atas polimorfonuklear (PMN) dan limfosit. Terlihat infiltrasi sel-sel inflamasi akut yang jelas dan makrofag yang mulai bermigrasi ke jaringan luka tersebar bersamaan dengan sel-sel fibroblas. Pada penyembuhan luka, jaringan granulasi mulai terbentuk sejak sekitar hari ke-3 menggantikan matriks bekuan darah. Fibroblas berasal dari sel-sel puncak yang terdapat pada lamina propria kulit, kemudian bermigrasi dan berproliferasi dengan terdapatnya sitokin dan faktor pertumbuhan yang disekresi oleh trombosit dan makrofag saat terjadi luka terutama *transforming growth factor- β* (TGF- β) dan *basic fibroblast growth factor* (bFGF). Sekresi bFGF dari makrofag dan juga dari fibroblas meningkat pada hari ke 7–14 pasca perlukaan (Schultz dkk., 2005). Jaringan makrofag memiliki peran ganda dalam proses penyembuhan. Makrofag memfagositosis dan berpatroli di daerah luka, menelan bakteri, devitalisasi jaringan dan neutrofil. Makrofag juga memproduksi *collagenases* dan *elastase* untuk membantu dalam menghancurkan jaringan *devitalised*. Pada penelitian ini makrofag terlihat jelas pada sediaan hari ke-7. Hal ini disebabkan efek antiinflamasi dari flavonoid dan glikosida dengan menghambat pengeluaran TNF- α dari makrofag yang mencetuskan migrasi sel PMN dan saponin sebagai antibakteri yang

mencegah jejas berulang karena bakteri dapat memperpanjang siklus proinflamasi (Puti dkk., 2013). Peningkatan aktivasi makrofag dapat dilakukan dengan cara pemberian imunostimulan. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Permatasari (2013), yang meneliti efek pemberian jus buah belimbing manis (*Averrhoa carambola L*) terhadap peningkatan jumlah sel makrofag pada soket gigi tikus (*Rattus novergicus*) strain wistar pasca pencabutan. Hasil penelitian diperoleh hasil bahwa pemberian jus buah belimbing dapat meningkatkan jumlah sel makrofag, hal ini disebabkan oleh aktifitas bahan aktif dari buah belimbing yaitu *flavonoid* yang bekerja sebagai imunostimulan. Imunostimulan akan meningkatkan aktivasi sel limfosit T, yang kemudian akan menghasilkan IFN dalam jumlah banyak. IFN inilah yang dapat meningkatkan aktivasi dari sel makrofag, sehingga kemampuan fagositosis dan produksi hormon pertumbuhan meningkat dan proses penyembuhan luka dapat lebih baik.

Beberapa kandungan senyawa kimia aktif dalam kulit jengkol yaitu alkanoid, saponin, flavonoid, tanin, glikosida. Kandungan kulit buah jengkol yang membantu dalam proses penyembuhan luka diantaranya Flavonoid dan Tanin yang memiliki fungsi sebagai anti inflamasi. Dengan adanya beberapa kandungan kulit buah jengkol yang memiliki daya anti inflamasi, akan mempengaruhi produksi sel-sel inflamasi dalam fase penyembuhan luka yaitu fase inflamasi dan fase proliferasi, karena dengan adanya daya anti inflamasi dari kandungan kulit buah

jengkol maka proses inflamasi pada perlukaan pasca pencabutan gigi marmut jantan akan dihambat. Flavonoid menunjukkan aktivitas biologis yang mempengaruhi berbagai jalur metabolisme. Flavonoid merupakan radikal bebas, antioksidan, anti inflamasi, anti alergi, anti kanker, anti *atherosclerotic*, kegiatan anti *aggregational* dan detoksifikasi berguna untuk pencegahan dan pengobatan banyak penyakit (Majewska.M et al, 2011). Flavonoid bisa meningkatkan aktivitas IL-2 dan proliferasi limfosit. Proliferasi limfosit mempengaruhi sel CD4+ dan menyebabkan sel Th1 teraktivasi yang mempengaruhi molekul IFN γ yang dapat mengaktifkan makrofag sehingga mengalami peningkatan metabolik, motilitas dan aktivitas fagositosis secara cepat dan lebih efisien dalam membunuh bakteri atau mikroorganisme patogen sedangkan alkaloid yang mempunyai aktivitas antibakteri dengan menghambat perlekatan protein mikroba ke reseptor polisakarida inang (Ukhrowi, 2011).

Proses penyembuhan luka merupakan proses yang kompleks dan melibatkan interaksi berbagai jenis sel dan mediator-mediator biokimia. Sesaat terjadinya luka gumpalan darah dan debris mengisi celah jaringan yang cedera. Inflamasi awal terjadi setelah dua sampai tiga jam yang ditandai dengan *hyperemia* ringan dan adanya sedikit polymorps (Hermanto & Taufiqurrahman, 2009).

Fase hemostasis dapat terdiri dari awal dan akhir fase, fase awal terjadi perdarahan dan hemostasis dan tahap akhir terjadi koagulasi, samapula halnya dengan proses peradangan (inflamasi). Sementara fase

inflamasi dimulai selama fase hemostasis, komponen awal fase inflamasi didominasi masuknya polimorfonuklear (PMNs) dan kemudian komponen didominasi monosit makrofag. Dalam waktu 6-8 jam pertama, fase selanjutnya dari proses penyembuhan luka yaitu TGF- β memfasilitasi PMN bermigrasi dari pembuluh darah, dimana sel-sel PMN keluar dari pembuluh darah. Sel-sel ini membersihkan luka dan menghapusnya dari debris. PMNs mencapai jumlah maksimal dalam waktu 24-48 jam dan digantikan dengan sel makrofag. Agen *chemotactic* lain yang dilepaskan, termasuk FGF, TGF- β dan TGF- α , PDGF, dan plasma-diaktifkan melengkapi C3a dan C5a (anafilaksis racun). Fase selanjutnya saat radang kronis, monosit keluar dari pembuluh darah menuju daerah luka dan berdiferensiasi menjadi sel makrofag (Mercandetti et al., 2002). Selama 3-5 hari setelah luka, makrofag merupakan sel yang paling dominan dalam proses perbaikan jaringan, serta terjadi puncak perubahan monosit menjadi makrofag kemudian menuju ke daerah luka dalam waktu 5-7 hari (Delavary BM et al., 2011). Makrofag dapat teraktivasi dalam dua model, yakni model klasik (M1) dan alternatif (M2). M1 akan dirangsang oleh kombinasi dari interferon (IFN)- γ (sitokin yang dihasilkan oleh aktivasi Thelper-1 dan NK sel) dan rangsangan pro inflamatori. Makrofag juga memproduksi IL-12 sebagai respons terhadap LPS dan mikroba yang difagosit. Peran IL-12 adalah mengaktivasi sel NK yang akan menghasilkan IFN- γ . Pada infeksi virus, makrofag dan sel yang terinfeksi memproduksi interferon (IFN) tipe I.

Interferon ini menghambat replikasi virus dan mencegah penyebaran infeksi ke sel yang belum terkena (Jeon DW et al., 2012). Model M2 diaktivasi oleh IL-4 dan IL-13 serta memiliki peranan dalam penting penyembuhan luka, angiogenesis dan pertahanan terhadap infeksi dari parasit. M2 juga dikatakan sebagai sumber penting dari TGF- β (Delavary BM et al., 2011).

Proses penyembuhan luka tidak hanya terbatas pada proses regenerasi yang bersifat lokal saja pada luka, namun dipengaruhi pula oleh faktor instrinsik dan ekstrinsik (InETNA, 2004). Faktor instrinsik adalah faktor dari penderita yang dapat berpengaruh terhadap proses penyembuhan luka meliputi usia, status nutrisi dan hidrasi, oksigenasi dan perfusi jaringan, status imunologi dan penyakit penyerta. Faktor ekstrinsik adalah faktor yang didapat dari luar penderita yang dapat berpengaruh dalam proses penyembuhan luka meliputi pengobatan, radiasi, stress psikologi, infeksi, iskemia, dan trauma jaringan atau beratnya kerusakan jaringan (InETNA, 2004).

Berdasarkan pembahasan di atas, maka hipotesis dalam penelitian ini telah terbukti yaitu pemberian gel ekstrak kulit buah jengkol (*Pithecellobium lobatum Benth.*) efektif terhadap peningkatan angka sel makrofag pasca pencabutan gigi marmut (*Cavia cobaya*) jantan.