

Perbandingan Jumlah Makrofag pada Luka Insisi *Full Thickness*
antara Pemberian Ekstrak Umbi Bidara
Upas (*Merremia mammosa* (Lour)) dengan NaCl
pada Tikus Wistar Jantan
(*Comparison of The Number of Macrophage in Full Thickness Wound
Incision between Merremia mammosa Extract Treatment and NaCl
in Male Wistar Rats*)

Fajar Kurniawan Hidayat, Ulfa Elfiah, Kristianningrum Dian Sofiana
Fakultas Kedokteran, Universitas Jember (UNEJ)
Jl. Kalimantan 37, Jember 68121
e-mail: fadjarkurniawan88@gmail.com

Abstract

The incidence of diabetes mellitus in Indonesia continues to increase. There are some complications in the diabetic condition, one of which is diabetic ulcer. Diabetic ulcers in diabetes patient can increase the risk of amputation and expensive treatment costs, so the alternative treatment such as Merremia mammosa which has antiinflammatory and antidiabetic is needed. This study aimed to determine the comparison of the number of macrophage in the incisional wound in hyperglycemic male wistar rats between treatment with Merremia mammosa extract and NaCl. The in vivo test was done by creating wound incision on the mice backs and treated with gentamycin ointment 5% in a positive control group, NaCl in a negative control group and Merremia mammosa extract in a dose of 100mg, 200mg, 400mg in treatment group. The result obtained by counting the number of macrophage in histopathology examination. The result showed the number of macrophage were 0,36 cells/field of view in a negative control group, 0,52 cells/field of view in a positive control group, 0,48 cells/field of view in all Merremia mammosa treatment groups. The data analysis showed no significant difference with p-value of 0,729. In conclusion, there was no significant difference between the used of Merremia mammosa extract and NaCl on full thickness incisional wounds of hyperglycemic male wistar rats.

Keywords: *Diabetes Mellitus, Merremia mammosa extract, incisional wound*

Abstrak

Angka kejadian Diabetes Mellitus di Indonesia terus meningkat. Terdapat beberapa komplikasi pada kondisi penderita diabetes, salah satunya adalah ulkus diabetik. Ulkus diabetik pada penderita diabetes dapat meningkatkan resiko amputasi dan perawatan dengan biaya mahal, maka dibutuhkan alternatif pengobatan seperti pada tanaman bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour)) yang memiliki kandungan antiinflamasi dan antidiabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan jumlah makrofag pada luka insisi pada tikus wistar jantan hiperglikemi antara pemberian ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour)) dengan NaCl. Uji *in vivo* dilakukan dengan membuat luka insisi pada punggung tikus dan dirawat sesuai kelompok perlakuan yaitu kontrol positif menggunakan salep gentamycin 5%, kontrol negatif NaCl, dan kelompok perlakuan ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour)) dengan dosis P1 (100mg), P2 (200mg), P3 (400mg). Data didapatkan dari penghitungan jumlah makrofag pada pemeriksaan histopatologi. Hasil penelitian didapatkan jumlah makrofag 0,36 sel/lapang pandang pada kontrol negatif, 0,52 sel/lapang pandang pada kontrol positif, 0,48 sel/lapang pandang pada semua pemberian ekstrak umbi bidara upas. Analisis data menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai $p=0,729$. Kesimpulannya adalah tidak terdapat perbedaan bermakna antara pemberian ekstrak umbi bidara upas dan NaCl pada luka insisi *full thickness* tikus wistar jantan hiperglikemi.

Kata kunci: Diabetes Mellitus, ekstrak umbi bidara upas, luka insisi

Pendahuluan

Diabetes Melitus (DM) merupakan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang ditandai dengan naiknya kadar glukosa dalam darah (hiperglikemia) akibat sekresi insulin yang kurang, aksi insulin menurun, atau keduanya. Beberapa tanda yang menunjukkan hiperglikemi antara lain poliuri polidipsi, penurunan berat badan dan kadang-kadang disertai juga dengan polifagi dan kemampuan penglihatan kabur [1].

Prevalensi DM di seluruh dunia diperkirakan sebesar 2,8% dan akan meningkat menjadi 4,4% di tahun 2030. Hal ini menunjukkan terdapat 171 juta jiwa yang menderita DM di tahun 2000 dan akan terus meningkat hingga mencapai 366 juta jiwa di tahun 2030. Di Indonesia, diperkirakan terdapat 21,3 juta jiwa penderita DM di tahun 2030. Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2007, menyatakan bahwa prevalensi DM sebesar 5,7% [3]. Berdasarkan data Rekam Medik RSD dr. Soebandi Jember, jumlah kunjungan pasien DM di Poli Interna RSD dr. Soebandi Jember pada tahun 2012 sebanyak 4300 jiwa [5].

Komplikasi DM dapat diklasifikasikan menjadi mikrovaskular dan makrovaskular. Komplikasi mikrovaskular meliputi neuropati, nefropati, dan retinopati. Komplikasi makrovaskular meliputi kardiovaskular, strok, dan PVD (*Peripheral Vascular Disease*). PVD dapat menyebabkan luka sukar sembuh, gangren, dan amputasi.

Pasien yang menderita DM memiliki tingkat risiko terjadinya ulkus yang lebih besar dibandingkan pada pasien normal. Sebanyak 5,8% pasien DM kemudian mengalami ulkus diabetik. Dari jumlah tersebut, sebanyak 15,3% menjadi osteomielitis dan 11,2% harus menjalani amputasi. Biaya yang diperlukan untuk pengobatan ulkus diabetik juga lebih besar 30.000-40.000 *US Dollar* jika dibandingkan pasien DM tanpa ulkus [7].

Besarnya biaya yang dikeluarkan, resiko reamputasi yang tinggi dan sulitnya penanganan luka diabetik, dirasakan perlu untuk dicari obat alternatif yang lebih murah. Tanaman obat asli Indonesia yang diduga dapat digunakan sebagai penyembuh luka yaitu bidara upas. Bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour)) termasuk tanaman obat asal Indonesia yang dapat ditemukan di Taman Nasional Meru Betiri. Tanaman dari suku *Convolvuraceae* ini dapat digunakan sebagai anti radang, analgesik, penyembuh luka, mengobati gigitan ular, kanker, kusta, syphilis, tifus, difteri, peradangan dan kencing manis. Umbi bidara upas mengandung polisakarida, flavonoid dan senyawa resin glikosida seperti merremosida A, E, J, *mammosa* yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri

dengan cara membuat lubang pada membran.

Penelitian umbi bidara upas sebagai obat topikal luka diabetik masih belum banyak di Indonesia. Sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek umbi bidara upas terhadap penyembuhan luka diabetik. Dengan tersedianya produk alam di Indonesia yang dapat dimanfaatkan dan meningkatnya insidensi luka diabetik di Indonesia maka dilakukan penelitian untuk mengetahui perbandingan jumlah makrofag pada luka insisi *full thickness* antara pemberian ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa*(Lour)) dengan NaCl pada tikus jantan hiperglikemi.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi dan telah mendapat persetujuan komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember dengan nomor 582/H25/1.11/KE/2015.

Metode penelitian yang digunakan adalah *true experimental laboratories*, dengan post test design. Kemudian membandingkan hasil intervensi (perlakuan) dengan kelompok eksperimen yang tidak diberikan perlakuan. Perlakuan yang dimaksud adalah pemberian ekstrak umbi bidara upas.

Populasi yang digunakan adalah tikus galur Wistar dengan ± 40 tikus (perjumlahan tikus yang diberi perlakuan hidup sampai terminasi dan jumlah tikus yang mati saat awal atau pertengahan waktu penelitian). Sampel penelitian diperoleh dari populasi dengan cara pengambilan sampel secara *simple random sampling* dengan jumlah 5 ekor tiap perlakuan, jumlah total sampel adalah 25 ekor tikus. Sampel dipilih dengan kriteria inklusi dan eksklusi.

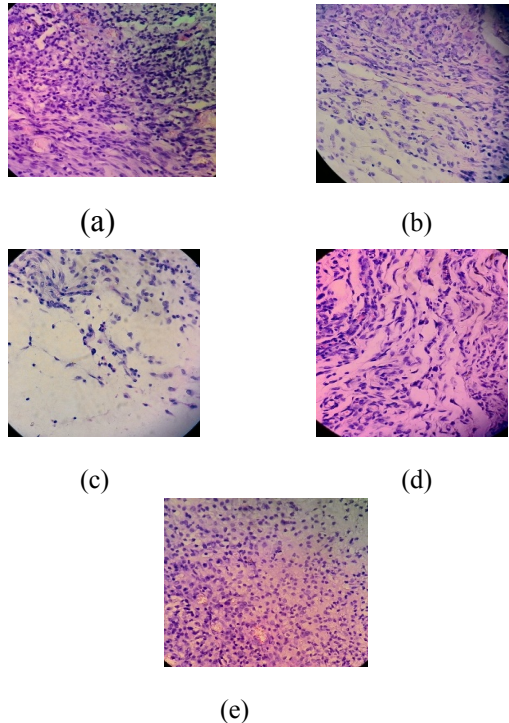
Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah a) tikus jantan, b) usia 2-3 bulan, c) berat badan sebelum perlakuan 200-250 gram, d) tidak ada kelainan anatomis, e) sehat dan aktif selama masa adaptasi, dan f) ditempatkan di kandang yang sama. Sedangkan kriteria eksklusi adalah a) tikus sakit selama adaptasi, b) tikus mengalami infeksi, dan c) tikus mati selama perlakuan berlangsung.

Pada penelitian ini tikus dikondisikan menjadi hiperglikemi dengan menginjeksikan agen diabetogenik dengan dosis 125mg/kgBB secara intraperitoneal. Kemudian pembuatan luka insisi diberikan ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour)) secara topikal dengan dosis P1 (perlakuan 1) 100mg, P2 (perlakuan2) 200mg, P3 (perlakuan 3) 400mg.

Uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* dan analisis data menggunakan *Kruskal-Wallis*.

Hasil Penelitian

Hasil pengamatan dari jumlah makrofag pada penelitian yang telah dilakukan pada luka insisi *full thickness* tikus wistar jantan dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Gambaran histopatologi kulit tikus dengan mikroskop perbesaran 400x.

Keterangan: a. Kontrol (+) Salep Gentamycin
 b. P1 Dosis 100mg
 c. P2 Dosis 200mg
 d. P3 Dosis 400mg
 e. Kontrol (-) NaCl

Hasil skoring pembacaan histopatologi makrofag tikus wistar jantan hiperglikemi minimal yang dihitung dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Skoring Pembacaan Histopatologi

Kelompok	Mean	SD	Min	Max
Kontrol Positif	0,52	0,228	0,2	0,8
Dosis 100 mg (P1)	0,48	0,228	0,2	0,8
Dosis 200 mg (P2)	0,48	0,109	0,4	0,6
Dosis 400 mg (P3)	0,48	0,228	0,2	0,8
Kontrol Negatif	0,36	0,167	0,2	0,6

Berdasarkan tabel 1 rata-rata tertinggi jumlah makrofag pada preparat histopatologi tikus wistar jantan hiperglikemi terdapat pada kelompok kontrol positif (K+) dan rata-rata terendah terdapat pada kelompok kontrol negatif (K-). Sedangkan untuk kelompok perlakuan antara perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), perlakuan 3 (P3) memiliki rata-rata jumlah yang sama, dengan kata lain tidak ditemukan rata-rata tertinggi dan rata-rata terendah pada kelompok perlakuan.

Data hasil skoring jumlah makrofag pada tikus wistar jantan hiperglikemi di uji normalitasnya menggunakan *Saphiro-Wilk* dan hasilnya dapat dilihat di tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Normalitas *Saphiro-Wilk*

No	Kelompok	P
1	Kontrol Positif	0,814
2	Perlakuan 1 (P1)	0,814
3	Perlakuan 2 (P2)	0,006
4	Perlakuan 3 (P3)	0,814
5	Kontrol Negatif	0,314

Dari hasil tabel 2, didapatkan distribusi data normal karena semua nilai $p > 0,05$, kecuali pada P2. Pada uji homogenitas menggunakan uji *Levene*, didapat nilai p sebesar 0,709. Interpretasi dari nilai tersebut adalah kelompok data yang akan diuji bersifat homogen namun tidak normal.

Berdasarkan hasil uji normalitas *Saphiro-Wilk* dan homogenitas *Levene* dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi tidak normal namun homogen, kemudian data di transformasi. Karena setelah ditransformasi data tetap tidak normal sehingga data tidak dapat dianalisis dengan uji parametrik. Sehingga data diuji menggunakan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui pengaruh dan membandingkan efektifitas pemberian ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour)) pada proses penyembuhan luka insisi (*full thickness*) tikus wistar jantan hiperglikemi. Data tersebut dapat dikatakan berbeda signifikan apabila $p < 0,05$.

Hasil analisis data dengan uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan hasil $p=0,729$ dimana hal tersebut berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan, tetapi melihat dari analisis deskriptif bahwa ekstrak umbi bidara upas berefek terhadap penyembuhan luka dilihat dari banyaknya jumlah makrofag jika dibandingkan dengan kontrol negatif (K-) namun jumlahnya masih dibawah dari kontrol positif (K+).

Pembahasan

Pembuatan luka insisi (*full thickness*) dengan kadar gula darah tikus yang tinggi dimaksudkan menjadi replikasi luka diabetik untuk kemudian dapat melihat efek umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour)) sebagai penyembuhan luka.

Proses penyembuhan luka terdapat 4 fase yaitu fase homeostatis, fase inflamasi, fase proliferasi dan fase maturasi (*remodelling*). Pada fase inflamasi jumlah makrofag mencapai puncaknya pada 24-48 jam setelah terjadi luka, fungsi makrofag adalah sebagai APC dan fagositosis profesional dimana jika terdapat gangguan maka akan berakibat infeksi luka oleh patogen yang tidak difagositosis dan memperlama waktu penyembuhan luka akibat makrofag tidak menstimulus *growth factor* dan *TGF- β* dan terjadi perlambatan pada fase penyembuhan luka selanjutnya [4].

Pada hasil penelitian didapatkan bahwa kelompok kontrol (-) yang hanya diberikan NaCl didapatkan rata-rata jumlah makrofag 0,36 sel/lapang pandang dan merupakan hasil terendah jika dibandingkan dengan kelompok lain. Hal ini menandakan bahwa NaCl digunakan sebagai pembersih luka dan menghilangkan benda asing yang menempel namun NaCl bukan antiseptik sehingga tidak dapat membunuh bakteri.

Pada kelompok kontrol (+) yang diberikan gentamicyn 5% didapatkan rata-rata jumlah makrofag 0,52 sel/ lapang pandang. Sedangkan untuk kelompok kontrol (-) yang diberikan NaCl didapatkan rata-rata jumlah makrofag 0,36 sel/ lapang pandang. Dan untuk kelompok perlakuan P1, P2, P3 yang diberikan ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour)) memiliki hasil yang sama adalah 0,48 sel/lapang pandang, yang diartikan bahwa kelompok kontrol (+) adalah yang tertinggi rata-rata jumlah makrofag lalu diikuti dengan kelompok perlakuan dan terendah adalah kelompok kontrol (-).

Gentamycin merupakan antibiotika golongan aminoglikosida yang efektif untuk menghambat kuman-kuman penyebab infeksi kulit primer maupun sekunder seperti *Staphylococcus* yang menghasilkan penisilinase, *Pseudomonas aeruginosa* dan lain-lain. Gentamycin digunakan untuk pengobatan infeksi kulit primer maupun sekunder seperti impetigo contagiosa, ektima, furunkulosis, pioderma, psoriasis dan macam-macam dermatitis lainnya. Namun pada efek samping dapat menyebabkan iritasi ringan, pruritus dan eritema sehingga dapat memperlama penyembuhan luka. Gentamycin pada penelitian ini digunakan sebagai pembanding karena kandungan antimikroba.

Hasil rata-rata pada semua kelompok yang diberikan ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour)) adalah 0,48 sel/lapang pandang, hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang diberikan NaCl (kontrol negatif). Hal ini terjadi karena kandungan pada ekstrak umbi bidara upas yang menyerupai gel. Kandungan ekstrak bidara upas salah satunya yaitu polifenol ini banyak sekali macamnya seperti flavonoid. Flavonoid memiliki efek antioksidan yang dapat mempercepat fase inflamasi dengan menangkap radikal bebas dan mencegah reaksi oksidasi dengan meningkatkan aktivitas enzim *Superoxide dismutase* (SOD) dan *glutathion transferase* (Subandi *et.al*, 2014). Selain itu flavonoid memiliki aktivitas antiinflamasi yang bekerja menghambat fase penting dalam biosintesis yaitu pada lintasan siklooksigenase dan juga memiliki aktivitas antibakteri melalui hambatan fungsi DNA *gyrase* bakteri sehingga kemampuan replikasi dan translasi bakteri terhambat (Gunawan, 2009).

Flavonoid dengan aktivitas antiinflamasinya dapat merangsang sel-sel seperti makrofag untuk menghasilkan *growth factor* dan sitokin seperti EGF, *TGF- β* , IL-1, IL-4, IL-8 sehingga mempercepat memasuki fase proliferasi dan penyembuhan luka. Kandungan flavonoid pada umbi bidara upas juga dapat memacu imunitas seluler dengan memproliferasi limfosit dan produksi *reactive oxygen intermediat macrofag* [2].

Namun dalam penelitian ini memiliki keterbatasan karena tidak meneliti per fase dari proses penyembuhan luka dari fase inflamasi, proliferasi dan maturasi (*remodelling*). Penelitian ini hanya dilakukan dengan jangka waktu 21 hari, sehingga fase inflamasi dan maturasi (*remodelling*) tidak diketahui secara pasti akan menimbulkan efek atau tidak. Penelitian ini tidak menggunakan bahan aktif tunggal sehingga bahan aktif lain yang terkandung pada ekstrak bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour)) dapat mempengaruhi hasil penelitian. Penelitian ini tidak dilakukan pengujian kadar bahan aktif, sehingga tidak diketahui kadar bahan aktif yang memberikan efek yang diinginkan.

Simpulan dan Saran

Dari penelitian di atas, dapat disimpulkan bahwa ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour)) tidak mempunyai perbedaan yang signifikan pada proses penyembuhan luka insisi *full thicknes* dilihat dari jumlah makrofag. Karena puncak makrofag terjadi pada hari 1-3 dari proses penyembuhan luka (fase inflamasi), sedangkan penelitian ini tikus diterminasi pada hari ke 21 yang sudah memasuki fase proliferasi sehingga jumlah makrofag menurun.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada pemberian ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour)) dengan menggunakan tikus yang diterminasi pada hari ke 3 sehingga jumlah makrofag mencapai puncaknya yaitu pada fase inflamasi dari proses penyembuhan luka.

Daftar Pustaka

- [1] Burrat CF. Medical Management of Diabetes. *American Diabetes Association*; 2006 [cited 2014 September 12]. <http://care.diabetesjournals.org/content>.
- [2] Jon F. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa*) Terhadap Proliferasi Limfosit Dan Produksi ROI Makrofag. Studi Eksperimental Infeksi Salmonella Typhimurium pada Mencit Balb/C. Master thesis: Universitas Diponegoro.2012.
- [3] Kemenkes RI. Prevalensi Ulkus Diabetik. 2009.
- [4] Suryadi. Penyembuhan Dan Perawatan Luka. Denpasar: SMF Ilmu Bedah Universitas Udayana. 2013.
- [5] Alvinda Y. Pengaruh Diabetes Self Management Education (DSME) Terhadap Resiko Terjadinya Ulkus Diabetik Pada Pasien Rawat Jalan Dengan Diabetes Mellitus (DM) Tipe 2 Di RSD dr. SOEBANDI. Jember. 2012.
- [6] ADA. Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes : A patient – centered approach. Position statment American Diabetes Association (ADA) and Europe Association for the Study of Diabetes (EASD). 2012.
- [7] Rini S. Faktor-faktor Risiko Ulkus Diabetika Pada Penderita Diabetes Melitus. Semarang: Universitas Diponegoro. 2008.