

PEMBERIAN EKSTRAK METANOLIK GETAH BIDURI (*Calotropis gigantea*) TERHADAP KETEBALAN EPITEL GINGIVA TIKUS WISTAR

Zahara Meilawaty

Departemen Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

ABSTRACT

Background: Biduri is a shrub plant sap. The sap extract of this plant can be used to treat inflammation and accelerate wound healing. **Objective:** Determine the effect of sap extract metanolic biduri of gingival wound healing in wistar rats of thickness epithelium seen histological. **Methods:** The study used 48 wistar rats. All rat were given injury on their gingival using punch biopsy, further more divided into 4 groups, (1) control (-), given no medication; (2) control (+), given ibuprofen; (3) treatment group, given the extract of sap of biduri 50 mg / kg bw; (4) treatment group, given the extract of sap of biduri 500 mg / kg bw. Furthermore, each of 3 rats in all groups performed decapitation on the on the 2nd, 4th, 8th, and 15th day's after injury to take the mandible, after that the histological observation were done. The data were analyzed by two way Anova test, was continued by LSD test. **Results:** there were significant differences in epithelial thickness in all groups ($p < 0,05$). **Conclusion:** The methanolic extract of the sap of biduri able to increase the number of rat gingival epithelial thickness so as to accelerate wound healing

Keywords: getah biduri, gingival epithelium, thickness

Korespondensi (Correspondence): Zahara Meilawaty, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember Jl. Kalimantan 37 Jember, Telp/fax : (0331) 333536/(0331) 331991. e-mail: zhr_mel@yahoo.com

Luka pada jaringan lunak merupakan luka yang biasanya terjadi di kedokteran gigi, salah satunya luka pada gingiva yang biasanya terjadi karena pencabutan gigi. Luka pada jaringan bisa disebabkan karena proses patologis atau adanya trauma. Luka karena trauma bisa disebabkan oleh faktor fisik atau kimia, contohnya insisi, ataupun pH yang ekstrim¹. Luka disertai pula oleh proses inflamasi yang merupakan reaksi jaringan terhadap semua bentuk kerusakan karena infeksi dan iritasi. Proses inflamasi diperlukan sebagai pertahanan tubuh terhadap mikroorganisme yang masuk ke dalam tubuh, dan penyembuhan luka yang membutuhkan komponen seluler untuk membersihkan debris pada lokasi cedera, serta diperlukan untuk meningkatkan perbaikan jaringan. Agen penyebab inflamasi selalu menimbulkan perubahan jaringan oleh karena adanya kerusakan sel, salah satunya terjadi pada sel epitel^{2,3}.

Jaringan epitel adalah struktur labil yang sel-selnya secara tetap dan teratur diganti baru melalui aktivitas mitosis. Reaksi vaskuler dan seluler yang hebat menyebabkan epitel dengan cepat beregenerasi untuk mengembalikan fungsi pelindungnya. Selapis tipis epitel akan menutupi luka yang dimulai dengan mitosis sel basal epidermis dan diikuti dengan perpindahan epitel ke bawah tepi luka serta melewati tepi luka. Epitel berpindah sebagai suatu lembaran sampai berkontak dengan sel-sel epitel lain, pada saat ini semua gerak terhenti. Luka matur epitel menebal tetapi tidak pernah membentuk retepeg atau struktur epitel normal lainnya. Jaringan epitel berfungsi untuk menutupi atau melindungi dan melapisi permukaan dalam atau luar

tubuh sehingga luka yang mencapai lapisan epitel akan sembuh dan mengalami proses epitelisasi^{4,5}.

Penggunaan obat antiinflamasi nonsteroid (AINS) sangat efektif untuk mengurangi inflamasi dan rasa sakit. Obat ini diindikasikan untuk luka pada jaringan lunak, fraktur, ekstraksi gigi. Tetapi, penggunaan obat AINS dapat menimbulkan efek samping, diantaranya dapat menyebabkan terjadinya perdarahan gastrointestinal, memperlama waktu perdarahan, serta dapat merusak fungsi ginjal^{6,7}. Oleh karena itu, masih perlu dicari bahan alam atau bahan lain dengan efek samping yang minimal.

Tanaman obat yang dikenal di Indonesia ada yang dapat digunakan sebagai obat alternatif untuk antiinflamasi dan sakit gigi, salah satunya adalah tanaman biduri (*C. gigantea*). Tanaman biduri banyak ditemukan didaerah bermusim kemarau panjang. Getah akan keluar dari tanaman ini jika salah satu bagiannya dilukai. Getah biduri berkhasiat sebagai pencakar, dan dapat digunakan sebagai obat bisul, eksim, sakit gigi, serta dapat digunakan sebagai obat luka pada sifilis^{8,9,10}. Getahnya mengandung enzim bakteriolitik, kalotropin (enzim proteolitik yang menyerupai papain) yang memperlihatkan anti tumor terhadap sel epidermis karsinoma nasoparing dan juga berperan pada proses inflamasi serta juga dapat menurunkan waktu koagulasi plasma sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan^{11,12}.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak metanolik getah biduri (*Calotropis gigantea*) terhadap penyembuhan luka gingiva tikus wistar yang di lihat dari ketebalan epitelnya secara histologis.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini telah mendapatkan kelaikan etik (*ethical clearance*) dari Komisi Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Penelitian ini menggunakan 48 ekor tikus *wistar* jantan, umur 3 bulan dengan berat 200-300 gram.

1. Pembuatan Ekstrak Metanolik Getah Biduri

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol. Getah biduri didapat dengan cara memotong batangnya. Getah yang didapat direndam dalam metanol, disimpan terlindung dari cahaya langsung selama 3 hari, setelah itu getah disaring. Hasil penyaringan diuapkan di atas kompor menggunakan *water bath* sampai didapatkan ekstrak kental¹³. Proses ini memerlukan waktu kurang lebih selama 5 jam.

2. Pembuatan Perluasan

Perluasan dibuat dengan cara melakukan *punch biopsy* (\varnothing 2,5 mm) pada mukosa gingiva rahang bawah. *Punch biopsy* ditekan sambil diputar pada mukosa gingiva sampai menyentuh tulang. Sebelumnya tikus dianestesi dengan menggunakan ketalar secara intra muskular

3. Pelaksanaan Penelitian

Tikus putih terlebih dahulu diadaptasikan dengan lingkungan laboratorium selama 1 minggu, diberi pakan standar dan minum *ad libitum*. Tikus dibagi menjadi 4 kelompok besar secara acak.

- Kelompok kontrol negatif (-),diberi perluasan pada mukosa gingivanya, selanjutnya tidak diberi terapi apapun.
- Kelompok kontrol positif (+),diberi perluasan pada mukosa gingivanya, selanjutnya diberi ibuprofen dengan dosis 108 mg/kg BB.
- Kelompok biduri 50 mg/kgBB, diberi perluasan pada mukosa gingivanya, selanjutnya diberi ekstrak getah biduri 50 mg/kg BB.
- Kelompok biduri 500 mg/kgBB, diberi perluasan pada mukosa gingivanya, selanjutnya diberi ekstrak getah biduri 500 mg/kg BB.

Selanjutnya dari masing-masing kelompok diambil 3 tikus untuk dilakukan dekaputasi pada hari ke-2, ke-4, ke-8, dan ke-15 setelah perluasan. Dekaputasi dilakukan dengan cara menganestesi terlebih dahulu tikus secara intra muskular menggunakan ketalar setelah itu dilakukan dislokasi pada leher tikus. Selanjutnya diambil rahang bawahnya untuk dibuat sediaan jaringan untuk pengamatan histologis.

4. Penghitungan Ketebalan Epitel

Pengamatan dilakukan dengan mikroskopis binokuler dengan pembesaran 400X, sampel yang telah dibuat sediaan histologis diamati dan diukur ketebalan epitelnya mulai dari *stratum corneum*, *stratum*

granulosum, *stratum spinosum* sampai *stratum basale* dengan menggunakan *micrometer grade* yang dipasang pada lensa binokuler. Masing-masing sediaan diamati pada tiga lapang pandang.

Dari data pengamatan tersebut akan dihitung kembali dalam ukuran yang sebenarnya dengan rumus sebagai berikut:¹⁴

$$\text{Hasil} = \frac{\text{skala obyektif}}{\text{skala okuler}} \times 0,001\text{mm} \times \text{hasil pembacaan}$$

5. Analisis Data

Data hasil penelitian diuji normalitasnya dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan diuji homogenitasnya dengan uji *Levene*. Kemudian dianalisis menggunakan *Two-way Anova*, dilanjutkan dengan uji LSD.

HASIL

Gambar 1 memperlihatkan hasil rerata ketebalan epitel. Dari gambar 1 diketahui bahwa ketebalan epitel tertinggi terdapat pada kelompok ekstrak getah biduri 50 mg/KgBB.

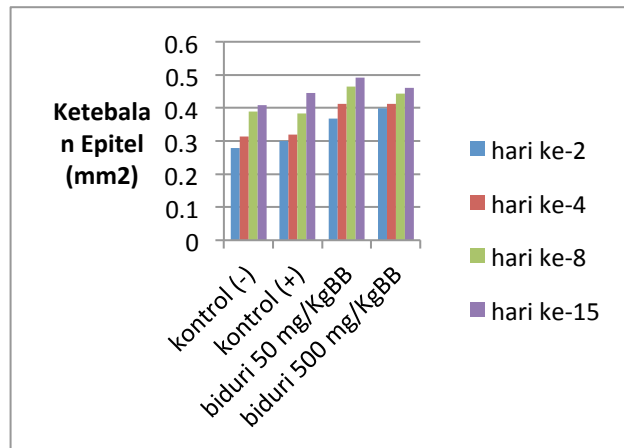
Dari data rerata ketebalan epitel selanjutnya dilakukan uji normalitas dan homogenitas menggunakan uji *Kolmogorov Smirnov* dan *Uji Levene*. Dari hasil uji tersebut didapatkan hasil bahwa data rerata normal dan homogen, oleh karena itu selanjutnya dilakukan uji parametrik. Uji parametrik yang dilakukan adalah uji *Two-way Anova*. Hasil uji *Two-way Anova* (tabel 1) memperlihatkan terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,005$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak getah biduri berpengaruh terhadap ketebalan pembentukan epitel. Selanjutnya dilakukan uji LSD. Hasil uji LSD juga didapatkan perbedaan yang signifikan hampir pada semua kelompok perlakuan ($p < 0,005$).

Tabel 1. Rangkuman Hasil Uji *Two-way Anova* Ketebalan Epitel Gingiva Tikus

	F	Signifikansi
Waktu	114.408	0.000
Kelompok	88.100	0.000
Waktu*Kelompok	3.489	0.004

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh pemberian ekstrak metanolik getah biduri terhadap ketebalan epitel gingiva tikus *wistar* jantan yang sebelumnya diberi perluasan dengan *punch biopsy*. Hal ini bisa dilihat pada gambar 1, kelompok ekstrak metanolik getah biduri 50 mg/KgBB mempunyai rata-rata ketebalan epitel yang paling tinggi dibanding dengan kelompok kontrol (-) dan kontrol (+).Getah biduri dapat meningkatkan proses penyembuhan yang ditandai dengan peningkatan kolagen, sintesis DNA dan protein, serta epitelisasi yang berperan untuk mengurangi terjadinya luka¹⁵.



Gambar 1. Grafik Rata-rata Ketebalan Epitel Gingiva Yang Diberi Perlukaan Dengan *Punch Biopsy* Pada Masing-Masing Kelompok

Penyembuhan merupakan suatu proses penggantian jaringan yang mati atau rusak dengan jaringan baru dan sehat oleh tubuh dengan cara regenerasi. Penyembuhan luka merupakan suatu proses yang kompleks karena berbagai kegiatan bio-seluler dan bio-kimia yang terjadi secara berkesinambungan. Penggabungan respons vaskuler, aktivitas seluler dan terbentuknya bahan kimiawi sebagai substansi mediator di daerah luka merupakan komponen yang saling terkait pada proses penyembuhan luka. Penyembuhan dapat dilihat berdasarkan indikator hilangnya kemerahan, pembengkakan dan tertutupnya luka ¹⁶.

Selapis epithelium akan menutupi luka dalam 48 jam dimulai dengan mitosis sel basal. Epitel sel basal lepas dari dasarnya, pindah menutupi dasar luka dan tempatnya diisi hasil mitosis sel lain. Proses migrasi epitel hanya berjalan ke permukaan yang rata atau lebih rendah, yaitu proliferasi epitel meluncur keluar dari tepi luka dengan gerakan amoeboid yang khas dengan menggunakan pita-pita fibrin dan komponen matriks ekstra sel seperti fibronektin sebagai pemandu jalur dan perjalanannya. Fase proliferasi akan berakhir jika epitel dermis dan lapisan kolagen telah terbentuk menutupi permukaan luka, terlihat proses kontraksi dan akan dipercepat oleh berbagai *growth factor* yang dibentuk oleh makrofag dan platelet ¹⁷.

Reepitalisasi merupakan proses penyembuhan luka yang terjadi pada hari ke-2 pasca luka insisi pada gingiva (± 48 jam) dengan membentuk jembatan yang terdiri dari jaringan fibrosa yang menghubungkan kedua tepi celah subepitel. Pada hari ke-3 pasca insisi, respon radang akut mulai berkurang dan netrophil sebagian besar digantikan oleh makrofag yang membersihkan tepi luka dari sel-sel yang rusak serta pecahan fibrin. Karena itu, diharapkan pada hari ke-3 pasca insisi, sel epitel lebih banyak dan berkurangnya sel yang rusak atau sel radang. Semakin cepat pembentukan epitel, semakin cepat

penyembuhan ¹⁸. Selama masa reaksi vaskuler dan seluler yang hebat, epitel dengan cepat bergenerasi untuk mengembaikan fungsi pelindungnya. Selapis tipis epitel akan menutupi luka yang dimulai dengan mitosis sel basal epidermis dan diikuti dengan perpindahan epitel ke bawahnya tepi luka. Epitel berpindah sebagai suatu lembaran sampai berkontak dengan sel-sel epitel lain, pada saat ini semua gerak terhenti dan saat luka matur, epitel menebal tetapi tidak pernah membentuk *retepeg* atau struktur epitel normal lainnya ⁴.

Uji Two-way Anova (Tabel 1) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak getah biduri 50 dan 500 mg/kg BB mempunyai pengaruh yang bermakna terhadap peningkatan ketebalan epitel. Hal ini diduga disebabkan karena kandungan kalotropin (enzim proteolitik) yang terdapat pada getah biduri.

Enzim proteolitik bekerja dengan memotong rantai protein, apabila tubuh atau jaringan mengalami luka maka tubuh akan merespon dengan terjadinya inflamasi. Inflamasi yang berlebihan akan menyebabkan proses penyembuhan menjadi terhambat. Enzim proteolitik dapat mengurangi inflamasi yang terjadi dengan menetralkan bradikinin dan eukasinoid *pro-inflammatory* ke level dimana proses repair dan regenerasi jaringan yang luka dapat dimulai, serta dapat memicu terjadinya koagulasi darah ^{12,19,20}.

Enzim proteolitik merupakan modulator dan regulator yang penting pada respon inflamasi. Enzim ini berperan penting pada peningkatan makrofag dan sel *Natural Killer (NK)*, serta dapat menstimuli fagositosis neutrofil. Enzim proteolitik berperan pada proses inflamasi melalui banyak mekanisme, diantaranya dapat mengaktifkan sistem komplemen yang berfungsi sebagai mediator inflamasi yang penting, mengurangi pembengkakan membran mukosa, menurunkan permeabilitas kapiler, dan dapat mengurangi pembentukan fibrin pada

daerah luka. *Blood clot* yang menipis juga menyebabkan sirkulasi darah pada daerah luka menjadi lebih baik. Hal ini mengakibatkan suplai oksigen dan nutrisi ke daerah luka menjadi lebih banyak sehingga nantinya dapat mempercepat proses penyembuhan^{20,21}.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak metanolik getah biduri mampu meningkatkan jumlah ketebalan epitel gingiva tikus sehingga mampu mempercepat penyembuhan luka yang terjadi karena perlukaan dengan *punch biopsy* dan yang lebih efektif adalah ekstrak getah biduri 50 mg/KgBB. Namun, masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa aktif tanaman biduri yang dapat memberikan efek penyembuhan luka serta perlu dilakukannya uji toksisitas sehingga bisa diaplikasikan pada manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Peterson, L.J., *Contemporary Oral and Maxillofacial Surgery*, Mosby, St. Louis, 1998:57-62
- Schawrt. *Intisari Prinsip-Prinsip Ilmu Bedah*. (Edisi Keenam). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2000
- Baratawidjaja, K.G., *Imunologi Dasar*, Edisi ke-7, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 2006:140
- Sabitson, D.C. *Buku Ajar Bedah*. (Jilid Pertama). Jakarta: EGC. 1995
- Junqueira, L., Carneiro, C.J., dan Keleey, R. O. *Histologi Dasar*. (Edisi Kesepuluh). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2007
- Tripathi, K.D. *Essentials of Medical Pharmacology*, 5th ed. New Delhi: Jaypee Brothers. 2003:156-184
- Vardar, S. *The Administration of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs and Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitors in Dentistry*. 2005. <http://www.bentham.org>. diakses 8 Juni 2011
- Gruenwald, J., Brendler, T., Jaemicke, C., *PDR for Herbal Medicines*, 2nd ed, Medical Economic Company, New Jersey, 2000:338-339
- Dalimartha, S. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta: Trubus Agriwidya, 2005:11-16
- Hariana, A. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*, Seri 3. Jakarta: Penebar Swadaya, 2006: 160-161
- Muscle, Rub, J. *Herbal Monograph*. <http://www.himalayahealthcare.com>. 2002. diakses 20 April 2011
- Rajesh, R., Gowda, C.D.R., Nataraju, A., Dhananjaya, B.L., Kemparaju, K. *Procoagulant activity of Calotropis gigantea latex associated with fibrin(ogen)olytic activity*. 2005. <http://www.sciencedirect.com>. diakses 14 Mei 2011
- Departemen Kesehatan RI, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan RI Direktorat Jenderal Pengawas Obat dan Makanan Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Jakarta, 2000:10-12
- Rukmo, M. Peran Sel Radang Pada Patogenesis Kista Radikuler. *Majalah Kedokteran Gigi Surabaya Unair*. 1997. Vol. 30.
- Rasik, A.M., Raghubir, R., Gupta, A. Healing Potensial of Calotropis procera on 2000. Dermal Wounds in Guinea pigs. *Journal of Ethnopharmacology*. 1999.
- Irmanthea. *Definisi Luka dan Proses Penyembuhannya*. 2007. <http://irmanthea.blogspot.com/2007/07/definisi-luka-adalah-rusakny.html>.
- Lawler, Ahmed. *Buku Pintar Patologi Untuk Kedokteran Gigi*. Penerjemah Agus Djaya, Judul Asli *Essential Pathology for Dental Students*. Jakarta : EGC. 1992
- Robbins, S.L., Kumar, V. *Buku Ajar Patologi*. Alih Bahasa: Staf Pengajar Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Edisi ke-4. Jakarta: EGC. 1995:28-64
- Andersen, G.D., *Reducing Inflammation with Proteolytic Enzymes, Part One: Absorption and Sources*. <http://www.chiroweb.com>, 1999 (3 April 2011)
- Baron, J. *Enzymes: Part 3 of 3*. 2003. diakses 30 Juni 2011
- Lenard, L., Dean, W., English, J. *Controlling Inflammation with Proteolytic Enzymes*. 2000. <http://www.allergyresearchgroup.com>. diakses 30 Juni 2011