

**JUMLAH FIBROBLAS DAN ANGIOGENESIS SETELAH PEMBERIAN GEL GETAH JARAK CINA
PADA ULSERASI TIKUS WISTAR**

PRASETYO ADI*, YOLANDA A. HAPSARI, AZIMAH N. NAFILAH**, ZAINAL ARIFIN****

*Departemen Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya, Malang

** Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya

Korespondensi : Prasetyo Adi, Email : padi99@gmail.com

ABSTRAK

Sariawan atau ulserasi dalam bahasa medis didefinisikan inflamasi pada mukosa rongga mulut; seperti pipi, gusi, lidah, bibir, dan dasar mulut. Prevalensi terjadinya ulserasi pada rongga mulut diperkirakan mencapai lebih dari 25% dari populasi di seluruh dunia. Jarak Cina (*Jatropha multifida* L) mengandung senyawa kimia flavonoid, alkanoid, saponin, tanin, yang bermanfaat dalam mempercepat proses penyembuhan luka. **Tujuan:** menghitung jumlah angiogenesis dan fibroblas pada kelompok tikus ulserasi dan menghasilkan formulasi terbaik *nanospraygel* getah Jarak Cina sebagai terapi penyembuhan ulserasi. **Metode:** Tikus Wistar jantan 28 ekor dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok K+, P1, P2 dan P3 dengan pemberian konsentrasi 1% 3% dan 5%. Ulserasi tikus dengan induksi panas menggunakan semen stopper panas diletakan pada mukosa labial tikus selama 4 detik. Pemberian *nanospray gel* getah jarak cina pada kelompok P1, P2 dan P3 dengan konsentrasi masing-masing 1% 3% dan 5% dua kali sehari selama 5 hari. Dekaputasi tikus dilakukan hari ke-5 dilanjutkan pewarnaan jaringan menggunakan pewarnaan HE. **Hasil:** Uji homogenitas dan normalitas menunjukkan bahwa data homogen dan berdistribusi normal. Uji *One Way* ANOVA menunjukkan nilai signifikansi 0,000 dan 0,001 artinya ada perbedaan signifikan jumlah sel fibroblas dan angiogenesis pada tiap kelompok. Uji korelasi *Pearson* menunjukkan tidak ada hubungan kuat yang berarti semakin tinggi konsentrasi *nanospraygel* getah Jarak Cina tidak berpengaruh terhadap jumlah selffibroblas dan angiogenesis. **Kesimpulan:** pemberian SAYNA sebagai terapi ulser berpengaruh terhadap jumlah fibroblas dan angiogenesis pada tiap perlakuan dan dihasilkan formula efektif *nanospraygel* getah jarak cina dengan konsentrasi 1%.

Kata kunci: Angiogenesis, Fibroblas, *Nanospray gel* setah jarak cina, Ulserasi

NUMBER OF FIBROBLAST AND ANGIOGENESIS AFTER GIVING JARAK CINA NANOSPRAY GEL AS ULCERATION THERAPY

ABSTRACT

*Ulceration is defined as inflammation of the oral mucosa; such as cheeks, gums, tongue, lips, and the floor of the mouth. The prevalence of ulceration in the oral cavity is estimated to account for more than 25% of the population worldwide. Jarak Cina (*Jatropha multifida* L) contains chemical compounds of flavonoid, alkanoid, saponin, tannin, which are useful in accelerating the wound healing process. **Objective:** to calculate the amount of angiogenesis and fibroblasts in the ulcerated rats group and to produce the best formulation of Jarak Cina nanospray gel as ulcerative healing therapy. **Method:** 29 Wistar rats in the household were divided into 4 groups, K +, P1, P2 and P3 groups with 1% 3% and 5% concentration. Ulceration of mice with thermal induction using hot cement stopper placed on the labial mucosa of mice for 4 seconds. Giving Jarak Cina nanospray gel in group of P1, P2 and P3 with concentration respectively 1% 3% and 5% twice daily for 5 days. Decapitation of mice on day 5 followed by tissue staining using HE staining. **Result:** Homogeneity and normality tests show that the data is homogeneous and normally distributed. One Way ANOVA test showed a significance value of 0.000 and 0.001 meaning that there are significant differences in the number of fibroblast cells and angiogenesis in each group. Pearson correlation test showed no strong relationship which means the higher concentration of Jarak Cina nanospray gel has no effect on the amount of fibroblast and angiogenesis. **Conclusion:** giving SAYNA as ulcer therapy has an effect on the amount of fibroblasts and angiogenesis in each treatment and produced effective formula of Jarak Cina nanospray gel with concentration of 1%.*

Keywords: *Angiogenesis, Fibroblast, Jarak Cina nanospray gel, Ulceration*

PENDAHULUAN

Kesehatan merupakan keadaan sejahtera dari badan, jiwadan sosial yang memungkinkan setiap orang hidup produktif secara sosial dan ekonomis¹. Kesehatan rongga mulut salah satu bagian yang sangat penting bagi manusia karena berperan dalam fungsi mastikasi (pengunyahan), fonetik (bicara) dan estetik². Banyak orang yang kurang memelihara kebersihan mulut mereka karena kesibukan dan rutinitas sehari-hari. Hal ini dapat menurunkan daya tahan tubuh serta

dapat menyebabkan terjadinya sariawan³. Sariawan atau ulserasi dalam bahasa medis dapat didefinisikan inflamasi pada mukosa rongga mulut; seperti pipi, gusi, lidah, bibir dan dasar mulut⁴. Prevalensi terjadinya ulserasi pada rongga mulut diperkirakan mencapai lebih dari 25% dari populasi di seluruh dunia⁵.

Selama ini, pengobatan yang sering dilakukan pada ulserasi yaitu dengan aplikasi kortikosteroid secara topikal dan obat kumur. Namun, penggunaannya berefek kandidiasis *oral* dan mengubah kondisi flora normal pada

rongga mulut⁶. Obat kumur yang mengandung alkohol terbukti menimbulkan sensasi terbakar ketika berkontak dengan mukosa dan rasakering pada mukosa mulut².

Salah satu tanaman herbal yaitu tanaman Jarak Cina (*Jatropha multifida* L) Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dan diketahui adanya kandungan flavonoid, saponin, tanin dan alkanoid pada getah Jarak cina. Flavonoid merupakan salah satu senyawa yang berperan dalam proses penyembuhan luka karena bermanfaat sebagai antiinflamasi serta antimikroba⁷.

Berdasarkan data-data diatas, penulis menawarkan inovasi *nanospray* gel getah Jarak Cina (*Jatropha multifida* L.), untuk mempercepat proses penyembuhan ulserasi mukosa dengan efek samping minimal dan mudah di aplikasikan pada rongga mulut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas getah jarak cina yang di tandai dengan adanya peningkatan sel fibroblas dan angiogenesis.

METODE

Penelitian dilakukan menggunakan eksperimen murni secara *in vivo* dengan rancangan *Randomized Post Test Only Control Group Design* di laboratorium FKG UB. Hewan coba sebanyak 28 ekor tikus jantan jenis *Rattus norvegicus* dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan. Kontrol positif (K+) tikus diulserasi dan tidak diberikan *nanospray* gel getah jarak cina, kelompok P1 tikus diulserasi diberikan *nanospray* gel getah jarak cina 1%, kelompok P2 tikus diulserasi diberikan *nanospray* gel getah jarak cina 3%, dan kelompok P3 tikus

diulserasi diberikan *nanospray* gel jarak cina 5%.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah *nanospray* gel getah jarak cina. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah sel fibroblas dan angiogenesis ulser tikus. Variabel kontrol dalam penelitian ini antara lain hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar, jenis makanan dan minuman yang sama, teknik ulserasi hewan coba, getah dan proses pembuatan nanogelnya, lingkungan kandang dan kriteria ruangan yang cukup udara dan cahaya, jauh dari kebisingan serta tidak terpapar sinar matahari secara langsung.

Tikus diadaptasikan dalam kandang kurang lebih selama 1 minggu pada temperatur konstan (20-25°C) dengan 12 jam siklus terang gelap untuk proses aklimatisasi. Tikus dipelihara dalam box plastik berukuran 15 x 30 x 42 cm³ yang ditutup dengan kawat kassa dengan dasar sekam yang diganti setiap 2 hari sekali. Selama proses tersebut, kebutuhan makan dan air putih mentah untuk minum dijaga dan dipenuhi. Pembuatan Nanogel Getah Jarak Cina Getah jarak cina didapatkan dari pengambilan langsung dari tanaman jarak Cina di sekitar Malang Kota dan Kabupaten. Pengambilan getah jarak cina dengan cara menyayat batangnya dan saat getah keluar ditampung pada botol kecil berwarna gelap yang sebelumnya sudah dibungkus dengan aluminium foil. Didapatkan getah jarak cina sebanyak 100 mL. Getah di *freeze dry* untuk mengurangi kadar air dalam getahnya dan diukur sebanyak 75 mL. Cara pembuatan nanogel getah jarak cina yaitu karbopol 940 dikembangkan dalam aquadest sebanyak 20 kali berat dari karbopol 940 di dalam lumpang

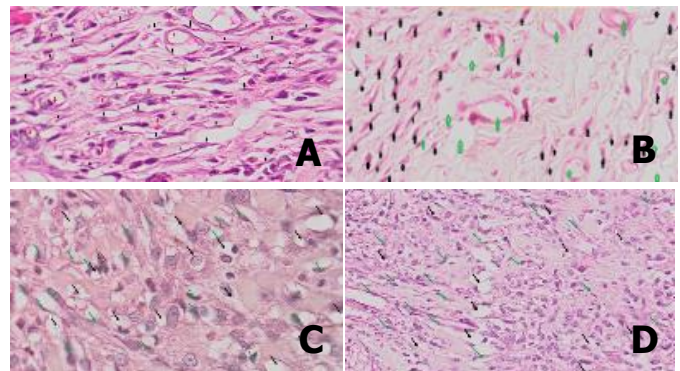
dan alu, lalu digerus hingga terbentuk dispersi yang homogen. Setelah mengembang ditambahkan natrium metabisulfit, metil parabenden propil paraben yang telah dilarutkan di dalam gliserol hingga homogen. Kemudian ditambahkan getah jarak cina hingga mencapai konsentrasi 1%, 3% dan 5%, dan ditambahkan aquadest sampai volume yang diinginkan dengan pengadukan perlahan secara kontinyu sampai membentuk gel yang homogen. Penambahan TEA tetes demi tetes hingga tercapai pH yang diinginkan (pH normal 6-7). Gel disimpan dalam gelas beker dan ditutup dengan *plastic wrap* untuk menjaga kandungan flavonoidnya tetap stabil. Selanjutnya gel disonifikasi.

Pembuatan Ulser pada Tikus dimulai dengan anastesi *ketamine* 0,2 ml (10mg/kgBB) secara intramuscular. Ulser traumatik dibuat dengan cara induksi panas, yakni menggunakan ujung cement stopper berdiameter 4mm yang dipanaskan dengan bunsen selama 10 detik atau sampai warna *cement stopper* berubah merah, kemudian ditempelkan pada mukosa labial rahang bawah tikus putih selama 4 detik untuk membentuk ulser. Kemudian jaringan luka dibiarkan selama 24 jam atau sampai terbentuk ulser. Ulser yang sudah terbentuk ditandai adanya daerah eritema. Pemberian Nanogel Getah Jarak Cina pada kelompok P1, P2 dan P3 dengandiaplikasikan pada ulser 2x sehari setiap 12 jam selama 5 hari.

Dekaputatifik dilakukan dengan memberikan anastesi menggunakan ketamin dosis letal injeksi intramuskular. Tikus disayat bagian mandibula dan diambil mukosa labial yang terdapat daerah ulser. Sampel diletakkan

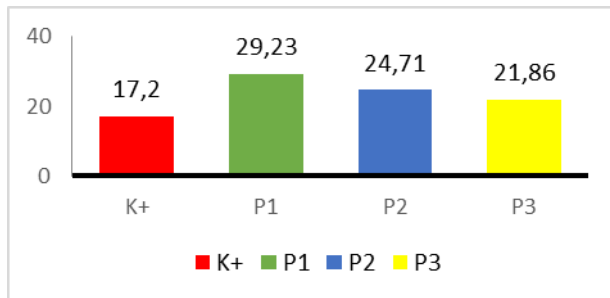
pada wadah plastik kecil berisi formalin 10% kemudian dikirimkan ke Lab Patologi Anatomi FKUB untuk dibuatkan preparat dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin*. Preparat diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x untuk penghitungan angiogenesis dan fibroblas. Satu *slide* preparat terdiri atas 2-3 sayatan/ulangan. Dari 3 sayatan/ulangan pada *slide* preparat, dipilih 1 sayatan yang paling baik kemudian dilakukan penghitungan jumlah sel oleh pengamat pada 3 lapangan pandang yang diambil secara acak⁸.

HASIL PENELITIAN



Gambar 1. Gambaran histologi sel fibroblas dan angiogenesis menggunakan mikroskop Olympus perbesaran 400x. Tanda panah hitam adalah fibroblas, tanda panah hijau adalah angiogenesis. (A) Kelompok K+, (B) Kelompok P1, (C) Kelompok P2, (D) histologi sel fibroblas yang berada di jaringan ikat, memiliki karakter sel berwarna merah, berinti lonjong dengan warna kebiruan dan memiliki banyak cabang sitoplasma yang irregular. Sel angiogenesis berupa neokapiler bulatan berbatas jelas, lumennya berwarna putih terisi bulatan kecil berwarna merah dibagian tengahnya yaitu sel darah merah atau

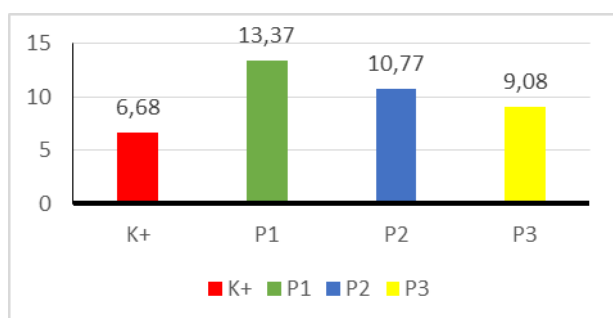
eritrosit, dan terlihat gambaran inti dibagian tepi berwarna ungu.



Gambar 2. Diagram Rata-rata Sel Fibroblas

Gambar 2 menunjukkan bahwa jumlah sel fibroblas kelompok P1 lebih tinggi dibandingkan K+, P2 dan P3. Jumlah sel fibroblas P2 lebih rendah dari P1 tetapi lebih tinggi dari K+ dan P3. Jumlah sel fibroblas kelompok P3 lebih tinggi dari K+ tetapi lebih rendah dari P1 dan P2.

Uji homogenitas didapatkan nilai signifikansi 0,292 artinya data homogen dan uji normalitas didapatkan nilai 0,909 artinya data berdistribusi normal. Uji *One Way* ANOVA diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,000 yang berarti terdapat perbedaan signifikan pada jumlah sel fibroblas tiap perlakuan. Uji korelasi pearson didapatkan nilai signifikansi 0,299, tidak ada korelasi yang signifikan terhadap konsentrasi tiap kelompok perlakuan.



Gambar 3. Diagram Rata-rata Sel Angiogenesis

Gambar 3 menjelaskan bahwa jumlah sel angiogenesis kelompok P1 lebih tinggi dibandingkan K+, P2 dan P3. Jumlah sel fibroblas P2 lebih rendah dari P1 tetapi lebih tinggi dari K+ dan P3. Jumlah sel fibroblas kelompok P3 lebih tinggi dari K+ tetapi lebih rendah dari P1 dan P2.

Uji homogenitas didapatkan nilai signifikansi 0,202 artinya data homogen dan uji normalitas didapatkan nilai 0,195 artinya data berdistribusi normal. Uji *One Way* ANOVA diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,001 yang berarti terdapat perbedaan signifikan pada jumlah sel fibroblas tiap perlakuan.

Uji korelasi pearson didapatkan nilai signifikansi 0,452 yang berarti tidak terdapat hubungan signifikan antara konsentrasi tiap kelompok perlakuan.

PEMBAHASAN

Penelitian ini mengamati jumlah sel fibroblas dan angiogenesis pada tikus yang diberikan ulserasi. Rata-rata jumlah sel fibroblas dan angiogenesis tertinggi terdapat pada kelompok P1 (kelompok dengan pemberian konsentrasi 1%), sedangkan rata-rata jumlah sel fibroblas dan angiogenesis yang terendah terdapat pada kelompok K+ (kelompok tanpa pemberian gel). Peningkatan jumlah sel fibroblas menunjukkan terjadinya kemajuan penyembuhan luka. Kandungan getah jarak cina yaitu tanin, flavonoid dan saponin memiliki efek penyembuhan terhadap luka sebagai antiinflamasi sekunder⁹. Flavonoid berperan sebagai vasodilator untuk memperlancar aliran darah, tanin berperan sebagai antiseptik, serta kandungan saponin dapat memicu kolagen¹⁰. Flavonoid ini yang berperan dalam

mengaktivasi pemberian sinyal intraseluler yang penting dalam proliferasi sel fibroblas sehingga mempengaruhi proses peningkatan proliferasi sel fibroblas¹¹.

Fibroblas dan angiogenesis banyak ditemukan pada penyembuhan ulser hari ke-5 karena pada saat itu terjadi fase proliferasi. Fase proliferasi terjadi pada hari ke-3 sampai ke-21. Fase ini merupakan gabungan dari angiogenesis, formasi jaringan granulasi, deposisi kolagen, epitelisasi, dan terjadi kontraksi luka. Angiogenesis dipicu saat hemostatik telah dibentuk. Awalnya pusat luka relatif avaskular, karena hanya mengandalkan difusi dari kapiler yang rusak di tepi luka. Proses angiogenesis menghasilkan jaringan pembuluh darah kapiler baru yang berasal dari cabang pembuluh darah yang sehat¹².

Fibroblas juga muncul bermakna pada hari ke-3 hingga mencapai puncak pada hari ke-7. Peningkatan jumlah fibroblas pada luka merupakan kombinasi proliferasi dan migrasi. Hari ke-5 rongga insisi terisi penuh jaringan granulasi, dan neovaskularisasi mencapai puncak. Serat kolagen bertambah, ketebalan epidermis mencapai normal disertai keratinisasi permukaan kulit. Minggu ke-2 terjadi akumulasi kolagen dan proliferasi fibroblas. Sudah tidak ada infiltrat leukosit, edema, dan neovaskularisasi. Kolagen yang mulai tampak pada hari ke-3 mengalami peningkatan pada minggu ke-2 dan menetap hingga 3 bulan. Pada akhir bulan pertama, jaringan parut terdiri dari jaringan ikat seluler yang tidak mengandung infiltrat peradangan dan ditutup oleh epidermis yang utuh¹³.

Pembahasan diatas memperkuat bahwa hipotesis penelitian ini diterima yaitu

terdapat pengaruh signifikan pada jumlah fibroblas dan angiogenesis tiap kelompok tikus ulserasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat diperoleh kesimpulan bahwa:

1. Terdapat pengaruh pemberian gel getah jarak cina (*Jatropha multifida Linn*) terhadap jumlah angiogenesis dan fibroblas pada ulserasi tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Ulserasi tikus putih pada hari ke 5 tanpa pemberian getah jarak cina memiliki jumlah rata-rata fibroblas 17,2 dan jumlah rata-rata angiogenesis 6,68.
3. Ulserasi tikus putih pada hari ke 5 dengan pemberian getah jarak cina sebesar 1% memiliki jumlah fibroblas rata-rata 29,23 dan jumlah rata-rata angiogenesis 13,37.
4. Ulserasi tikus putih pada hari ke 5 dengan pemberian getah jarak cina sebesar 3% memiliki jumlah fibroblas rata-rata 24,71 dan jumlah rata-rata angiogenesis 10,77.
5. Ulserasi tikus putih pada hari ke 5 dengan pemberian getah jarak cina sebesar 5% memiliki jumlah fibroblas rata-rata 21,86 dan jumlah rata-rata angiogenesis 9,08.
6. Terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah fibroblas dan angiogenesis tiap kelompok.

DAFTAR PUSTAKA

1. Adliyani, ZON. *Pengaruh Perilaku Individu terhadap Hidup Sehat*. Journal Majority. 2015; 4(7): 109.
2. Duarte T.L., Cooke M. S., and Jones G.D.D. *Gene Expression Profiling Reveals New Protective Roles for Vitamin C in Human Skin Cells*. Free Radical Biology and Medicine. 2009; 46 : 78-87.
3. Suhartini. *Fisiologi Pengunyahan pada Sistem Stomatognati*. Stomatognathic (J.K.G UNEJ). 2011; 8(3) : 122-126.
4. Yogasedana, I. M. A., Ni Wayan Mariatidan Michael A.Leman. *Angka Kejadian Stomatitis Aphthosa Rekuren (SAR) Ditinjau dari Faktor Etiologi di RSGMP FK UNSRAT*. Jurnal e-GiGi (eG). 2015; 3(2).
5. Maya J.Marison. *Manajemen Luka*. Jakarta: EGC; 2004.
6. Lewis A.O. Michael and Richard C.K. Jordan. *Penyakit Mulut Diagnosis dan Terapi Edisi 2*. Jakarta: EGC; 2012.
7. Hariana, Arief. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Jakarta: Penebar Swadaya. 2013.
8. Saleh, Suparyono, Iwan Dwi Prahasto, Munakhir Mudjosemedi, Ika Dewi Ana. *Pengaruh Risedronate Bisphosphonate terhadap Enzim Trap (Ekspresi Osteoklas) di Sekitar Substruktur Implan Gigi Endosseous*. Dentika Dental Journal. 2014; 18(1).
9. Rahman, Abdul. *Formulasi Sediaan Gel yang Mengandung Serbuk Getah Tanaman Jarak Cina (Jatropha multifida Linn.) serta Pengujian Aktivasnya Terhadap Luka pada Mencit Galur Swiss Webster*. Skripsi. Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Islam Bandung. 2013.
10. Syarfati, K., K. Eriani, A. Damhoeri. *The Potential of Jarak Cina (Jatropha multifida Linn.) Secretion in Healing New-Wounded Mice*. Jurnal Natural, Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Syiah Kuala. Aceh. 2011; 11(1).
11. Varoni, ME., Lodi, G., Sardella, A., Carassi, A., Iriti, M. *Plant Polyphenols and Oral Health: Old Phytochemicals for New Fields*. Journal Current Medicinal Chemistry. 2012; 19(11).
12. Young A and Mcnaught C.E. *The Physiology Of Wound Healing, Protein, Surgery*. Oxford; 2011; 13(1): 31-34.
13. Basuki S., Mintaroem K., Sarwono I., dkk. *Dasar-Dasar Patologi Umum dan Pemeriksaan Patologi*. Edisi 1. Malang: Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya; 2015; h. 49-56.