

Pengaruh Ekstrak Kembang Sepatu (*Hibiscus Rosa-Sinensis*L.) terhadap Jumlah Sel fibroblast dan Angiogenesis pada Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi Tikus Putih (*RattusNorvegicus*)

The Effect of Kembang Sepatu Extract (*Hibiscus Rosa-Sinensis*L.) To the Quantity of Fibroblast Cell and Angiogenesis On the healing of White Mouse (*Rattus Norvegicus*) Tooth Extraction

Kusumastuti Endah¹, Restuti Deno², Kusumawardani Baiq Y.³
Prodi Profesi FKG,IJK Bhakti Wiyata Kediri

Info Artikel

Sejarah Artikel :
Submitted: 26
November 2019
Accepted: 6
Januari 2020
Publish Online:
24 Januari 2020

Abstrak

Latar belakang Proses proliferasi ditandai dengan terbentuknya fibroblast dan angiogenesis. Salah satu tanaman yang berkhasiat untuk mempercepat penyembuhan luka adalah Kembang Sepatu. **Tujuan** penelitian ini untuk melihat jumlah fibroblast dan angiogenesis pasca pencabutan gigi yang diberi ekstrak Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.). Metode penelitian dilakukan pada 52 tikus putih jantan yang dibagi menjadi empat kelompok, yakni kelompok kontrol (CMC) dan kelompok perlakuan (ekstrak mahkota Kembang Sepatu 25%, 50%,100%). Sebanyak 28 tikus dikorbankan pada hari ketiga, dan 24 tikus pada hari kelima, selanjutnya jaringan soket diambil dan diproses secara histologis dengan pewarnaan HE untuk mengamati jumlah fibroblast dan angiogenesis. Hasil analisis data dengan uji *Annova* didapatkan pada hari ke-3 $p<0.05$ dan hari ke-5 $p<0,05$ artinya ada perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan **Kesimpulan:** jumlah fibroblast dan angiogenesis pada kelompok perlakuan lebih banyak dibandingkan kelompok kontrol.

Kata Kunci:

Keywords:

Ekstrak kembang sepatu, jumlah sel fibroblast, angiogenesis

Keywords:

Hibiscus Extract,
Fibroblast
Quantity,
Angiogenesis

Abstract

Background: The proliferation process is shown by the development of fibroblast and angiogenesis. One of the plants that have the property to enhance healing process is hibiscus. **Objective:** This research aimed to observe the quantity of fibroblast and angiogenesis post tooth extraction which treated with hibiscus extract (*Hibiscus rosa-sinensis* L.). The research methods were done to 52 male white mouse that grouped into four, which are one control group (CMC) and three intervention group (extract hibiscus crown 25%, 50%, and 100%). As much as 28 mice were sacrificed on the third day and 24 mice were sacrificed on the fifth day, then socket tissues were extracted and processed histologically with the addition of HE colouring to observe the quantity of fibroblast and angiogenesis. The data results were analysed using *Annova* test which was obtained in the third day $p<0.05$ and the fifth day $p<0.05$ which means there was a significant difference between control group and the intervention group. **Conclusion:** The quantity of fibroblast and angiogenesis in the intervention group was higher compared to the control group.

PENDAHULUAN

Pencabutan gigi merupakan suatu tindakan pengambilan gigi dari soketnya dan sering dilakukan pada gigi yang rusak karena infeksi bakteri, trauma, penyakit tertentu yang tidak memungkinkan untuk dilakukan perawatan, atau adanya ketidak normalan posisi tumbuh gigi (impaksi) sehingga sering menimbulkan gangguan (Pedlar *et al.*, 2007). Tubuh memiliki kemampuan secara seluler dan biokimia untuk memperbaiki integritas jaringan dan kapasitas fungsional akibat adanya luka, yang biasa disebut proses penyembuhan luka atau *wound healing*. Proses penyembuhan luka terdiri dari 3 fase. Tahap yang pertama adalah fase inflamasi, tahap yang kedua adalah fase proliferasi, sedangkan tahap yang terakhir adalah maturasi (Kumar *et al.*, 2007). Pembentukan fibroblast dan proses angiogenesis merupakan bagian proses penyembuhan luka yang berperan pada fase proliferasi (Orsted *et.al.*, 2009)

Fibroblas merupakan salah satu komponen penyembuh luka berupa sel yang terdistribusi secara luas di jaringan ikat, memproduksi substansi precursor kolagen, serat elastis, dan serat retikuler. Pada saat jaringan mengalami peradangan, fibroblas akan segera bermigrasi ke arah luka, berproliferasi dan memproduksi matriks ekstraseluler kolagen untuk memperbaiki jaringan yang rusak (Gurtner, 2007). Peran fibroblas sangat besar pada proses penyembuhan luka yaitu pada proses perbaikan jaringan, bertanggung jawab pada persiapan menghasilkan produk struktur protein yang akan digunakan selama proses rekonstruksi jaringan. Fibroblas akan aktif bergerak dari jaringan sekitar luka ke dalam daerah luka, kemudian akan berkembang (proliferasi) serta mengeluarkan beberapa substansi (kolagen, elastin, *hyaluronic acid*, fibronectin dan proteoglikan) yang berperan dalam membangun (rekonstruksi) jaringan baru. Proses proliferasi fibroblas dengan aktifitas sintetiknya disebut fibroblasia. Respons yang dilakukan fibroblas terhadap proses fibroplasia adalah proliferasi, migrasi, deposit jaringan matriks, dan kontraksi luka (Orsted et al.,2009). Angiogenesis adalah proses pembentukan pembuluh darah baru melalui tunas sel endotel yang berasal dari pembuluh darah yang sudah ada atau melalui subdivisi intravaskuler (intususepsi) (Ruddy & John., 2011 ; Folkman & Shing ,2008)

Angiogenesis merupakan salah satu faktor yang penting dalam proses penyembuhan luka. Proses ini merupakan proliferasi endotel terus menerus membentuk jaringan vaskuler. Pembuluh darah merupakan suatu jaringan yang dilapisi oleh sel endotel yang akan berinteraksi dengan faktor peradangan dan angiogenik. Faktor angiogenik berupa faktor pertumbuhan kemudian berikatan dengan reseptor yang spesifik terdapat pada reseptor sel endotel disekitar lokasi pembuluh darah lama. Faktor angiogenik berikatan dengan reseptornya, sel endotel akan teraktivasi dan menghasilkan signal, yang kemudian dikirim dari permukaan sel ke nukleus. Organel-organel sel endotel kemudian mulai memproduksi molekul baru, antara lain adalah enzim protease yang berperan penting dalam degradasi matriks ekstraseluler untuk mengakomodasi percabangan pembuluh darah (Leong & Phillips, 2012 ; Gasparani , 2000). Penyembuhan luka dipengaruhi oleh banyak faktor termasuk jenis obat-obatan yang digunakan. Penggunaan obat-obatan untuk penyembuhan luka dapat dilakukan dengan berbagai macam dan jenis, salah satunya adalah penggunaan obat herbal. Penggunaan atau pengobatan menggunakan herbal semakin disukai karena pada umumnya lebih sedikit menimbulkan efek samping dibandingkan dengan obat-obatan dari bahan kimia (Hariana, 2009; Priosoeryono, 2008).

Kembang Sepatu merupakan tumbuhan asli daerah tropis di dataran Asia. Senyawa mahkota bunga Kembang Sepatu yang berperan terhadap penyembuhan luka adalah asam askorbat, flavonoid (*quarctin*), saponin dan tanin. Flavonoid (*quarctin*) merupakan senyawa yang paling banyak ditemukan pada mahkota bunga Kembang Sepatu (Dalimartha, 2000) Berdasarkan latar belakang di atas, dilakukan penelitian tentang Pengaruh Ekstrak mahkota Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa sinensis L*) pada luka pencabutan gigi terhadap peningkatan jumlah sel fibroblas dan jumlah angiogenesis dengan konsentrasi yang berbeda, yaitu 25%, 50% dan 100%. Penelitian dilakukan pada hari ke-3 dan hari ke - 5 setelah perlakuan, karena pada hari tersebut merupakan awal munculnya fibroblas dan proses angiogenesis.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *Experimental Laboratories*, dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya dan Balai Penelitian Dan Konsultasi Industri Surabaya.

Sampel dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dengan berat badan 200-300 gram dan umur 3 bulan. Penelitian ini menggunakan beberapa kelompok sampel antara lain: Kelompok yang tidak diberi ekstrak mahkota bunga Kembang Sepatu dan hanya diberi larutan CMC Na 3%, kelompok yang diberi ekstrak mahkota bunga Kembang Sepatu dengan konsentrasi 25%, 50% dan 100%.

Pembuatan ekstrak bunga Kembang Sepatu diawali dengan identifikasi tanaman. Metode esktraksi yang digunakan adalah maserasi. Bunga Kembang Sepatu yang dipakai dengan kriteria masih segar belum berkembang penuh dan langsung dipergunakan karena mahkota Kembang Sepatu hanya bertahan 1–2 hari. Bunga Kembang Sepatu dikeringkan (dianginkan) di udara terbuka sampai kering dan didapatkan simplisia kering bunga Kembang Sepatu, setelah itu simplisia ditimbang hingga kurang lebih 500 gram. Serbuk simplisia kering direndam dengan etanol 96%, direndam selama 6 jam pertama sambil sekali-sekali di aduk, kemudian diamkan selama 18 jam setelah itu disaring dengan kapas dan kain kasa kemudian kertas saring. Ampas yang didapat kemudian diremaserasi sampai hasil filtrat maserasi mendekati warna pelarut etanol 95%. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan *ratory evaporator* pada suhu 50°C.

Pada tahap awal, tikus putih dipelihara di dalam kandang secara kelompok selama 2 minggu untuk adaptasi. Tikus putih dianestesi secara inhalasi dengan eter 10% selama 3 menit. Kemudian gigi insisiv kiri rahang bawah tikus putih dicabut menggunakan tang khusus modifikasi rahang bawah anterior. Setelah itu ekstrak bunga kembang sepatu di aplikasikan kedalam soket, kemudian soket dijahit. Pada tikus putih kelompok pertama, tidak diberikan perlakuan, sebagai kontrol diberikan CMC Na 3%. Pada tikus putih kelompok kedua, dioleskan ekstrak dengan konsentrasi 25%, pada kelompok tikus putih ketiga, dioleskan ekstrak Kembang Sepatu konsentrasi 50%, dan pada kelompok tikus putih keempat, dioleskan ekstrak dengan konsentrasi 100%. Pemberian ekstrak dilakukan 1 kali sehari sebanyak 2 ml. 28 Tikus putih dikorbankan pada hari ketiga untuk mengamati jumlah fibroblast, 24 tikus dikorbankan pada hari kelima untuk mengamati jumlah angiogenesis.

Pembuatan sediaan histologi diawali dengan pemotongan jaringan dengan ketebalan 2-3 mm, dan difiksasi ke dalam formalin buffer 10% selama 48 jam. Potongan jaringan didehidrasi menggunakan alkohol, dalam tiga tempat, masing-masing 2 jam. Setelah itu, dilakukan pembersihan (*clearing*) dengan xylol, dalam tiga tempat masing-masing 1 jam. Kemudian dilakukan pembenaman (*embedding/impregnasi*), yaitu merendam sampel ke dalam larutan paraffin, yang sudah cair dengan suhu 60°-70°C, dalam tiga tempat masing-masing 2 jam. Selanjutnya, dilakukan *blocking* atau pencetakan (*Block-Paraffin*), jaringan dimasukkan ke dalam alat pencetak berisi paraffin cair. Setelah mulai membeku, didinginkan pada suhu ± -5°C. Pemotongan blok dilakukan dengan microtome (*820-Reichertretjung*), dengan ketebalan 3-5 µm dan panjang 2 cm. Setelah itu, hasil pemotongan paraffin yang berisi jaringan dimasukkan ke dalam *water bath* (*Gollenhamp*), pada suhu 40°-45°C. Potongan paraffin diambil dengan menggunakan kaca objek, kemudian dipanaskan dalam *hot plate* (*Heraeus type B5050*), selama 15 menit.

Kaca objek yang berisikan potongan *paraffin* dan jaringan yang sudah kering, diwarnai dengan pewarnaan rutin HE. Proses pewarnaan (*staining*) diawali dengan perendaman kaca objek di dalam larutan *xylol*, dalam tiga tempat, masing-masing 10-15 menit. Selanjutnya dicuci dengan alkohol, mula-mula 70%, 80% dan 90% agar dehidrasi. Setelah itu, dicuci dengan air mengalir, untuk mengeluarkan sisa alkohol. Kemudian, dimasukkan kedalam larutan *Hematoksilin* selama 2-3 menit untuk mewarnai inti sel dan didiamkan dalam air mengalir, sampai terlihat berwarna biru/ungu. Selanjutnya dilakukan perendaman ke dalam zat warna *Eosin*, selama 2-3 menit. Dilakukan perendaman dengan alkohol 70%, 80%, dan 90%, kemudian rendam dalam larutan *xylol* dikeringkan di udara. Kaca objek ditutup dengan *cover glass*, dan direkatkan dengan *Canada Balsam*.

Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x menggunakan pengukur *graticule*. Perhitungan jumlah angiogenesis pada tiap preparat secara sistematis dimulai dari pojok kiri kemudian digeser kekanan dan ditarik ke atas demikian seterusnya sehingga semua lapang pandang terbaca, dilanjutkan pada potongan kedua dan ketiga. Kemudian dihitung jumlah rata-rata makrofag tiap sampel ditentukan dengan menghitung jumlah rata-rata makrofag dari tiga potongan jaringan tersebut.

Data hasil penelitian ini dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk* dan di uji *Levenue* untuk menguji homogenitasnya. Data penelitian yang terdistribusi normal ($p > 0,05$), dilanjutkan dengan uji parametrik menggunakan *Anova* dan bila ada perbedaan dilanjutkan dengan uji *LSD* (*Least Significance Difference*).

HASIL PENELITIAN

1. Jumlah Fibroblast

Berdasarkan penelitian yang dilakukan didapatkan hasil seperti pada tabel dibawah ini.

Tabel 1. Jumlah sel fibroblast dengan pemberian ekstrak Kembang Sepatu

Kelompok	Rerata	Standar Deviasi
Kontrol	269,29	± 69,9
25%	334,29	±107,8
50%	484,71	± 58,38
100%	541,86	± 130,67

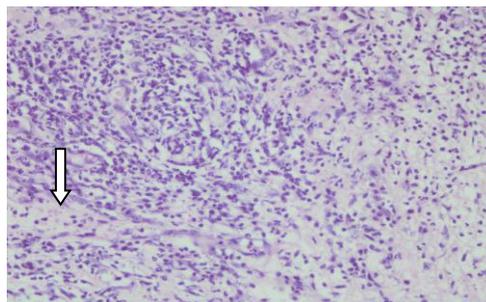
Kelompok yang memiliki rerata jumlah sel fibroblas yang paling tinggi adalah kelompok dengan pemberian ekstrak mahkota bunga Kembang Sepatu 100% dengan jumlah sel fibroblas 541,86. Kelompok yang memiliki rerata jumlah sel fibroblas yang paling sedikit adalah pada kelompok kontrol dengan rerata jumlah sel fibroblas sebesar 269,29. Selanjutnya dilakukan uji statistika untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak mahkota bunga Kembang Sepatu terhadap peningkatan jumlah sel fibroblas. Uji statistik yang digunakan adalah uji *One way anova* dimana asumsi yang harus dipenuhi data berdistribusi normal (uji normalitas) dan varian data homogen (uji homogenitas). Hasil uji kenormalan data dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk* menghasilkan nilai *signifikan* pada setiap kelompok lebih besar daripada tingkat kesalahan penelitian yang digunakan yaitu 5% (0.05), sehingga kesimpulan yang dapat diambil adalah data telah memenuhi asumsi kenormalan data. Uji asumsi yang kedua yang harus dipenuhi adalah varian data harus homogen. Untuk melihat apakah varian data homogen, digunakan uji *levene's test*. Nilai signifikan uji *levene's test* yang dihasilkan sebesar 0.089, nilai ini lebih besar dari 0.05 sehingga dapat ditarik suatu kesimpulan bahwa varian data setelah dilakukan transformasi telah homogen. Hasil uji normalitas dan homogenitas telah memenuhi asumsi uji *One Way Anova* maka uji *One Way Anova* bisa dilakukan.

Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan Nilai signifikan sebesar 0.000, nilai ini lebih kecil dari 0.05 sehingga dapat ditarik suatu kesimpulan bahwa ada pengaruh pemberian ekstrak mahkota bunga Kembang Sepatu terhadap peningkatan jumlah sel fibroblas. Untuk mengetahui kelompok yang memberikan pengaruh, uji statistika dilanjutkan dengan uji Least Signifikan Different (LSD) dengan hasil disajikan pada tabel di bawah ini.

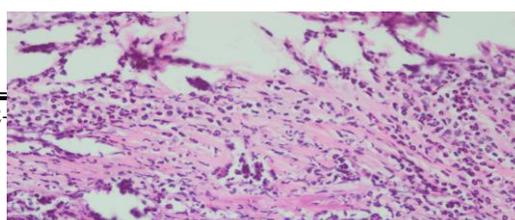
Tabel 2 Uji LSD jumlah fibroblast dengan pemberian ekstrak kembang sepatu

	Kontrol	25%	50%	100%
Kontrol	-	0.168	0.00*	0.00*
25%	0.168	-	0.008*	0.002*
50%	0.000*	0.008*	-	0.533
100%	0.000*	0.002*	0.533	-

Berdasarkan hasil uji LSD diatas, dapat ditarik suatu kesimpulan bahwa kelompok ekstrak mahkota bunga Kembang Sepatu konsentrasi 50%, secara statistik memiliki jumlah sel fibroblas yang sama dengan kelompok ekstrak mahkota bunga Kembang Sepatu konsentrasi 100% karena nilai signifikan (0.533) lebih besar dari 0.05.

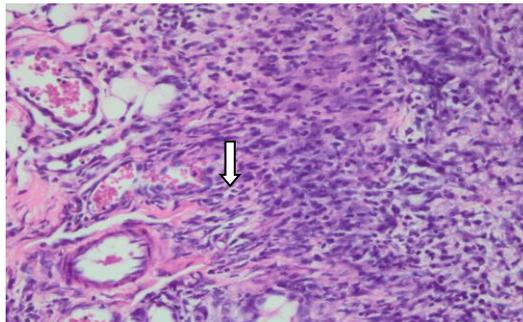


Gb.1 Gambaran Mikroskopik sel fibroblas, kelompok kontrol dg pembesaran 400X

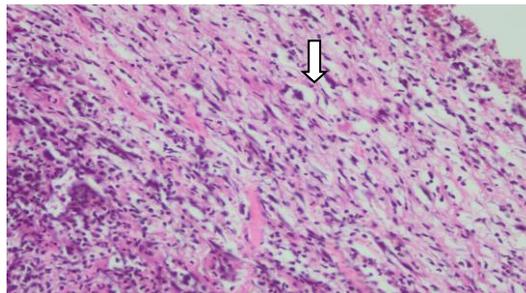




Gb.2 Gambaran Mikroskopik sel fibroblas, kelompok Perlakuan 1 dengan pembesaran 400X



Gb.3 Gambaran Mikroskopik sel fibroblas, kelompok Perlakuan 2 dengan pembesaran 400X



Gb.4 Gambaran Mikroskopik sel fibroblas, kelompok perlakuan 3 dengan pembesaran 400X

2. Jumlah Angiogenesis

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil seperti pada tabel1.

Tabel 3. Jumlah Rata-rata Angiogenesis dengan pemberian ekstrak kembang sepatu

	Rata-rata	Kelompok
Kontrol	31.11	2.39
25%	42.89	1.66
50%	59.5	3.79
100%	66.83	3.79

Tabel 3 menunjukkan ekstrak bunga kembang sepatu 100% memiliki rata-rata jumlah angiogenesis yang paling besar yaitu 66.83 dengan standar deviasi 3.79. Pada penelitian ini kelompok kontrol memiliki rerata jumlah angiogenesis yang paling sedikit dibandingkan dengan kelompok yang lain. Apabila diperhatikan dari nilai rata-rata jumlah angiogenesis setiap kelompok, dapat dilihat bahwa ada kenaikan rata-rata jumlah angiogenesis ketika konsentrasi ekstrak bunga kembang sepatu ditingkatkan.

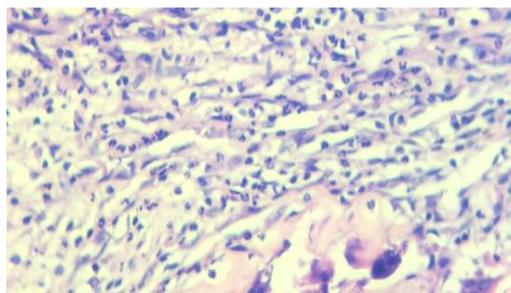
Pada uji normalitas *Shapiro Wilk* menunjukkan data yang di uji terdistribusi normal karena nilai signifikan yang dihasilkan lebih besar dari 0.05, sehingga dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal. Uji asumsi yang kedua adalah uji kehomogenan varian data dengan menggunakan uji *Levene's test*. Pada uji homogenitas menunjukkan nilai $p > 0.05$ sehingga dapat disimpulkan data tersebut memiliki varian data yang homogen. Selanjutnya dilakukan uji *One Way Anova* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan jumlah angiogenesis dengan pemberian ekstrak kembang sepatu. Hasil uji *One Way Anova* menghasilkan nilai sig sebesar 0.000. Nilai ini lebih kecil dari 0.05 ($P < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak bunga kembang sepatu berpengaruh terhadap jumlah angiogenesis pada penyembuhan luka. Selanjutnya dilakukan uji *Least Significant Difference (LSD)* untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai beda signifikan.

Tabel 4. Uji LSD jumlah angiogenesis dengan pemberian ekstrak kembang sepatu

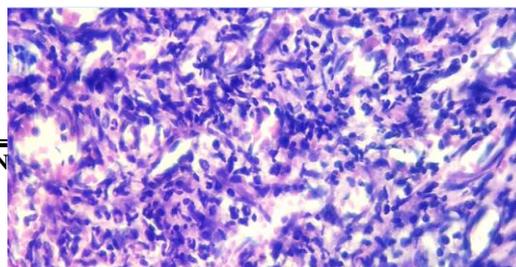
	Kontrol	25%	50%	100%
Kontrol	-	0.000	0.000*	0.000*
25%	0.000	-	0.001*	0.000*
50%	0.000*	0.000*	-	0.00*
100%	0.000*	0.000*	0.000*	-

Uji *Least Significant Difference (LSD)* menunjukkan bahwa semua kelompok memiliki perbedaan jumlah angiogenesis karena nilai sig. kurang dari 0.05 ($P < 0,05$). Hasil uji LSD ini, diketahui bahwa ekstrak bunga kembang sepatu berpengaruh terhadap jumlah angiogenesis dengan pengaruh paling besar yaitu pada kelompok yang diberi ekstrak 100%.

Gambar dibawah menunjukkan adanya perbedaan jumlah angiogenesis, yakni pada kelompok kontrol terlihat jumlah angiogenesis lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan 100% terdapat jumlah angiogenesis yang paling banyak dibandingkan dengan kelompok perlakuan 25% dan 50%.

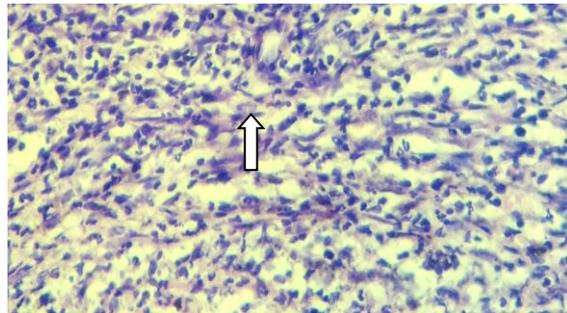


Gambaran 5. Mikroskopik Jumlah Angiogenesis pada Kelompok Kontrol (Pembesaran 400x)

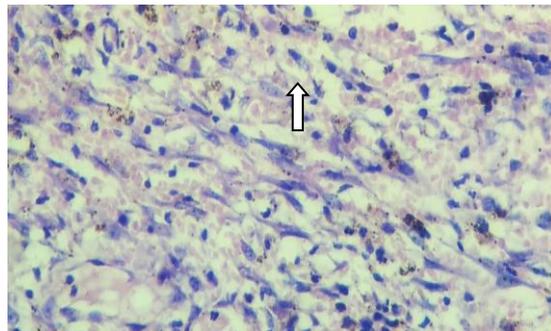




Gambaran 6. Mikroskopik Jumlah Angiogenesis pada Kelompok 25% (pembesaran 400x)



Gambaran 7. Mikroskopik Jumlah Angiogenesis pada Kelompok 50% (Pembesaran 400x)



Gambaran 8 Mikroskopik Jumlah Angiogenesis pada Kelompok 100% (Pembesaran 400x)

PEMBAHASAN

Berdasarkan tabel 1. hasil menunjukkan perhitungan jumlah sel fibroblas pada konsentrasi 25% tidak jauh berbeda dengan kelompok kontrol, pada konsentrasi 50% terlihat lebih banyak dari kelompok kontrol dan konsentrasi 25%, serta pada konsentrasi 100% jumlah sel fibroblas lebih banyak dari kelompok kontrol, 25% dan 50%. Peningkatan jumlah sel fibroblas tersebut kemungkinan disebabkan karena kandungan zat aktif yang terdapat dalam ekstrak mahkota bunga Kembang Sepatu seperti, Flavonoid (quarsetin), Saponin, Tanin, Asam askorbat.

Potensi ekstrak mahkota bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus Rosa-Sinensis* L) disebabkan karena beberapa bahan kimia alami yang terkandung di dalamnya antara lain, asam askorbat, Flavonoid (quarsetin), Saponin dan Tanin. Saponin dapat meningkatkan kepadatan fibroblas dengan adanya sintesis, sekresi, dan aktivasi TGF- β yang berperan dalam proses penyembuhan luka, saponin juga sebagai antiinflamasi mampu menghambat enzim siklooksigenase dan

lipooksigenase, mengakibatkan migrasi sel radang ke area luka akan berkurang yang proses penyembuhan pada tahap inflamasi dipersingkat, sehingga dapat segera memasuki fase proliferasi. Tanin berpotensi membantu proses penyembuhan luka melalui beberapa mekanisme seluler, di antaranya: menangkal radikal bebas dan meningkatkan oksigenasi, meningkatkan pembuluh darah dan fibroblas, deposisi kolagen, pembentukan jaringan granulasi, epitelisasi, dan meningkatkan kontraksi luka melalui sifat astringent yang dimilikinya. Secara tidak langsung berarti tanin mempengaruhi kepadatan kolagen, melalui mekanismenya meningkatkan jumlah fibroblas karena fibroblas bertugas mensintesis kolagen (Nayak and Lexley, 2006).

Asam askorbat dapat mengaktifasi pemberian sinyal intraseluler yang berfungsi untuk regulasi proliferasi sel fibroblast (MacKay & Miller, 2003). Jika jalur intraseluler telah aktif, maka sensitivitas sel tertentu seperti sel radang dan endotel teraktivasi sehingga faktor pertumbuhan akan meningkat. *Platelet-derived growth factor* (PDGF), *Transforming growth factor-beta* (TGF- β) dan *Fibroblas growth factor* (FGF) merupakan faktor pertumbuhan yang berperan dalam proliferasi sel fibroblas, sehingga dengan pengaktifan sinyal intraseluler oleh asam askorbat akan merangsang faktor pertumbuhan tersebut untuk proliferasi sel fibroblas (Rinastiti, M. 2003).

Analisa hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna jumlah sel fibroblas antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak mahkota bunga kembang sepatu 25%, hal ini disebabkan konsentrasi yang diberikan terlalu rendah sehingga kandungan zat flavonoid tidak terlalu banyak maka peningkatan fibroblas tidak optimal. Nilai kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak mahkota bunga Kembang Sepatu dengan konsentrasi 50% dan 100% menunjukkan terdapat perbedaan jumlah sel fibroblas yang bermakna, hal ini disebabkan konsentrasi yang diberikan cukup tinggi sehingga kandungan zat flavonoid pada bunga Kembang Sepatu cukup banyak dapat meningkatkan TGF- β yang nantinya akan menstimulasi sel fibroblas, sehingga jumlah sel fibroblas akan bertambah banyak. Senyawa yang terkandung dalam mahkota bunga Kembang Sepatu adalah flavonoid (quarcetin) yang bersifat antiinflamasi, mampu mengatur fungsi sel dengan cara merangsang produksi TGF- β yang dapat meningkatkan kemotaksis dan proliferasi fibroblas di daerah luka dan jumlah sel fibroblas meningkat (Iqbal, M, dan Sulistyorini, E., 2009). Dari uraian di atas diketahui bahwa pemberian ekstrak mahkota bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus Rosa-Sinensis* L) pada luka pencabutan gigi tikus putih dengan konsentrasi 50% sampai dengan 100% lebih meningkat dibandingkan konsentrasi 25%.

Data pada tabel 3 menunjukkan bahwa hasil pengujian statistik untuk hari ke-5 perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) dari jumlah rata-rata angiogenesis untuk keempat kelompok. Tingginya jumlah angiogenesis secara nyata ($P < 0,05$) pada hari ke-5 pada kelompok yang diberi ekstrak bunga kembang sepatu dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Analisa hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna jumlah angiogenesis antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bunga kembang sepatu 25%, hal ini diasumsikan konsentrasi yang diberikan terlalu rendah sehingga kandungan ekstrak bunga kembang sepatu tidak terlalu banyak sehingga peningkatan angiogenesis tidak signifikan. Nilai kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bunga kembang sepatu dengan konsentrasi 50% dan 100% menunjukkan terdapat perbedaan jumlah angiogenesis yang bermakna, hal ini disebabkan konsentrasi yang diberikan lebih tinggi. Zat aktif yang terkandung dalam ekstrak bunga kembang sepatu diduga dapat

mempercepat proses pembentukan pembuluh darah terhadap jaringan luka tikus. Ekstrak dari tumbuhan bunga kembang sepatu mengandung flavonoid, tanin, saponin, asam askorbat, vitamin A dan vitamin C. Komponen ini berperan dalam penyembuhan luka. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa konstituen fitokimia seperti flavanoid menyebabkan kontraksi luka dan meningkatkan epitelisasi (Nayak, 2006).

Flavonoid dan tanin memiliki efek antiinflamasi dengan cara menghambat enzim siklooksigenase dan lipooksigenase pada kaskade inflamasi, sehingga produksi prostaglandin dan leukotrien dapat berkurang. Penekanan prostaglandin sebagai mediator inflamasi dapat menyebabkan berkurangnya nyeri dan pembengkakan, mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dalam aliran darah lokal, sehingga migrasi sel radang akan menurun. Kandungan tanin juga berperan pada mekanisme seluler yaitu membersihkan radikal bebas dan oksigen reaktif, meningkatkan penutupan luka serta meningkatkan pembentukan pembuluh darah kapiler juga fibroblast (Iqbal, M, dan Sulistyorini, E., 2009).

Kandungan asam askorbat menunjang pembentukan kolagen, dimana segera setelah luka, paparan kolagen fibriler ke darah akan menyebabkan agregasi dan aktivasi trombosit dan melepaskan faktor-faktor kemotaksis yang memulai proses penyembuhan luka. Fragmen-fragmen kolagen melepaskan kolagenase leukositik untuk menarik fibroblas ke daerah luka. Selanjutnya kolagen menjadi pondasi untuk matriks ekstraseluler yang baru, sehingga mempercepat pembentukan jaringan granulasi (MacKay & Miller, 2003; Rinastiti, 2003).

Saponin dapat menstimulasi angiogenesis dengan meningkatkan produksi *Vascular endothelial Growth Factor* (VEGF). VEGF merupakan mediator penting dalam pembentukan pembuluh darah. VEGF kemudian meningkatkan aktivitas enzim protease dan migrasi sel endotel. Enzim protease berperan dalam degradasi matriks ekstraseluler untuk percabangan pembuluh darah, setelah itu sel endotel bermigrasi ke matriks ekstraseluler yang telah tergradasi. Proses tersebut kemudian diikuti dengan proliferasi sel endotel yang distimulasi oleh faktor angiogenik. Sel-sel endotel kemudian membentuk rangkaian pembuluh darah (Cotrans dan Kumar, 2005). Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan bahwa konsentrasi 50% dan 100% dapat digunakan untuk meningkatkan jumlah angiogenesis yang kemudian akan berpengaruh terhadap penyembuhan luka pencabutan gigi tikus putih dibandingkan dengan penyembuhan secara alami.

Berdasarkan uraian di atas, ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) berpengaruh terhadap jumlah angiogenesis pada penyembuhan luka pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) ditandai dengan peningkatan jumlah angiogenesis secara histologi. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui konsentrasi optimal ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) pada proses penyembuhan luka pencabutan gigi tikus putih.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak mahkota bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus Rosa-Sinensis* L.) pada luka pencabutan gigi tikus putih (*Rattus Norvegicus*) dapat meningkatkan jumlah sel fibroblas dan angiogenesis pada konsentrasi 50% sampai 100%.

SARAN

Saran pada penelitian ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai konsentrasi optimal dari ekstrak mahkota bunga Kembang Sepatu antara konsentrasi 50% sampai 100% pada proses penyembuhan luka.

Referensi

- Dalimartha, S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia* jilid 2. Jakarta: Trubus Agriwidya. Hal 78 – 84.
- Cotrans, R.S, dan Kumar V,. 2005. *Pathologic Basic of Disease*. 5th Ed. Toronto: W.B. Saunders Company. Hal. 50-87.
- Folkman, J., Shing, Y. 2008. *Angiogenesis*. J Biol Chem: Jakarta 267:10931-4.
- Gasparani, G., 2000. *Prognostic Value of Vascular Endothelia Growth Factor In Breast Cancer*. Hal: 37- 44
- Gurtner GC, 2007. *Wound Healing: Normal and Abnormal*. Dalam: Thorne CH, penyunting. Grabb and Smith's 2007 Plastic Surgery. Edisi ke-6. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; h. 15-22.
- Hariana, A. 2009. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya* Seri I. Jakarta :Swadaya. Hal 30.
- Iqbal, M, dan Sulistyorini, E., 2009. *Kembang Sepatu (Hibiscus rosa-sinensis L)*. CCRC Farmasi : UGM.
- Kumar, V., Cotran, R., S., dan Robbins, S., L. 2007. *Buku Ajar Patologi Edisi 7 Volume 1*.
- Leong M, Phillips LG, 2012. Wound Healing. Dalam: *Sabiston Textbook of Surgery*. Edisi ke-19. Amsterdam: Elsevier Saunders; h. 984-92
- MacKay,D & Miller, AL 2003, Nutritional Support for Wound Healing. *Altern MedRev*, 8,4,360.
- Nayak, BS., Lexley MPP. 2006. “*Catharanthus Roseus Flower Extract has Wound Healing Activity in Sprague Dawley rats*”. *Bio Med Central*. Vol. 6. No. 41
- Nayak, B.S., Sandiford, S., Maxwell, A. 2009. Evaluation of the Wound-healing Activity of Ethanolic Extract of *Morinda citrifolia* L.Leaf.*Evid Based Complement Alternative Medicine*; 6 (3). P.
- Orsted, Heather L., Keast, David, Forest, Louise. 2009. *Basic Principles of Wound Healing.Wound Care Canada* vol. 9 Ed.2
- Pedlar, Jonathan, Frame, Jhon W. 2007. *Oral and Maxillofacial Surgery: an Objective-Based Textbook*. New york:Churchill Livingstone. p. 245-255.
- Priosoeryono BP, Nalia P, Adinda RL, Vetnizah J, Ietje W, Bayu FR and Risa T. *The effect of Ambon banana stem sap (Musa paradisiacal forma typical) on the acceleration of wound healing process in mice (Mus musculus albinus)*. *Journal of Agriculture and Rural Development in the Tropics and Subtropics* 2008: 36-39.
- Rinastiti, M. 2003. “*Pengaruh Membran Amnion Terhadap Jumlah Sel Fibroblas Pada Proses Penyembuhan Luka*”. *Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal)*, Edisi Khusus Oktober 2003. Hal 639-43..

Ruddy, John. K. 2011. “Peran Integrin pada Angiogenesis Penyembuhan Luka”.*Journal Anatomi-histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi : Manado*. Vol. 38 no. 3.