

Increasing the number of fibroblasts in the healing of rat gingiva wounds with topically applied of leaves extracts of belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn)

Peningkatan jumlah fibroblas pada penyembuhan luka gingiva tikus dengan pemberian ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn) secara topikal

I Gusti Agung Ayu Hartini

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Mahasaraswati Denpasar

Denpasar, Indonesia

Corresponding author: I Gusti Agung Ayu Hartini, e-mail: gekhartini@gmail.com

ABSTRACT

Gingival wound healing is complex because it is located in an open area, often contaminated and exposed to various types of bacteria in the oral cavity. Histologically, wound healing shows an increase in the number of fibroblasts. Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn) can be used as a wound medicine because it contains saponins that have the ability to clean and are antiseptic; tannins and flavonoids are anti-inflammatory. This study aims to determine the increase in the number of fibroblasts in rat gingival wound healing by topically administering belimbing wuluh leaf extract with different concentrations. The study was conducted with a pretest-posttest control group design, consisting of a control group with distilled water and a treatment group with topical administration of BWL ethanol extract with concentrations of 20% and 40%. The results of the study based on the comparison test between the three groups with one-way Anova showed that the mean number of fibroblasts in the three groups after treatment was significantly different ($p=0.001$). It was concluded that there was an increase in the number of fibroblasts in the gingival wound healing of rats given BWL extract although at 20% concentration, the increase was higher than at 40%.

Keywords: wound healing, belimbing wuluh leaves, *Averrhoa bilimbi* Linn, fibroblast

ABSTRAK

Penyembuhan luka pada gingiva merupakan suatu hal kompleks karena terletak pada daerah yang terbuka, sering terkontaminasi dan terpapar berbagai jenis bakteri di dalam rongga mulut. Secara histologis, penyembuhan luka memperlihatkan gambaran berupa peningkatan jumlah fibroblas. Tanaman belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn) dapat digunakan sebagai obat luka karena mengandung saponin yang memiliki kemampuan membersihkan dan bersifat antiseptik; tanin dan flavonoid bersifat anti-inflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peningkatan jumlah fibroblas pada penyembuhan luka gingiva tikus dengan pemberian ekstrak daun belimbing wuluh secara topikal dengan konsentrasi yang berbeda. Penelitian dilakukan dengan *pretest-posttest control group design*, terdiri atas kelompok kontrol dengan akuades dan kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol DBW secara topikal dengan konsentrasi 20% dan 40%. Hasil penelitian berdasarkan uji perbandingan dengan *one-way* Anova menunjukkan bahwa rerata jumlah fibroblas pada ketiga kelompok setelah diberikan perlakuan berbeda secara bermakna ($p=0,001$). Disimpulkan bahwa terjadi peningkatan jumlah fibroblas pada penyembuhan luka gingiva tikus yang diberikan ekstrak DBW. Pada konsentrasi 20% peningkatan jumlah fibroblas lebih tinggi dari pada konsentrasi 40%.

Kata kunci: penyembuhan luka, daun belimbing wuluh, *Averrhoa bilimbi* Linn, fibroblas

Received: 10 January 2023

Accepted: 1 August 2023

Published: 1 December 2023

PENDAHULUAN

Luka pada gingiva dapat disebabkan oleh berbagai faktor, antara lain patologi dan tidak patologi; patologi misalnya ulkus rekuren rongga mulut, sedangkan yang tidak patologi misalnya akibat trauma alat atau setelah operasi di rongga mulut.

Penyembuhan luka merupakan suatu proses yang kompleks karena melibatkan interaksi berbagai jenis sel dan mediator-mediator biokimia, sehingga proses penyembuhan luka tidak terbatas pada proses-proses regenerasi lokal tapi merupakan kondisi keseluruhan yang melibatkan faktor-faktor endogen seperti usia, nutrisi, pengobatan, status imun, kondisi metabolik.¹

Setiap proses penyembuhan luka akan melalui tiga tahapan yang dinamis, saling terkait dan bersinambung serta tergantung pada jenis dan derajat luka. Sehubungan dengan perubahan morfologik, tahapan penyembuhan luka terdiri atas 1) fase inflamasi atau eksudasi yaitu menghentikan perdarahan dan menyiapkan tempat luka

menjadi bersih dari benda asing atau kuman sebelum dimulai proses penyembuhan; 2) fase proliferasi/granulasi yaitu pembentukan jaringan granulasi untuk menutup defek atau luka; 3) fase maturasi/deferensiasi, yaitu menyempurnakan pembentukan jaringan baru menjadi lebih matang dan fungsional. Secara histologis, penyembuhan luka memperlihatkan gambaran berupa peningkatan sel radang, vaskularisasi, kepadatan sel epitel, peningkatan jumlah fibroblas dan serabut kolagen.

Fibroblas adalah sel pada jaringan ikat, relatif stabil, memiliki waktu hidup yang panjang dan merupakan sel jaringan ikat yang paling banyak. Fibroblas jarang terlihat pada jaringan ikat normal, tetapi dalam responnya terhadap jejas, tampak bahwa fibroblas berproliferasi dan menjadi lebih aktif dalam mensintesis komponen matriks kolagen yang membantu perbaikan kerusakan jaringan. Fibroblas menjadi lebih hipertrofi, lebih basofil, ukuran kompleks golgi membesar dan retikulum endoplasmik menjadi lebih lebar pada waktu

proses penyembuhan luka berlangsung. Fibroblas yang terstimulasi mengandung prekursor kolagen dan glikosaminoglikan intrasel berupa granula-granula dalam sitoplasma. Prekursor kolagen dan glikosaminoglikan ini akan disekresikan ke dalam matriks ekstrasel.²

Perkembangan ilmu kedokteran di Indonesia dewasa ini menunjukkan kemajuan yang sangat pesat dengan dilakukannya berbagai riset tentang obat yang bahan dasarnya dari alam, serta pemakaian dan pendaaygunaan obat tradisional. Kemajuan teknologi yang semakin canggih menyebabkan pengolahan obat tradisional lebih praktis, ekonomis, mudah didapat serta memiliki efektivitas yang cukup baik dalam mengobati luka.³

Masyarakat beranggapan bahwa obat tradisional dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif selain obat-obatan modern; penggunaan obat tradisional relatif lebih aman dibandingkan obat sintetis.⁴ Indonesia yang beriklim tropis memiliki aneka ragam tumbuhan dan beberapa diantaranya dapat digunakan sebagai bahan obat tradisional. Salah satu tanaman yang banyak ditanam di halaman dan dimanfaatkan oleh manusia dalam kehidupan sehari-hari, baik sebagai obat, bumbu dapur, pemberi aroma adalah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn).⁴ Belimbing wuluh, baik daun, buah, bunga dan batangnya mengandung senyawa yang berkhasiat, diantaranya saponin, tanin, flavonoid, alkanoid, glukosida, kalsium oksalat, sulfur, asam format, peroksidase, kalium sitrat dan memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Belimbing wuluh dapat digunakan sebagai obat stomatitis karena mengandung saponin yang memiliki kemampuan membersihkan dan bersifat antiseptik, tanin dan flavonoid bersifat sebagai anti-inflamasi dengan cara menghambat enzim cyclooxygenase dan lipoxygenase. Sedangkan alkanoid mampu menghilangkan rasa nyeri dan vitamin C berperan dalam perbaikan mukosa mulut, sehingga dapat membantu proses penyembuhan luka.⁵

Flavonoid diketahui memiliki aktivitas anti-inflamasi karena dapat menghambat beberapa enzim. Flavonoid bentuk aglikon bersifat non-polar dan bentuk glikosidanya bersifat polar. Flavonoid dapat disaring dengan pelarut air, maupun etanol 70%⁶ yang sangat efektif menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas obat terlarut.⁷

Banyak penelitian dilakukan untuk mengetahui pengaruh dan kandungan zat yang terkandung dalam tanaman ini diantaranya kandungan kimia alami yang terdapat pada daun belimbing wuluh (DBW) yang diduga memiliki aktivitas anti-inflamasi adalah flavonoid dan saponin.⁸ Penelitian Mulyani, diketahui bahwa infusa DBW mengandung senyawa flavonoid. Penelitian Fahreni, menunjukkan bahwa ekstrak DBW mengandung flavonoid, saponin dan tanin.

METODE

Rancangan penelitian eksperimental *randomized pretest-posttest control group design*.¹⁷ Jumlah sampel sebanyak 24 ekor tikus dibagi dalam 3 kelompok yang tidak berpasangan, yaitu kelompok kontrol diberikan akuades, kelompok perlakuan diberikan ekstrak etanol DBW 20%, satu kelompok perlakuan diberikan ekstrak etanol DBW 40%. Sampel adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) dewasa strain winstar, umur 2 bulan, berat badan 180-200 g, dan sehat.

Jalannya penelitian

Pembuatan ekstrak etanol DBW, daun dicuci bersih dan dikeringkan di dalam ruangan, kemudian dihancurkan dengan blender sampai jadi serbuk. Serbuk DBW ditambah etanol 70%, diaduk selama 30 menit dengan *stirrer magnetic* dan didiamkan selama 24 jam. Hasil maserasi disaring 3 kali dengan corong butchner yang dilapisi kertas saring dan ditampung dalam Erlenmeyer. Filtrat diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* dan dipanaskan dengan *water bath* pada suhu 70°C agar diperoleh ekstrak etanol DBW yang kering. Selanjutnya, diencerkan dengan akuades sehingga konsentrasi 20% (20 g/mL) perhitungan 20 g ekstrak etanol DBW per 100 mL akuades dan 40% (40 g/mL) perhitungan 40 g ekstrak etanol DBW per 100 mL akuades.⁷

Hewan coba diadaptasikan terlebih dahulu satu minggu dalam kandang yang terbuat dari plastik atau logam; dinding, lantai dan meja serta alat yang tahan air agar mudah dicuci. Lingkungan tempat hidupnya harus bersih, kering atau tidak lembab, tidak berbau, dan sirkulasi udara harus cukup baik, suhu 25-35°C, intensitas sinar memadai dan dihindari dari kebisingan lingkungan agar tikus tidak stres selain makanan yang memenuhi persyaratan nutrisi dan gizi.

Sebelum dilukai tikus tersebut dianestesi secara topikal (xylonor pellets) pada gingivanya agar tidak sakit pada saat dibuat luka. Luka dibuat pada gingiva bagian labial di bawah kedua gigi insisivus sentralis mandibula dengan menggunakan *punch biopsy* berdiameter 2 mm dan kedalaman luka mengenai tulang alveolar. Ekstrak etanol DBW 20% dan 40% diolesi masing-masing pada kelompok II dan III sedangkan pada kelompok I diolesi akuades. Pengolesan dilakukan dengan menggunakan cotton bud steril pada pagi dan sore hari.

Tikus dimatikan pada hari 7 secara eutanasia tanpa mengalami rasa sakit; kapas yang telah dibasahi dengan kloroform diletakkan di dalam toples, kemudian hewan coba dimasukkan dan toples tersebut ditutup sampai tikus mati. Jaringan luka beserta sedikit jaringan di sekitarnya dipotong, dimasukkan ke dalam pot yang berisi buffer formalin 10% dan dikirim ke laboratorium untuk dibuat sediaan mikroskopis.

Fibroblas dinilai dengan menghitung jumlahnya yang

aktif (yang memiliki sitoplasma yang besar, kromatin halus, nukleusnya ovoid dan tampak nyata), yang dilihat pada lima lapang pandang dengan menggunakan mikroskop elektrik (Olympus Type CX 21) dengan pembesaran 400X.

HASIL

Jumlah fibroblas diuji normalitasnya dengan menggunakan uji Shapiro-Wilk menunjukkan data terdistribusi normal ($p > 0,05$). *Levene's test* menunjukkan data homogen ($p > 0,05$). Tabel 1 menunjukkan bahwa rerata jumlah fibroblas pada tikus sebelum mendapat perlakuan adalah $25,00 \pm 0,51$.

Tabel 1 Rerata jumlah fibroblas sebelum diberikan ekstrak DBW

Kelompok Subjek	n	Rerata Fibroblas	SB	Range
Kontrol	5	25,00	0,51	24,20-25,40

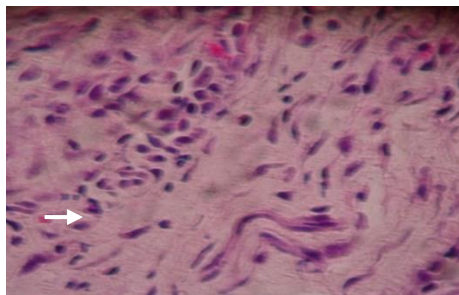
Tabel 2 Perbedaan rerata jumlah fibroblas antar kelompok sesudah diberikan ekstrak DBW

Kelompok Subjek	n	Rerata fibroblas	SB	F	p
Kontrol (akuades)	8	25,00	0,67		
E. etanol DBW 20%	8	26,01	1,14	385,55	0,001
E. etanol DBW 40%	8	16,38	0,36		

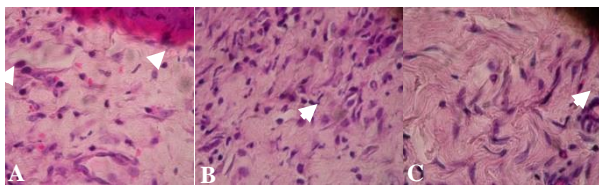
Tabel 3 Uji LSD

Kelompok	Beda Rerata	p
Kontrol dan Konsentrasi 20%	1,01	0,008*
Kontrol dan Konsentrasi 40%	8,63	0,001*
Konsentrasi 20% dan 40%	9,64	0,001*

* Berbeda Bermakna



Gambar 1 Hasil pengamatan fibroblas pada kelompok pre-test



Gambar 2 Hasil pengamatan fibroblas pada A kelompok kontrol, B ekstrak 20%, C ekstrak 40%

Analisis efek perlakuan diuji berdasarkan rerata jumlah fibroblas antar kelompok sesudah diberikan perlakuan berupa ekstrak etanol DBW. Analisis kemaknaan dengan uji *one-way* Anova disajikan pada Tabel 2 yang menunjukkan bahwa rerata jumlah fibroblas kelompok kontrol adalah $25,00 \pm 0,67$, kelompok DBW 20% adalah $26,01 \pm 1,14$, dan kelompok DBW 40% adalah $16,38 \pm 0,36$. Analisis kemaknaan dengan uji *one-*

way Anova menunjukkan bahwa nilai $F = 385,55$ dan nilai $p = 0,001$ yang berarti rerata jumlah fibroblas pada ketiga kelompok sesudah diberikan perlakuan berbeda secara bermakna ($p < 0,05$).

Untuk mengetahui kelompok yang berbeda dengan kelompok kontrol dilakukan uji lanjut dengan *least significant difference* (LSD) yang hasilnya tersaji pada Tabel 3 yaitu 1) rerata kelompok kontrol berbeda bermakna dengan kelompok DBW 20% (kelompok kontrol lebih rendah daripada kelompok DBW 20%); 2) rerata kelompok kontrol berbeda bermakna dengan kelompok DBW 40% (kelompok kontrol lebih tinggi daripada rerata kelompok DBW 40%); 3) rerata kelompok DBW 20% berbeda bermakna dengan kelompok DBW 40% (kelompok DBW 20% lebih tinggi daripada rerata kelompok DBW 40%).

PEMBAHASAN

Peningkatan jumlah fibroblas pada beberapa kelompok pasca perlakuan disebabkan ekstrak DBW mengandung beberapa zat aktif, diantaranya flavonoid, tanin, saponin, alkanoid dan antioksidan. Flavonoid, saponin dan tanin berefek sebagai antiradang, antibakteri dan meningkatkan proliferasi fibroblas. Beberapa kandungan zat aktif DBW dapat mempercepat proses penyembuhan luka, misalnya efek saponin pada peningkatan metabolisme matriks ekstrasel, serta aktivasi dan sintesis TGF- β yang menstimulasi biosintesis kolagen.⁹ Selanjutnya proses radang dipersingkat oleh efek antiradang dari flavonoid dan saponin sehingga penyembuhan luka menjadi lebih cepat.

Hal ini sesuai dengan penelitian oleh Sudarsono dkk, yang menyatakan bahwa kandungan kimia alami yang terdapat pada DBW yang diduga memiliki aktivitas anti-inflamasi adalah flavonoid dan saponin. Hasil penelitian ini juga mendukung Mulyani, yang menyatakan bahwa infusa DBW mengandung senyawa flavonoid.

Berdasarkan penelitian ini dan penelitian lain, ternyata DBW dapat digunakan sebagai obat untuk menyembuhkan luka gingiva tikus karena mengandung zat aktif diantaranya flavonoid, saponin, tanin, alkanoid dan mengandung zat antioksidan. Belimbing wuluh juga mengandung unsur-unsur gizi seperti kalori, protein, karbohidrat, kalsium, fosfor, zat besi, vitamin A, vitamin B1, vitamin C dengan kadar yang cukup tinggi dan dapat digunakan sebagai obat luka stomatitis.⁵ Berdasarkan uji perbandingan antara ketiga kelompok pasca perlakuan berupa pemberian ekstrak etanol DBW menggunakan *one-way* Anova, terjadi peningkatan jumlah fibroblas pada kelompok DBW 20%, sedangkan pada kelompok DBW 40% terjadi penurunan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Volk dan Wheller, bahwa senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) merupakan salah satu antibakteri yang bekerja dengan mengganggu

fungsi membran sitoplasma, yang bila diberikan dengan konsentrasi tinggi mampu merusak membran sitoplasma dan mengendapkan protein sel sehingga bakteri akan rusak dan mati.¹⁹

Proses penyembuhan luka tidak hanya terbatas pada proses regenerasi lokal, tetapi merupakan kondisi keseluruhan yang melibatkan faktor-faktor endogen yang salah satunya adalah pengobatan.¹⁰ Hal tersebut semakin menguatkan bahwa peningkatan jumlah fibroblas

yang merupakan indikator penyembuhan luka, akan terlihat jumlahnya lebih banyak pada preparat yang mendapat perlakuan, ekstrak DBW 20% dan 40%, dibandingkan dengan kontrolnya.

Disimpulkan bahwa terjadi peningkatan jumlah fibroblas pada penyembuhan luka gingiva tikus yang diberikan perlakuan ekstrak daun belimbing wuluh 20% dan 40%; dan pada konsentrasi 20% jumlah fibroblas lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Adminin. Pengertian luka dan proses penyembuhan luka. Anatomi dan Patofisiologi, 2009. (cited 2010 nov. 4). Available from: <http://cupu.web.id.htm>.
2. Bloom, Fawcett WD. A textbook of histology. 12th Ed. New York: Chapman and Hall; 2002.p.133-67.
3. Arif F. Aneka tanaman obat dan khasiatnya. Yogyakarta: Med Press; 2007
4. Dalimartha S. Atlas tumbuhan obat Indonesia. Jilid 5. Jakarta: Pustaka Bunda; 2008
5. Bashori YM. Efek anti-inflamasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi Linn*) pada tikus putih jantan galur wistar. 2006. (cited 2009 Nov. 11). Available from: <http://etd.eprints.ums.ac.id/1425/k100040021.pdf>.
6. Adetha P. Ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa Bilimbi L.*) sebagai ovisida keong mas (*Pomacea Canaliculata L.*). 2018.
7. Voigt R. Teknologi farmasi. edisi V. Editor: Noerono, S Pentj. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.; 1994.p.551-64.
8. Sudarsono, Gunawan D, Wahyono S, Donatus IA, Purnomo. 2002. Tumbuhan obat II (Hasil penelitian, sifat-sifat dan penggunaan). Yogyakarta: Pusat Studi Obat Tradisional-Universitas Gadjah Mada; 2002.p.157-8.
9. Kanzaki T, Morizaki N, Shiina R, Saito Y. Role of transforming growth factor- β pathway in the mechanism of wound healing by saponin from ginseng radix rubra. Br J Pharmacol 1998; 125:255-62.
10. Hermanto E, Taufiqurrahman I. Manfaat terapi oksigen hiperbarik dalam mempercepat proses penyembuhan luka. 2008 (cited 2009. okt 4). Available from: http://www.pdgionline.com/v2/index.php?option=com_content&task=view&id=732.
11. Mirsal T. Proses penyembuhan luka. 2008 (cited 2011 jan. 23). Available from: <http://syehaceh.wordpress.com.htm>.
12. Faharani BGR. Uji aktivitas antibakteri daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara bioautografi. [Skripsi]. Yogyakarta: Jurusan Farmasi FMIPA UII; 2009
13. AsiaBrain. Khasiat belimbing wuluh. 2008 (cited 2009 Jul. 20). Available at : <http://www.anneahira.com.htm>.
14. Wijaya IMS. Perawatan luka dengan pendekatan multidisiplin. Yogyakarta: ANDI; 2018.
15. Arisanty IP. Konsep dasar manajemen perawatan luka. Jakarta: EGC; 2014.
16. Harty FJ, Ogston R. Kamus kedokteran gigi (Concise illustrated dental dictionary). Alih bahasa: Sumawinata N. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 1995.
17. Pocock SJ. Clinical trials: a practical approach. New York: John Wiley & Sons.; 2008.p.128.
18. Myers BA. Wound management principles and practice. New Jersey: Prentice Hall; 2004
19. Volk WA, Wheeler MF. Mikrobiologi Dasar. Alih bahasa: Markham. Jakarta: PT. Gelora Aksara Pratama; 1993.