

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan tikus putih *Rattus norvegicus* jantan galur *Wistar* sebanyak 39 ekor yang berumur tiga bulan dengan berat badan 200-250 gram. Tikus dipelihara dalam kandang pada ruang hewan uji Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UMY dengan pertukaran udara yang baik serta suhu ruangan tanpa pendingin. Setiap kandang diberi nama sesuai kelompok dan setiap kelompok diisi enam ekor tikus kecuali kandang tanpa perlakuan diisi dengan tiga ekor tikus.

Sebelum di induksi luka pada gingival tikus perlu diberi anestesi Lidocain 5% untuk mengurangi rasa sakit yang ditimbulkan sebelum aplikasi pemberian H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10%. Lidocain merupakan anestesi lokal yang diaplikasikan secara topikal. Anestesi lokal adalah jenis anestesi yang menghasilkan blokade konduksi atau blokade lorong natrium pada dinding saraf secara sementara terhadap rangsang transmisi sepanjang saraf, jika digunakan pada saraf sentral atau perifer (Latief, *et al.*, 2002). Ada dua jenis anestesi lokal yaitu golongan eter dan amida. Lidocaine adalah jenis anestesi lokal golongan amida yang mempunyai resiko hipersensitivitas lebih rendah dari golongan ester (Boulton, *et al.*, 1994). Oleh karena itu pada penelitian ini anestesi yang digunakan adalah Lidocain.

Gingiva tikus dilukai menggunakan lanset, jarum lanset sedalam 2 mm. Setelah itu gingiva tikus di induksi dengan mengaplikasikan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 %

agar terjadi radang pada mukosa mulutnya. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang membuktikan bahwa reaksi oksidasi dari  $\text{O}_2$ , yaitu radikal bebas dari  $\text{H}_2\text{O}_2$  10% dapat menyebabkan radang mukosa mulut (Marissa, 2001).

Penelitian ini menggunakan daun *Plumeria acuminata Ait* yang diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 70% sebagai bahan penyari. Daun *Plumeria acuminata Ait* yang digunakan adalah daun yang berwarna hijau tua yaitu mulai daun ketiga dari pucuk sehingga daun tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda. Setelah diekstraksi daun *Plumeria acuminata Ait* menghasilkan ekstrak kental daun dengan konsentrasi 100%. Selanjutnya ekstrak daun tersebut di buat sediaan krim.

Adapun formulasi tambahan pembuatan krim pada penelitian ini antara lain asam stearat adalah tipe bahan pelumas digunakan dalam formulasi untuk mengurangi gesekan selama kompresi. Gliserin adalah tipe bahan pelembab digunakan untuk mencegah keringnya preparat terutama krim karena kemampuan zat tersebut untuk menahan lembab. Metil paraben adalah tipe bahan pengawet antijamur digunakan dalam preparat cairan, dan preparat setengah padat untuk mencegah pertumbuhan jamur. Propil paraben adalah tipe bahan pengawet antijamur digunakan dalam preparat cairan, dan preparat setengah padat untuk mencegah pertumbuhan jamur dan air (Ansel, 2008).

Pada hari keempat induksi luka pada gingiva dihentikan dan dilanjutkan dengan memberi pengobatan pada tikus sesuai dengan kelompoknya. Pemberian obat dilakukan 3x sehari masing-masing 10 menit selama 3 hari yang mengacu

pada penelitian Junistati dan Esthara (2003). Kelompok pembandingan langsung

dikorbankan pada hari ke-0 untuk diambil jaringan gingivanya. Kelompok perlakuan KEEPA dengan konsentrasi 1,25%, 2,5% dan 5%, kelompok kontrol positif Kenalog®, kelompok kontrol negatif Base dan kelompok Tanpa Perlakuan diberi perlakuan sesuai dengan kelompok tersebut selama 3x 10 menit sehari selama 3 hari. Pada kelompok Tanpa Perlakuan tikus dibiarkan saja tanpa diberikan perlakuan hanya saja di berikan pakan dan minum. Pada hari ke-4 masing-masing kelompok diambil 3 tikus untuk dikorbankan. Hari selanjutnya dilakukan perlakuan yang sama selama 3x 10 menit sehari selama 3 hari, lalu pada hari ke-7 semua tikus di tiap kelompok dikorbankan dan dibuat preparatnya untuk mengetahui ketebalan sel epitel dan jumlah sel fibroblas secara mikroskopis. Pembuatan preparat tersebut dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi FK UGM yang selanjutnya diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x untuk melihat ketebalan sel epitel dan perbesaran 400x untuk menghitung jumlah fibroblas. Waktu untuk mengorbankan tikus pada penelitian ini adalah pada hari ke-4 dan ke-7 setelah diberi perlakuan. Hal ini merujuk pada penelitian sebelumnya yang mengamati perkembangan jaringan kolagen pasca pencabutan gigi dimana penelitian diamati pada hari ke-3, ke-5 dan ke-7 setelah diberi perlakuan (Mawardi, *et al.*, 2002).

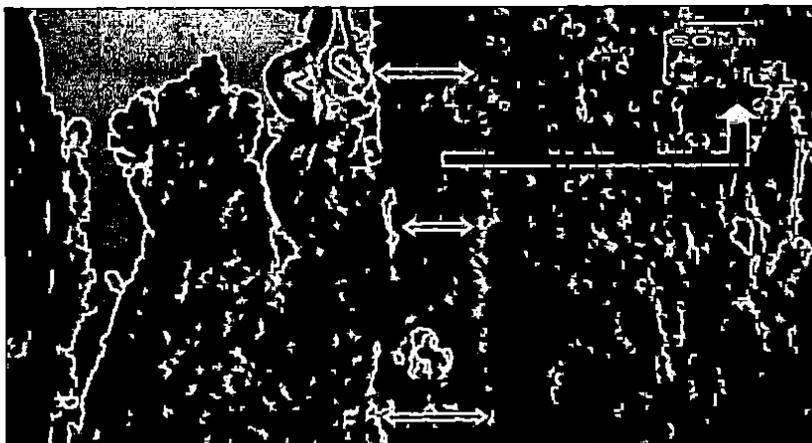
Pengamatan pada penelitian ini dilakukan pada hari ke-4 dan ke-7 saja, karena pada salah satu tahap penyembuhan luka yaitu fase inflamasi terjadi segera setelah luka dan berakhir 3-4 hari setelah terjadinya luka pada jaringan. Pada fase ini terjadi vasodilatasi dan akumulasi leukosit *Polimorphonuclear* (PMN)

dan leukosit tersebut akan mengeluarkan mediator inflamasi seperti

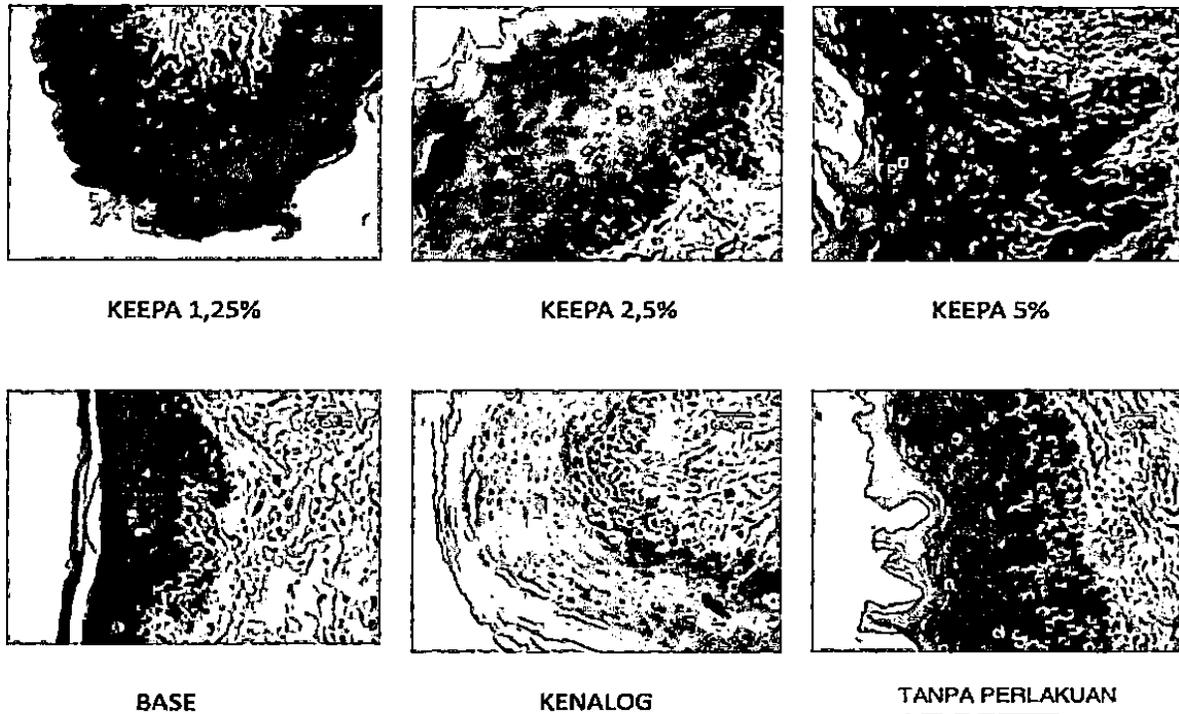
Transforming Growth Factor  $\beta 1$  (TGF  $\beta 1$ ) yang juga dikeluarkan oleh makrofag. Adanya TGF  $\beta 1$  akan mengaktifasi fibroblas untuk mensintesis jaringan kolagen (Kozeir 1995). Pada fase proliferasi berawal dari hari-4 sesudah perlukaan dan biasanya terjadi hingga hari ke-21 pada luka tergantung pada ukuran luka.

Pembuatan preparat sel epitel dan fibroblas menggunakan pewarnaan *Hematoksin-eosin*, sehingga pada epitel akan tampak berwarna ungu dan terlihat batas-batas epitel pada jaringan dan fibroblas akan tampak berwarna biru dengan bentuk seperti bintang (Aryeti, 2008). Pada proses penyembuhan luka, terjadi proses patofisiologi yang melibatkan kolagen, fibroblas dan epitel. Proses pertama yaitu pembentukan jaringan epitel. Pembentukan epitel dapat di bagi menjadi beberapa tahap seluler termasuk diferensiasi sel, mitosis, migrasi dan proliferasi, yang dimulai beberapa jam setelah cedera dan menghasilkan pelapis kembali daerah luka (Aryenti, 2008).

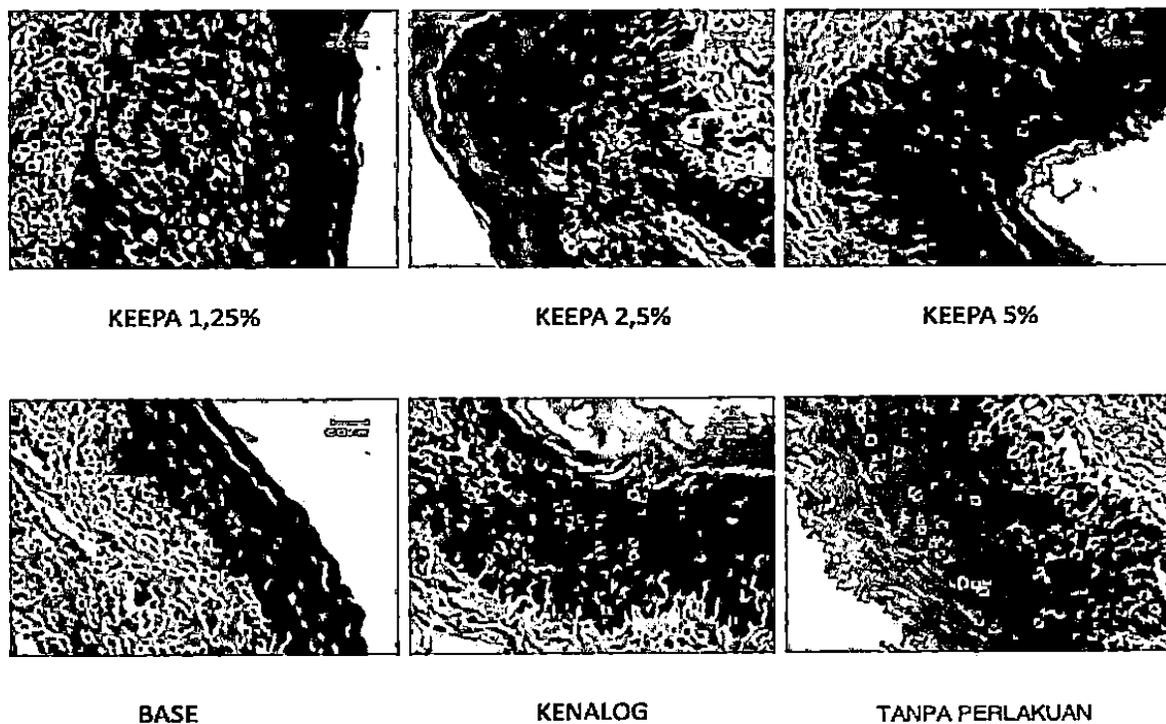
Gambaran Preparat histologi sel epitel pada jaringan gingiva yang mengalami peradangan pada hari ke-0 dapat dilihat pada Gambar 6. Sedangkan gambaran Preparat histologi sel epitel pada hari ke-4 dan ke-7 dapat dilihat pada Gambar 7 dan 8.



**Gambar 6.** Gambaran histologi ketebalan epitel pada jaringan gingiva tikus



**Gambar 7.** Gambaran histologi ketebalan epitel pada jaringan gingiva tikus pada hari ke-4 menggunakan pewarnaan HE perbesaran 100x.



**Gambar 8.** Gambaran histologi ketebalan epitel pada jaringan gingiva tikus pada hari ke-7 menggunakan pewarnaan HE Perbesaran 100x

Pada hari ke-0 sudah terjadi adanya penebalan lapisan sel basal di tepi luka ini merupakan aspek awal dari proses epitelisasi. Pada hari ke-4 lapisan epitel mulai ada penebalan di bandingkan hari ke-0. Pada hari ke-7 sudah menunjukkan bahwa epitel telah terbentuk secara baik. Namun, epitel yang terlihat pada area luka memiliki ketebalan yang lebih tipis dari pada epitel sekitarnya, sedangkan secara klinis diperoleh gambaran luka yang telah menutup.

Hasil rata-rata ketebalan sel epitel pada masing-masing kelompok tampak pada Tabel 2. Tabel 2 menunjukkan bahwa lapisan epitel pada masing-masing kelompok pada hari ke-0, ke-4 dan ke-7.

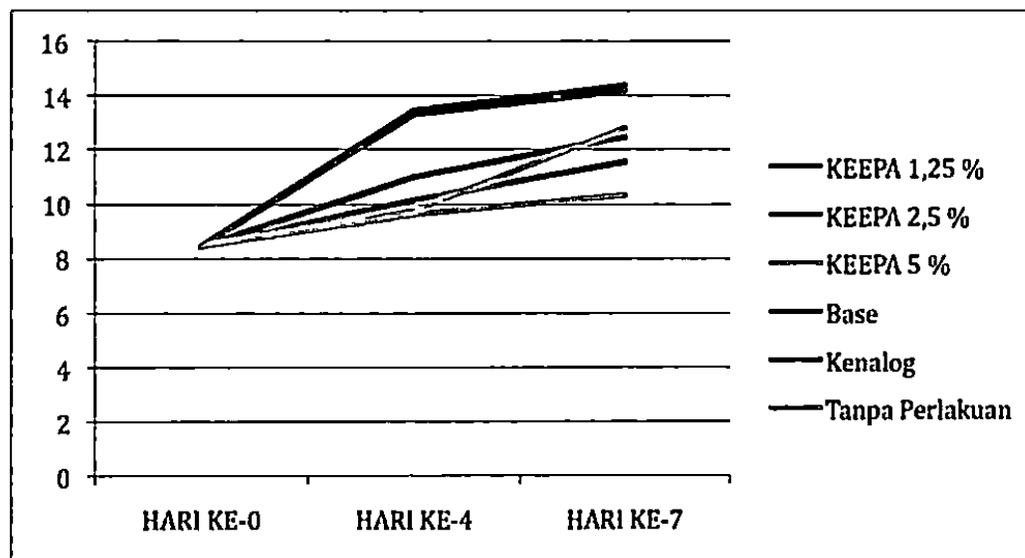
**Tabel 2.** Data ketebalan sel Epitel

Kelompok	Ketebalan Lapisan Epitel dalam micron		
	Hari ke-0	Hari ke-4	Hari ke-7
KEEPA 1,25%	8,44±1,38	13,40±0,94 <sup>a</sup>	14,37±1,32 <sup>a</sup>
KEEPA 2,5%	8,44±1,38	10,14±1,00 <sup>b</sup>	11,55±0,29 <sup>a</sup>
KEEPA 5%	8,44±1,38	9,59±1,00 <sup>b</sup>	10,33± 0,55 <sup>b</sup>
Kenalog®	8,44±1,38	13,29±1,98 <sup>a</sup>	14,18±1,60 <sup>a</sup>
Base	8,44±1,38	10,96±2,63 <sup>b</sup>	12,48±3,35 <sup>a</sup>
Tanpa Perlakuan	8,44±1,38	9,74±1,78 <sup>b</sup>	12,81±2,95 <sup>a</sup>

Ket: angka yang diikuti huruf yang sama berarti tidak berbeda signifikan

Pada Tabel 2 menunjukkan peningkatan ketebalan epitel untuk setiap kelompoknya pada hari ke-0, ke-4, dan ke-7. Berdasarkan data pada Tabel 2, terlihat perbedaan yang signifikan untuk masing-masing kelompoknya. Untuk mengetahui signifikansi peningkatan ketebalan lapisan epitel pada setiap kelompok dan perbedaan antar kelompok maka dilakukan uji parametrik dengan

didapatkan hasil sig. 0,046 dan hasil pada hari ke-7 sig 0,201 dimana hasil tersebut menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara masing-masing kelompok pada hari ke-4 karena hasil sig.  $> 0,05$ . Namun pada hari ke-7 tidak terjadi signifikan karena  $p < 0,05$ . Karena hasil data peningkatan ketebalan epitel antar kelompok ada yang tidak signifikan, maka perlu menampilkan hasil data melalui grafik untuk melihat peningkatan ketebalan epitel pada masing-masing kelompok. Gambaran grafik peningkatan ketebalan epitel dapat dilihat pada Gambar 9.



**Gambar 9.** Grafik peningkatan ketebalan lapisan epitel

Pada Gambar 9 menunjukkan bahwa grafik peningkatan ketebalan epitel setiap kelompok mempunyai pola yang berbeda – beda. Terlihat jelas pada setiap kelompok mengalami peningkatan penebalan lapisan epitel mulai hari ke-0 sampai dengan hari ke-7.

Untuk mengetahui nilai signifikansi antar waktu masing-masing kelompok di lakukan uji ANOVA. Hasil ANOVA antar waktu untuk masing-masing

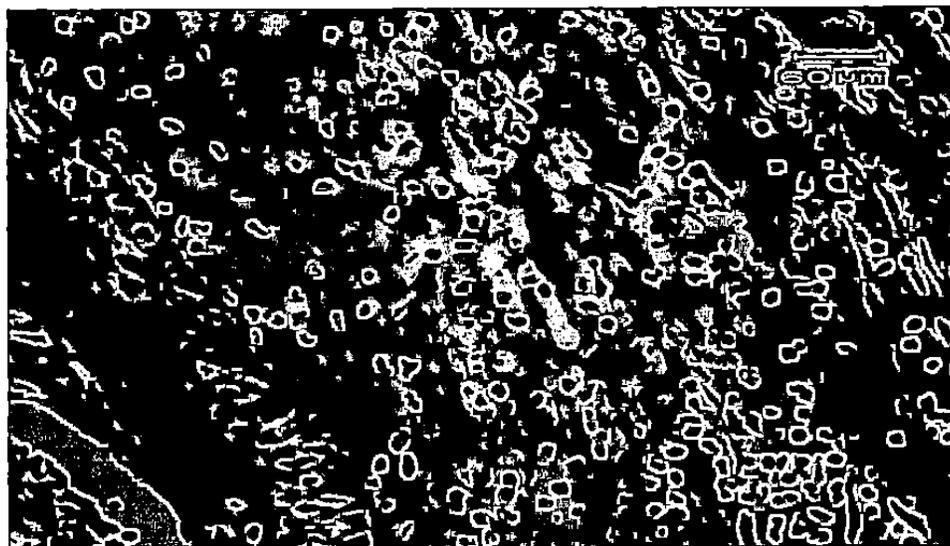
kelompok menunjukkan nilai signifikansi untuk kelompok KEEPA 1,25 %

nilai signifikansinya yaitu 0,002, KEEPA 2,5 % yaitu 0,025, KEEPA 5 % yaitu 0,161, Kenalog® yaitu 0,012, Base yaitu 0,235 dan kelompok Tanpa Perlakuan yaitu 0,110. Karena nilai signifikansi pada kelompok KEEPA 1,25%, KEEPA 2,5% dan Kenalog® menunjukkan nilai ( $p < 0,05$ ) berarti terdapat perbedaan yang signifikan antar waktunya, sehingga dilanjutkan dengan uji LSD untuk melihat perbedaan antar variabel. Hasil uji LSD pada hari ke-0 dengan hari ke-4 terjadi peningkatan ketebalan epitel yang signifikan pada kelompok KEEPA 1,25% dengan Kenalog®. Pada hari ke-0 dengan hari ke-7 terdapat peningkatan ketebalan epitel yang signifikan pada kelompok KEEPA 1,25%, KEEPA 2,5%, Kenalog® dan Tanpa perlakuan. Namun pada hari ke-4 dengan hari ke-7 tidak terdapat peningkatan ketebalan epitel yang signifikan pada semua kelompok. Walaupun semua kelompok mengalami peningkatan ketebalan epitel akan tetapi pada kelompok KEEPA 1,25% menunjukkan peningkatan yang paling signifikan pada hari ke-0 dengan hari ke-7 dengan nilai sig 0,001. Diikuti pada kelompok KEEPA 2,5% dengan nilai sig 0,009. Kelompok Kenalog® dengan nilai sig 0,006 dan kelompok Tanpa Perlakuan dengan nilai sig 0,047 juga menunjukkan signifikan pada hari ke-0 dengan ke-7

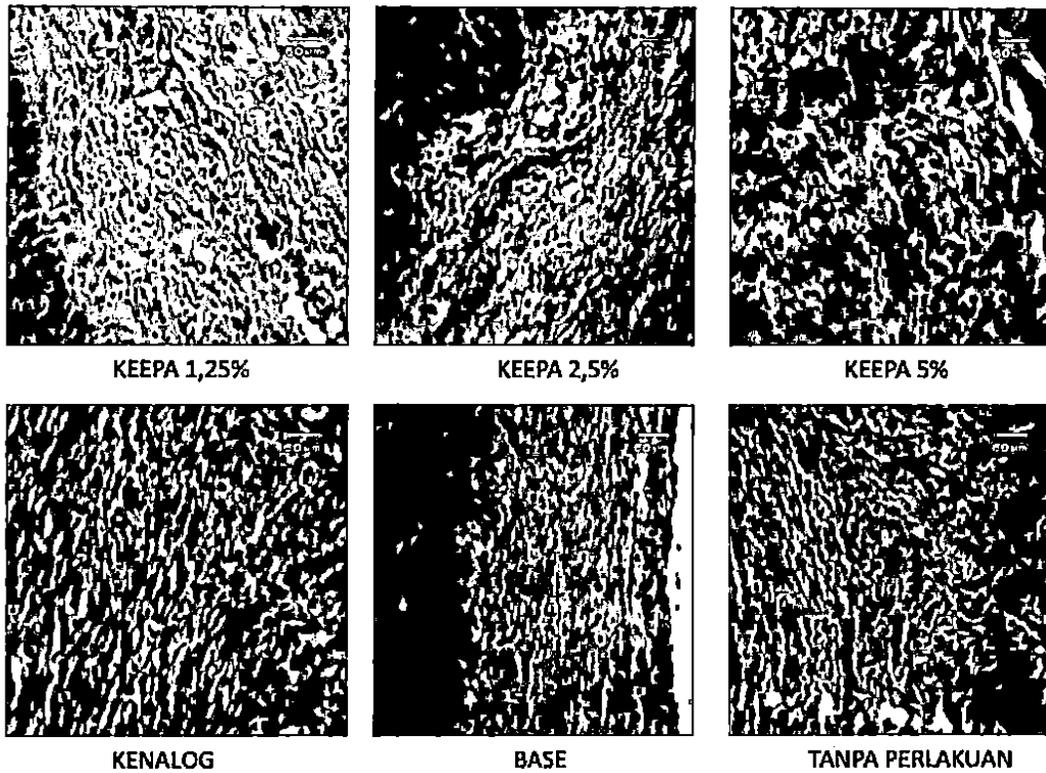
Dibawah sinar mikroskopis, fibroblas berbentuk fusiform (*cigar-shape*) atau stellate bentuk yang menyerupai bintang dengan prosesus yang panjang. Fungsinya adalah memelihara bundel-bundel kolagen yang tidak mudah tampak pada cahaya mikroskopis. Fibroblas memiliki satu atau lebih nukleus yang prominen atau menonjol. Secara ultrastruktural, fibroblas mempunyai sifat

reticulum endoplasmic yang luas, golgi kompleks prominen, dan banyaknya vesikel pembatas membrane. Fibroblas memiliki kemampuan rendah dalam proliferasi pada mukosa orang dewasa, terkecuali terdapat suatu proses penyembuhan di dalam jaringan tersebut. Jumlah sel akan meningkat yang ada pada perbatasan jaringan yang terkena luka dan tidak (bagian tepi). Fibroblas akan berubah menjadi contractile dalam partisipasinya pada kontraksi fase penyembuhan yang mana fibroblas akan memperkuat filament intramyoplasmic. Pada penyakit-penyakit tertentu, fibroblas akan teraktivasi dan akan mengeluarkan zat substansi dasar lebih dari biasanya (Nanci, 2003).

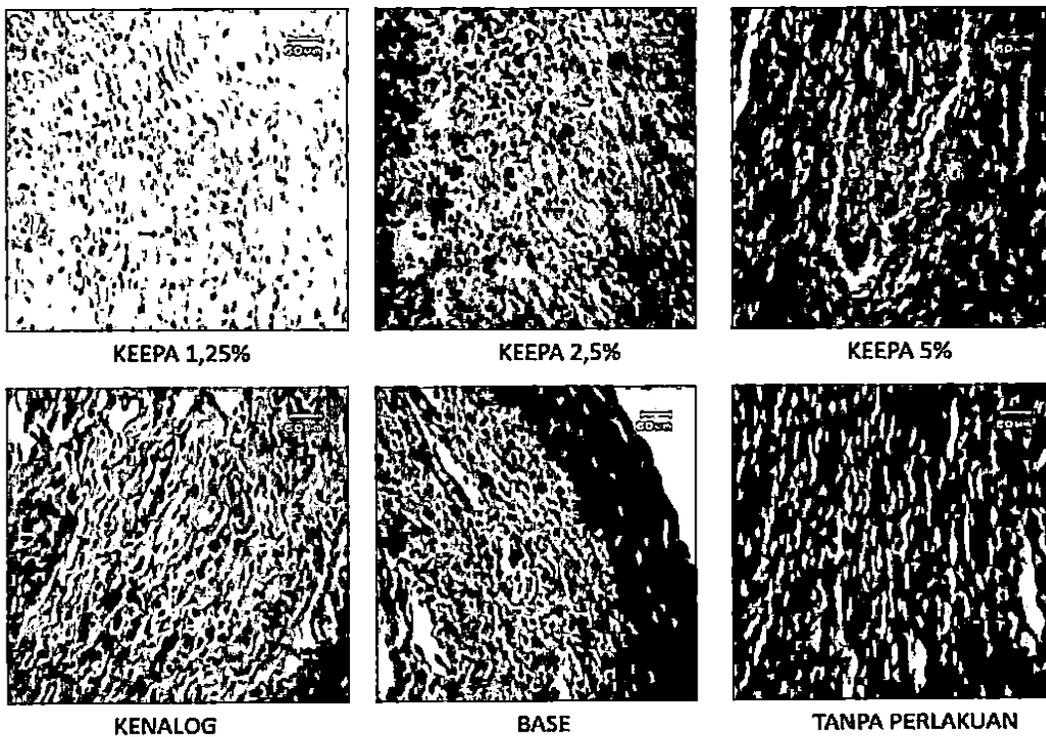
Gambaran Preparat histologi sel fibroblas pada jaringan gingiva yang mengalami peradangan pada hari ke-0 dapat dilihat pada Gambar 10. Sedangkan gambaran Preparat histologi sel fibroblas pada hari ke-4 dan ke-7 dapat dilihat pada Gambar 11 dan Gambar 12.



**Gambar 10.** Gambaran histologi sel fibroblas jaringan gingiva tikus pada hari ke-0 dengan perbesaran 100x10



**Gambar 11.** Gambaran histologi sel epitel jaringan gingiva tikus pada seluruh kelompok hari ke-4 menggunakan pewarnaan HE dengan perbesaran 400x.



**Gambar 12.** Gambaran histologi sel epitel jaringan gingiva tikus pada seluruh kelompok hari ke-7 menggunakan pewarnaan HE dengan perbesaran

Pada Gambar 10 jaringan gingiva pada hari ke-0, terlihat adanya sel-sel radang yang masih memenuhi area perlukaan. Keterlibatan sel-sel radang yang masih mendominasi area luka tersebut menandakan bahwa proses inflamasi sedang berlangsung. Pada Gambar 11 jaringan gingiva pada hari ke-4 memperlihatkan adanya peningkatan jumlah fibroblas. Peningkatan jumlah fibroblas aktif yang bermigrasi ke area luka menunjukkan bahwa pada area luka sedang terjadi tahapan proliferasi penyembuhan luka. Pada kelompok KEEPA 1,25%, Kenalog® dan Base tampak jumlah fibroblas yang jauh lebih banyak daripada kelompok Tanpa Perlakuan. Ini membuktikan bahwa Kelompok KEEPA dan Kenalog® mengalami fase proliferasi lebih cepat dari pada kelompok Tanpa Perlakuan.

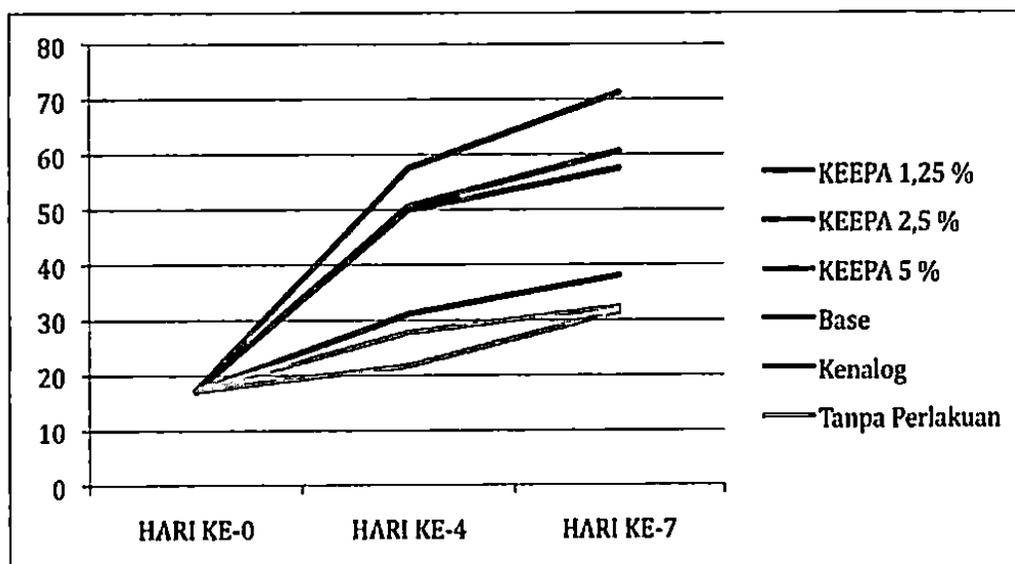
Pada Gambar 12 menunjukkan bahwa pada seluruh kelompok sedang mengalami peningkatan jumlah fibroblas yang mengalami puncaknya di hari ke-7. Hampir pada semua kelompok menunjukkan bentuk fibroblas hipertrofi, inti berbentuk ovoid, besar disertai dengan proses-prosesus sitoplasma yang tampak dengan jelas. Bentuk fibroblas gambar tersebut menunjukkan bahwa fibroblas sedang dalam keadaan aktif untuk mengadakan pemulihan jaringan (Recita, 2009). Hasil rata-rata peningkatan jumlah fibroblas pada masing-masing kelompok pada hari ke-0, ke-4 dan ke-7 tampak pada Tabel 3

**Tabel 3.** Data jumlah sel Fibroblas

Kelompok	Jumlah Sel Fibroblas		
	Hari ke-0	Hari ke-4	Hari ke-7
KEEPA 1,25%	17,22±6,86	50,66±0,33 <sup>a</sup>	60,66±0,87 <sup>a</sup>
KEEPA 2,5%	17,22±6,86	30,88±2,50 <sup>a</sup>	38,11±2,16 <sup>a</sup>
KEEPA 5%	17,22±6,86	21,66±0,88 <sup>a</sup>	31,44±1,17 <sup>a</sup>
Kenalog®	17,22±6,86	57,44±0,50 <sup>a</sup>	71,22±3,20 <sup>a</sup>
Base	17,22±6,86	49,79±1,0 <sup>b</sup>	57,55±1,01 <sup>b</sup>
Tanpa Perlakuan	17,22±6,86	27,55±0,50 <sup>a</sup>	32,33±1,33 <sup>a</sup>

Ket: angka yang diikuti huruf yang sama berarti tidak berbeda signifikan

Kemudian untuk melihat signifikansi jumlah sel fibroblas dilakukan uji parametrik dengan uji *one way* ANOVA. Hasil uji *one way* ANOVA pada masing-masing kelompok hari ke-4 didapatkan sig. 0,000 dan pada hari ke-7 didapatkan sig. 0,000. Hasil tersebut juga menunjukkan bahwa pada hari ke-4 dan ke-7 adanya perbedaan yang signifikan ( $p > 0,05$ ). Grafik peningkatan jumlah fibroblas dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Grafik peningkatan jumlah sel fibroblas

Gambar 13 menunjukkan peningkatan jumlah fibroblas pada seluruh kelompok. Untuk mengetahui signifikansi antar waktu, dilakukan uji ANOVA. Hasil uji antar waktu untuk masing-masing kelompoknya menunjukkan nilai signifikansi untuk kelompok KEEPA 1,25 % nilai signifikansinya yaitu 0,000, KEEPA 2,5 % yaitu 0,003, KEEPA 5 % yaitu 0,013, Kenalog yaitu 0,000, Base yaitu 0,000 dan kelompok Tanpa Perlakuan yaitu 0,000. Karena nilai signifikansi pada seluruh kelompok menunjukkan nilai ( $p < 0,05$ ) berarti terdapat perbedaan yang signifikan antar waktunya. Untuk mengetahui nilai signifikansi antar waktu masing-masing kelompok dilanjutkan dengan uji LSD. Hasil uji LSD menunjukkan pada hari ke-0 dengan hari ke-4 terdapat peningkatan jumlah fibroblas yang signifikan hampir pada seluruh kelompok. Kecuali pada kelompok KEEPA 5%. Pada hari ke-0 dengan hari ke-7 terdapat peningkatan jumlah fibroblas yang signifikan pada seluruh kelompok. Pada hari ke-4 dengan hari ke-7 juga terdapat peningkatan jumlah fibroblas signifikan hampir seluruh kelompok kecuali kelompok KEEPA 2,5% dan Base.

Berdasarkan hasil penelitian mikroskopik tersebut didapatkan hasil yang bervariasi untuk setiap parameter kesembuhan luka. Hasil pengamatan ketebalan epitel menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok KEEPA dengan kelompok Kenalog® maupun dengan kelompok Base dan kelompok Tanpa Perlakuan pada hari ke-4 saja dengan sig. 0,046. Pada hari ke-4 sudah terjadi peningkatan ketebalan epitel di bandingkan dengan hari ke-0. Pada hari ke-

Pada hasil pengamatan jumlah fibroblas, menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok KEEPA dengan kelompok Kenalog® maupun kelompok Base dengan kelompok Tanpa Perlakuan pada hari ke-4 dan hari ke-7 dengan nilai sig. 0,000. Proses penyembuhan luka sangat penting untuk mencegah terjadinya suatu infeksi sebagai dasar respon jaringan yang mengalami jejas yaitu berupa pemulihan integritas jaringan serta pengembalian struktur dan fungsi jaringan tersebut terutama melalui sintesis matriks jaringan ikat (Cate, 1985; Kalangi, 2004). Proses penyembuhan luka terbagi menjadi empat fase yaitu penggumpalan dan inflamasi, penyembuhan epitel, penyembuhan jaringan ikat, serta maturasi, dan pemodelan ulang yang berjalan secara simultan (Harrison 1991).

Torre (2006) menyebutkan bahwa fase awal perlukaan adalah fase inflamasi. Fase ini terjadi sesaat setelah jaringan mengalami perlukaan. Secara simultan proses koagulasi, jalur asam arakidonat, sitokin dan faktor pertumbuhan akan bekerja bersama-sama dalam fase ini. Perlukaan yang terjadi pada jaringan akibat bakteri, trauma, bahan kimiawi, panas dapat menyebabkan pelepasan beberapa substansi yang menimbulkan perubahan sekunder dalam jaringan (Guyton, 1997). Pelepasan beberapa substansi tersebut dapat mengakibatkan perubahan klinis pada fase inflamasi yaitu kemerahan, panas, pembengkakan, dan rasa sakit (Torre, 2006). Perubahan klinis pada fase tersebut dikenal dengan reaksi inflamasi (Guyton, 1997). Reaksi inflamasi yang berlangsung lama dapat mengakibatkan proses penyembuhan luka menjadi terhambat. Fase inflamasi yang terlalu lama dapat mengakibatkan peremajaan waktu penyembuhan luka sehingga

diperlukan beberapa agen antiinflamasi untuk menghambat respon tidak baik pada jaringan akibat mekanisme inflamasi yang terlalu lama. Fase kedua penyembuhan luka adalah proses penyembuhan epitel (Harrison, 1991). Penyembuhan epitel sebagai mekanisme penyembuhan luka dapat terlihat dalam proses penutupan luka. Secara klinis, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa telah terjadi penutupan luka pada seluruh kelompok mulai hari ke-0 hingga hari ke-7. Secara statistik menunjukkan bahwa pada hari ke-4 menunjukkan penebalan epitel yang signifikan pada seluruh kelompok. Penutupan luka yang terjadi pada kelompok KEEPA tersebut diduga karena adanya kandungan flavonoid dan saponin pada krim ekstrak etanol daun kamboja yang mampu mempercepat proses penyembuhan luka (Sudarsono, *et al.*, 2002).

Fase selanjutnya pada proses penyembuhan luka adalah fase proliferasi yang dimulai 2-3 hari setelah terjadi perlukaan jaringan. Fase ini ditandai dengan datangnya fibroblast pada area perlukaan dan fibroblas akan menjadi sel dominan pada 7-14 hari pasca perlukaan (Torre, 2006). Fibroblas adalah suatu prekursor penyembuhan luka yang sangat berperan dalam stadium proliferasi dan maturasi untuk pembentukan jaringan ikat kolagen. Sebagai penguat jaringan luka yang lama-kelamaan akan terganti perannya oleh serat kolagen itu sendiri (Bisono, 2009). Pengamatan pada hari ke-4 menunjukkan terjadinya fase proliferasi dan migrasi fibroblas pada daerah luka dengan terlihat adanya sel-sel radang yang masih memenuhi area perlukaan. Keterlibatan sel-sel radang yang masih mendominasi area luka tersebut menandakan bahwa proses inflamasi sedang

... dan pengamatan pada hari ke-7 hampir pada seluruh kelompok

menunjukkan bahwa terdapat gambaran fibroblas yang hipertrofi, nukleus besar dengan bentuk ovoid, sitoplasma dengan gambaran prosesus yang jelas. Fibroblas dalam keadaan seperti itu sedang berada dalam fase aktif untuk mengadakan pemulihan jaringan. Aktivitas fibroblas dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor pertumbuhan yang akan distimulasi oleh kandungan flavonoid dan saponin.

Flavonoid adalah senyawa fenol yang terkandung dalam tumbuhan yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Manfaat lain dari flavonoid adalah melindungi struktur sel, meningkatkan efektifitas vitamin C, antiinflamasi, mencegah keroposnya tulang dan sebagai antibiotic (Waji & Sugrani, 2009). Aktifitas antiinflamasi pada flavonoid adalah flavonoid dapat menghambat *Aldoreduktase*, *monoaminase oksidase* dan *Lipooksigenase*. Penghambatan *lipooksigenase* dapat menimbulkan pengaruh luas karena *lipooksigenase* merupakan langkah pertama menuju jalur eikasanoid seperti prostaglandin dan tromboksa (Robinson, 1995). Semakin cepat proses inflamasi maka semakin cepat pula terjadinya penutupan luka dan terjadi nya penebalan lapisan sel basal di tepi luka yaitu proses epitelisasi. Saponin yang terkandung dalam daun *Plumeria acuminata Ait* bersama flavonoid yang menghambat kerja enzim *siklooksigenase* dengan menghambat reaksi asam arakhidonat menjadi senyawa endoperoksidase. Di mana enzim *siklooksigenase* berperan dalam produksi prostaglandin, sehingga dengan terhambatnya kerja enzim *siklooksigenase* ini, maka akan menurunkan pembentukan prostaglandin yang mempercepat reaksi radang dan juga dapat mempercepat proses penyembuhan luka (Binggah, 2008). Parameter kesembuhan luka melalui pengamatan ketebalan

epitel pada kelompok perlakuan KEEPA 1,25% dibandingkan dengan KEEPA 2,5% menunjukkan peningkatan penebalan epitel yang lebih signifikan pada kelompok KEEPA 1,25% dengan nilai sig 0,002. Pada pengamatan jumlah fibroblas juga terdapat peningkatan yang signifikan, peningkatan migrasi fibroblas ke area perlukaan pada kelompok perlakuan KEEPA dimungkinkan oleh kandungan flavanoid dan saponin melalui stimulasi faktor pertumbuhan seperti TGF- $\beta$ , TGF- $\alpha$ , dan FGF terhadap migrasi dan proliferasi fibroblas.

Untuk parameter kesembuhan luka melalui pengamatan jumlah fibroblas, pada kelompok KEEPA 1,25% juga lebih efektif daripada kelompok KEEPA 2,5% dan 5% dengan nilai sig 0,000. Hal ini di dukung oleh Nijveldt, *et al.*, (2001) menyebutkan bahwa kadar flavonoid akan mengalami penurunan pada konsentrasi tertinggi. Hal tersebut disebabkan oleh peningkatan kepekatan dari larutan yang mengakibatkan penurunan aktivitas antioksidannya. Francis, *et al.*, (2001) juga bahwa konsentrasi larutan yang terlalu tinggi dapat menghambat saponin untuk menembus membran. Ditambahkan pula bahwa saponin pada konsentrasi yang rendah lebih mudah untuk melewati aktivitas membran (Melzig, *et al.*, 2001 sit. Francis, *et al.*, 2002). Dengan demikian diduga kandungan flavonoid dan saponin pada KEEPA konsentrasi 5% lebih sulit menembus membran mukosa mulut, dibandingkan pada konsentrasi 2,5% dan 1,25%.

Pada kelompok kontrol positif Kenalog®, terjadi peningkatan ketebalan epitel dan jumlah fibroblas yang signifikan mulai dari hari ke-0 hingga hari ke-7. Diduga karena pemberian Kenalog® yang mengandung triamcinolone acetonide 0,1% sebagai kortikosteroid yang dapat menekan inflamasi

Kortikosteroid meningkatkan konsentrasi lipokortin, protein anggota famili aneksin yang mengurangi sediaan substrat fosfolipid A<sub>2</sub>. Akhirnya glukokortikoid dapat mengurangi ekspresi siklooksigenase, sehingga mengurangi jumlah enzim yang tersedia untuk memproduksi prostaglandin. Glikokortikoid juga bekerja singkat dengan meningkatkan konsentrasi neutrofil yang menyebabkan pengurangan jumlah sel pada daerah radang (Katzung, 1998). Dengan berkurangnya fase inflamasi maka penutupan luka akan semakin cepat terjadi penebalan lapisan sel basal di tepi luka yang menjadi proses awal dari epitelisasi dan semakin berkurangnya fase inflamasi maka akan memasuki fase selanjutnya yaitu fase proliferasi yang di tandai dengan munculnya sel fibroblas.

Pada kelompok kontrol negatif basis krim tidak mengalami penebalan epitel yang signifikan pada hari ke-0 dengan hari ke-4 dan hari ke-0 dengan hari ke-7. Namun pada pengamatan jumlah fibroblas terdapat perbedaan yang signifikan pada hari ke-0 dengan hari ke-4 dan hari ke-0 dengan hari ke-7 diduga disebabkan oleh pemberian bahan dasar pada pembuat krim seperti asam stearat, gliserin, metil paraben, dan profil paraben tersebut tidak mengganggu atau memperparah peradangan, sehingga tidak memberikan efek toksik dan dapat membantu proses penyembuhan. Umumnya asam stearat dalam sediaan topikal digunakan sebagai bahan pengemulsi. Sedangkan gliseril monostearat dapat digunakan sebagai bahan pengemulsi nonionik, emolien, penstabil, pelarut dan sebagai *plasticizer* dalam produk makanan, farmasetika, dan kosmetik. Umumnya kedua bahan pengemulsi tersebut tidak menyebabkan toksik dan iritasi. Begitu juga dengan bahan pengawet yang di gunakan pada sediaan krim tersebut yaitu metil paraben dan profil

paraben. Secara luas propil paraben digunakan sebagai bahan pengawet dalam kosmetik, makanan dan produk farmasetika. Penggunaan kombinasi paraben dapat meningkatkan aktivitas antimikroba (Budiman, 2008).

Pada kelompok Tanpa Perlakuan, peningkatan ketebalan epitel secara statistik tidak signifikan tetapi pada pengamatan jumlah fibroblas menunjukkan nilai signifikan pada hari ke-0 dengan hari ke-4 dan hari ke-0 dengan hari ke-7. Hal ini di duga disebabkan oleh penyembuhan luka yang dibantu oleh sistem imun tikus itu sendiri. Hal ini menunjukkan bahwa tikus mempunyai sistem imun yang baik sehingga dapat merespon benda asing didalam tubuhnya. Pada kelompok ini tikus dibiarkan tanpa diberi perlakuan kecuali makan dan minum dari hari ke-0 hingga hari ke-7. Hal ini pula yang menyebabkan proses penyembuhan berjalan dengan baik karena tikus tidak terganggu oleh tangan manusia dalam proses penyembuhannya yang merupakan salah satu penyebab tikus menjadi stress