
**INDUKSI RE-EPITELISASI PADA PROSES PENYEMBUHAN LUKA GINGIVA
OLEH APLIKASI TOPIKAL EKSTRAK DAUN SAGE (*Salvia officinalis* L.)
KONSENTRASI 50% (Kajian *In Vivo* Pada Tikus *Sprague Dawley*)**

Ananto Ali Alhasyimi

Bagian Ortodonsi, Fkg Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

KATA KUNCI

Luka, penyembuhan luka, sage, re-epitelisasi

ABSTRAK

Luka pada gingiva sering terjadi baik disengaja maupun tidak disengaja. Luka adalah rusaknya kesatuan atau komponen jaringan. Penyembuhan luka merupakan reaksi jaringan yang rusak untuk mengembalikan fungsi jaringan tersebut. Salah satu proses yang terlibat dalam penyembuhan luka adalah re-epitelisasi. Sage (*Salvia officinalis* L.) merupakan tanaman yang berpotensi untuk penyembuhan luka. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak daun sage konsentrasi 50% secara topikal terhadap re-epitelisasi pada proses penyembuhan luka gingiva labial tikus *Sprague dawley*.

Dua puluh empat ekor tikus *Sprague dawley* dibagi dalam 2 kelompok, perlakuan dan kontrol. Perlukaan pada gingiva labial tikus dibuat dengan menggunakan *punch biopsy* diameter 2,5 mm. Luka pada kelompok perlakuan diberi ekstrak daun sage konsentrasi 50% dan pada kelompok kontrol diaplikasikan iod gliserin 2 kali sehari selama 1 menit secara topikal. Tiga ekor tikus dari masing-masing kelompok dikorbankan pada 1, 3, 5 dan 7 hari setelah perlukaan. Jaringan luka diambil, diproses secara histologis dan dilakukan pengecatan dengan menggunakan metode Hematoksin Eosin (HE). Pengukuran ketebalan jaringan epitel gingiva dilakukan menggunakan mikrometer okuler digital. Data ketebalan epitel dianalisis menggunakan *paired samples t-test*.

Hasil pengukuran ketebalan jaringan epitel gingiva dengan *paired samples t-test* menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada 3, 5 dan 7 hari setelah perlukaan. Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian ekstrak daun sage konsentrasi 50% dapat menginduksi re-epitelisasi pada proses penyembuhan luka gingiva labial tikus *Sprague dawley* serta lebih efektif dibandingkan iod gliserin.

PENDAHULUAN

Gingiva adalah bagian mukosa rongga mulut yang mengelilingi gigi dan *ridge* alveolar, berfungsi melindungi jaringan rongga mulut terhadap pengaruh lingkungan dan tersusun atas lapisan epitel¹. Rongga mulut sering mengalami trauma yang pada akhirnya akan menimbulkan luka pada

gingiva saat menjalankan fungsinya. Penyembuhan luka adalah respon restoratif alami terhadap kerusakan dan merupakan suatu proses dinamis yang secara optimal akan mengembalikan fungsi dan integritas jaringan yang merupakan interaksi dari tahapan selular kompleks yang memacu penutupan dan pengaturan kembali, serta

pengembalian kekuatan tarik dari jaringan yang terluka^{2,3}. Re-epitelisasi merupakan fase proliferasi dari proses penyembuhan luka yang dimulai 24 jam setelah terjadi luka⁴. Ketika re-epitelisasi telah selesai epitel mukosa kembali ke bentuk semula, dan terbentuk ikatan desmosom baru dengan sel epitel yang lain serta ikatan hemidesmosom pada membran basal yang diperbaiki⁵.

Dewasa ini, tumbuh-tumbuhan telah menjadi sumber bahan farmasi dan hampir seperempat dari obat-obatan mengandung ekstrak tumbuhan alami. *Herbal medicine* mempunyai efek samping yang relatif lebih kecil jika dibandingkan dengan obat sintetik yang dibuat oleh pabrik farmasi, disamping harganya relatif murah dan mudah dijangkau oleh seluruh kalangan masyarakat⁶. Sage (*Salvia officinalis* L.) adalah tanaman obat yang bernilai tinggi, yang banyak digunakan dalam pengobatan tradisional karena aktivitas antioksidan, antibakteri, antijamur, antiinflamasi, antiviral, dan antialergi⁷. Adanya kandungan vitamin A, vitamin C, vitamin E, flavonoid, saponin, dan zink diduga berperan sebagai senyawa yang mampu mempercepat proses penyembuhan luka. Ekstrak etanol daun sage konsentrasi 50% bersifat antibakteri melalui mekanisme penghambatan kerja enzim bakteri sehingga efektif untuk mencegah aktivitas kolagenolitik dari *Porphyromonas gingivalis*⁸. Menurut British Herbal Medicine Association⁹ aplikasi topikal

ekstrak 50% daun sage menunjukkan aktivitas antiinflamasi yang kuat. Zupko dkk.,¹⁰ menambahkan bahwa ekstrak 50% daun sage dapat menghambat aktivitas enzim lipid peroksidase karena kandungan asam rosmarin yang bersifat antioksidan.

Pada penelitian ini, perlukaan dilakukan pada gingiva labial tikus *Sprague dawley* karena epitel gingiva pada manusia menyerupai tikus dengan struktur mikroskopis yang merupakan epitel pipih berlapis. Selain itu, jaringan periodontal tikus putih mempunyai beberapa kemiripan dengan manusia dalam hal anatomi, mikrobiologi dan patogenesis periodontitis^{11,12}.

BAHAN DAN METODE

Subjek penelitian berupa 24 ekor tikus putih galur *Sprague dawley* jantan, berumur 1,5-2 bulan, dengan berat badan 150-200 gram. Subjek dibagi secara acak dalam 2 kelompok yaitu kelompok perlakuan dan kontrol positif. Kedua kelompok tersebut masing-masing dibagi lagi untuk setiap waktu pengamatannya yaitu 1, 3, 5, dan 7 hari setelah perlukaan yang masing-masing terdiri dari 3 ekor tikus. Tikus-tikus yang digunakan sebagai hewan coba diaklimatisasi terlebih dahulu selama 2 hari dalam kandang individual. Sebelum dilakukan perlukaan, tikus-tikus tersebut diinjeksi intramuskular dengan *phenobarbital* dosis 100 mg/kg BB. Tikus-tikus tersebut kemudian dianestesi dengan *pehacain* dosis 0,2 ml/kg BB pada daerah gingiva labial gigi insisivus

mandibula. Daerah sekitar perlukaan diolesi dengan alkohol 70% sebagai antiseptik. Perlukaan dibuat pada gingiva labial di bawah kedua gigi anterior mandibula dengan *punch biopsy* berdiameter 2,5 mm dengan kedalaman mencapai tulang alveolar.

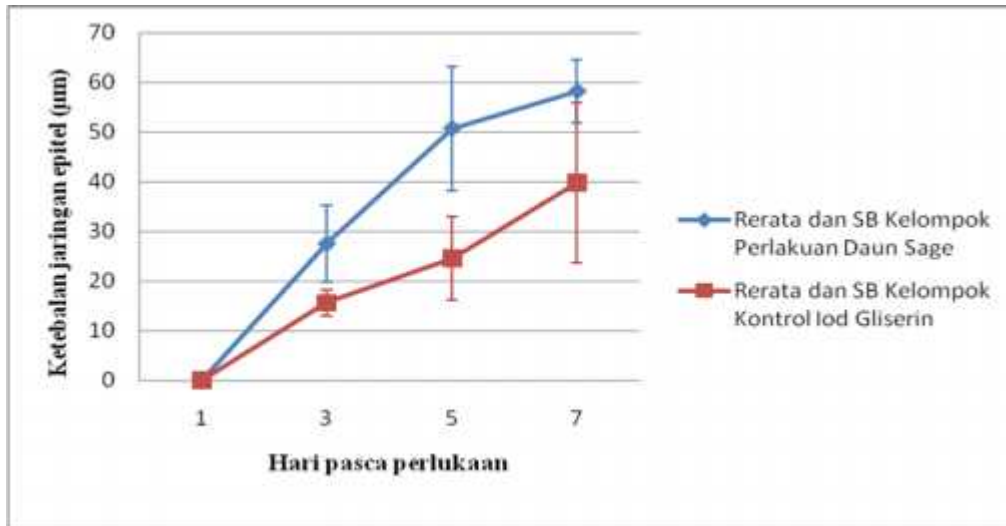
Pada kelompok perlakuan diaplikasikan secara topikal ekstrak daun sage konsentrasi 50% sedangkan pada kelompok kontrol positif diaplikasikan iod gliserin. Aplikasi dilakukan sebanyak 2 kali sehari setiap pagi dan sore selama 1 menit, sebanyak 200 μ L dengan menggunakan *cotton bud* steril. Tiga ekor tikus kelompok perlakuan dan tiga ekor tikus kelompok kontrol dikorbankan pada 1, 3, 5 dan 7 hari setelah perlukaan. Ekstrak daun sage adalah sari yang diperoleh dari daun sage dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 80%. Ekstrak daun sage dilarutkan dalam aquades untuk mendapatkan konsentrasi 100%. Kemudian dilarutkan dengan menggunakan larutan *carboxymethylcellulose natrium* (CMC-Na) 0,5 % (b/v) hingga mencapai konsentrasi 50%.

Selanjutnya, tikus dikorbankan sesuai hari perlukaan dengan cara dimasukkan ke dalam stoples berisi gas eter. Prosedur ini dilakukan untuk mengambil jaringan perlukaan, yaitu mandibula tikus, kemudian dicuci dengan

larutan NaCl fisiologis 0,9% dan dimasukkan ke dalam pot yang berisi *buffered* formalin 10% dan dilakukan pembuatan sediaan histologis. Pengukuran ketebalan jaringan epitel gingiva dilakukan dengan mikrometer okuler digital yang dipasang pada lensa okuler mikroskop cahaya dan dihubungkan dengan koneksi USB 2.0 dengan tampilan citra *realtime*. Pengamatan jaringan epitel di daerah perlukaan dilakukan dengan perbesaran 280 kali. Ketebalan jaringan epitel diukur mulai dari lapisan basal (*stratum basal*) sampai dengan lapisan korneum (*stratum corneum*) yang terluar secara tegak lurus mulai dari epitel yang baru terbentuk dari tepi luka. Setiap preparat diamati oleh 1 orang pengamat dan pada daerah perlukaan dipilih lapisan epitel pada dua titik, yaitu di daerah epitel paling tebal dan di daerah paling tipis. Pengukuran dilakukan dengan mengambil rata-rata dari kedua titik tersebut. Data yang diperoleh dianalisis dengan *independent samples t-test*.

HASIL

Hasil penelitian berupa ukuran ketebalan epitel mukosa gingiva labial tikus pada kelompok kontrol positif (iod gliserin) dan kelompok perlakuan (ekstrak daun sage konsentrasi 50%) disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Pola peningkatan rerata ketebalan jaringan epitel pada kelompok perlakuan (daun sage) dan kelompok kontrol positif (iod gliserin).

Pada Gambar I terlihat bahwa 1 hari setelah perlukaan belum terjadi re-epitelisasi baik pada kelompok perlakuan maupun kontrol. Pada kelompok kontrol, jaringan epitel mulai terbentuk pada 3 hari setelah perlukaan, sedangkan pada kelompok perlakuan belum terlihat pembentukan jaringan epitel. Jaringan epitel semakin menebal dan mencapai puncaknya pada 7 hari setelah perlukaan pada kelompok perlakuan. Perbedaan rerata ketebalan jaringan epitel antara kedua kelompok tampak terjadi pada 1, 3, 5 dan 7 hari setelah perlukaan.

Hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan nilai signifikansi kelompok perlakuan dan kelompok kontrol berturut-turut sebesar 0,130 dan 0,314 ($p > 0,05$) yang mengindikasikan bahwa kedua kelompok data terdistribusi normal. Untuk mengetahui perbedaan rerata diantara kedua kelompok dilakukan *paired samples t-test*. Tabel I

menunjukkan rangkuman hasil *independent samples t-test*.

Tabel I. Rangkuman hasil *independent samples t-test* antara 2 kelompok

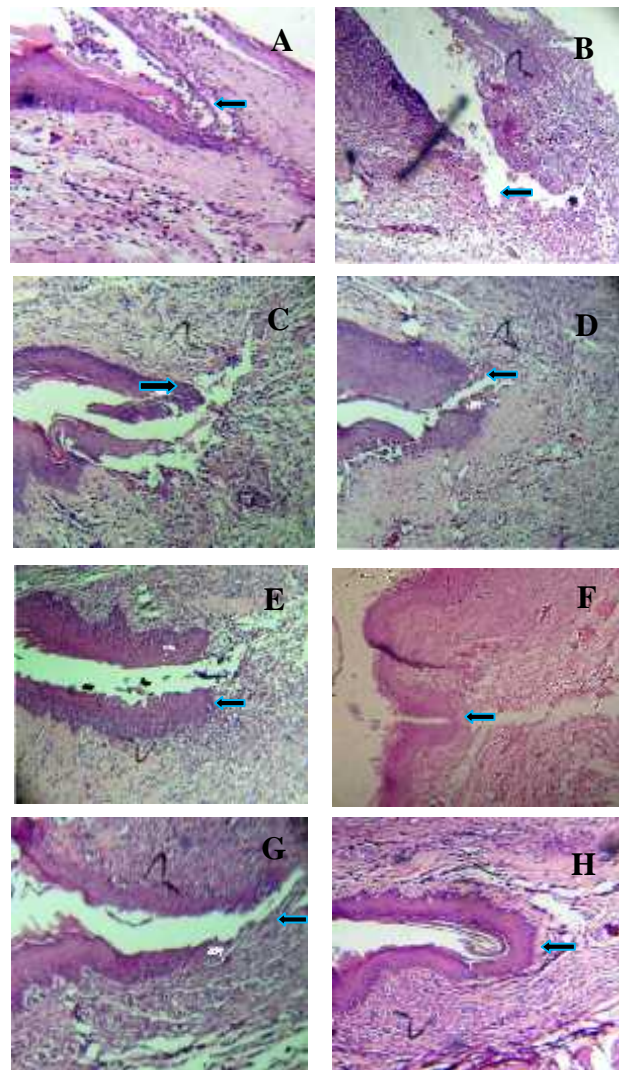
Hari	Sig. (2-tailed)
1	-
3	0,01*
5	0,01*
7	0,00*

Keterangan: (*) = signifikan ($p < 0,05$)

Hasil *independent samples t-test* menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol positif pada 3, 5 dan 7 hari setelah perlukaan. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun sage konsentrasi 50% mempunyai efek yang lebih cepat dibandingkan dengan iod gliserin dalam menginduksi re-epitelisasi pada proses penyembuhan luka.

Hasil pengamatan mikroskopis 1 hari setelah perlukaan pada kedua kelompok tampak adanya dominasi infiltrasi sel-sel radang serta jaringan epitel yang belum terbentuk pada daerah luka (Gambar 2A, 2B). Pada 3 hari setelah perlukaan secara mikroskopis terlihat jaringan epitel pada kelompok perlakuan telah terbentuk lebih tebal daripada kelompok kontrol dengan sedikit jaringan granulasi. Pada kelompok kontrol jaringan epitel telah terbentuk tipis dan tampak adanya jaringan granulasi yang

dominan pada daerah luka (Gambar 2C, 2D). Pengamatan mikroskopis 5 hari setelah perlukaan, ketebalan jaringan epitel pada kelompok perlakuan mengalami peningkatan. Jaringan epitel pada kelompok perlakuan lebih tebal daripada kelompok kontrol serta tampak pembentukan retepek (Gambar 2E, 2F). Secara mikroskopis luka 7 hari setelah perlukaan menunjukkan pembentukan retepek pada kelompok perlakuan, namun keadaan tersebut tidak dijumpai pada kelompok kontrol (Gambar 2G, 2H).



Gambar 2. Gambaran mikroskopis jaringan epitel 1 hari setelah perlukaan (A,B), 3 hari setelah perlukaan (C,D), 5 hari setelah perlukaan (E,F), 7 hari setelah perlukaan (perbesaran 400 kali)

PEMBAHASAN

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sage konsentrasi 50% mempunyai kemampuan yang lebih cepat dalam menginduksi re-epitelisasi proses penyembuhan luka gingiva tikus dibandingkan dengan iod gliserin. Kemampuan ekstrak daun sage untuk mempercepat proses penyembuhan luka karena adanya kandungan vitamin A, vitamin C, kalsium, dan zink yang merupakan kofaktor nutrisi dalam proses penyembuhan luka^{8,13,14}. Kandungan saponin dalam daun sage juga mendukung proses re-epitelisasi dengan memodifikasi ekspresi reseptor TGF- β sehingga dapat menstimulasi sintesis fibronectin oleh fibroblast. Fibronectin merupakan glikoprotein yang berperan penting sebagai mediator komponen matriks ekstraseluler yang akan mendukung adhesi keratinosit dan memandu sel epitel untuk menyeberangi daerah luka¹⁵. Kandungan vitamin A dalam daun sage diduga sebagai komponen yang mampu mempercepat proses re-epitelisasi. Pernyataan ini didukung oleh Falanga¹⁶ bahwa vitamin A mempunyai kemampuan khusus untuk mengatur pertumbuhan, diferensiasi sel epitel dan proliferasi sel epitel. Asrofudin¹⁷ menambahkan bahwa vitamin A mempunyai peran penting terutama dalam pemeliharaan integritas sel epitel. Selain oleh vitamin A, re-epitelisasi juga dipercepat oleh vitamin C yaitu dengan memberi sinyal pada molekul khusus yang

disebut integrin yang berfungsi sebagai pengikat antara sel-sel epidermal ke membran basal saat re-epitelisasi¹⁶. Kalsium memegang peranan penting dalam mengatur fungsi sel serta menjaga permeabilitas membran sel¹⁸. Zink merupakan salah satu mineral yang berperan dalam pembelahan sel yang dibutuhkan dalam proses perbaikan dan penyembuhan luka. Zink dapat mencegah kerusakan permeabilitas lapisan epitel¹⁹.

Pengamatan mikroskopis 1 hari setelah perlukaan baik pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol belum menunjukkan adanya proses re-epitelisasi yang sesuai dengan pernyataan Szpaderska²⁰, bahwa re-epitelisasi mukosa mulut terjadi 24 jam setelah perlukaan. Keratinosit mulai berpindah ke daerah perlukaan sekitar 24 jam setelah perlukaan. Migrasi keratinosit distimulasi oleh adanya “*free edge effect*” yang merupakan kosongnya sel-sel tetangga dari sel epitel lapisan basal pada tepi luka. Saat terbentuk matriks provisional, keratinosit akan berubah fenotipnya dari *stationary* menjadi *migratory*. Keratinosit yang berasal dari lapisan basal epitel pada tepi jaringan luka melarutkan ikatan hemidesmosom dan lepas dari membran basal kemudian berpindah secara cepat menyeberangi luka hingga mencapai tepi luka. Selanjutnya terjadi peningkatan pembelahan sel menyebabkan diferensiasi untuk membentuk jaringan epitel kembali normal^{4, 21}.

Tiga hari setelah perlakuan, jaringan epitel telah terbentuk pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol. Proliferasi maksimal keratinosit terjadi 48-72 jam setelah perlakuan²². Menurut Singer dan Clark⁴ dua hari setelah perlakuan keratinosit mulai aktif berproliferasi yang distimulasi oleh pelepasan *epidermal growth factor*, *transforming growth factor- α* , dan *keratinocyte growth factor*. Saat terbentuk membran basal baru, maka fenotip keratinosit akan kembali pada fenotip *stationary* dan mulai aktif berproliferasi.

Lima hari setelah perlakuan, jaringan epitel semakin menebal pada kelompok perlakuan. Jaringan epitel kelompok perlakuan lebih tebal bila dibandingkan dengan kelompok kontrol serta sudah terjadi pembentukan retepek. Retepek merupakan ikatan antara epitel lapisan basal dengan lamina propia yang diperkuat dengan struktur yang saling mengunci dan membentuk bagian-bagian yang menjorok ke lamina propia²³. Adanya retepek mengindikasikan bahwa proses re-epitelisasi berjalan baik, untuk membentuk jaringan epitel kembali normal²⁴. Peningkatan ketebalan jaringan epitel pada kelompok perlakuan berlanjut sampai dengan 5 hari dan semakin tebal pada 7 hari setelah perlakuan (Gambar 2). Bartold dkk.¹ menyatakan bahwa pada penyembuhan luka gingiva pada 7 hari setelah prosedur gingivektomi, jaringan epitel baru yang terbentuk telah matang dan lapisan korneum baru biasanya tampak jelas.

SIMPULAN

Pemberian ekstrak daun sage konsentrasi 50% dapat menginduksi re-epitelisasi pada proses penyembuhan luka gingiva labial tikus *Sprague dawley* serta lebih efektif dibandingkan iod gliserin.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bartold PM, Walsh LJ, Narayanan, AS. Molecular and Cell Biology of the Gingiva, *Periodontology* 2000, 2000. 24: 28-55.
2. de la Torre JI. Wound Healing, Chronic Wound, 2006. <http://www.emedicine.com/plastic.htm>, 08/01/2016.
3. Komarcevic A. The modern approach to wound treatment, *Med Pregl*, 2000. 53 (7-8): 363-368.
4. Singer AJ, Clark RAF. Cutaneous Wound Healing, *NEJM*, 1999. 341(10): 738-746.
5. Romo T. Wound Healing, *Skin*, 2008, <http://www.emedicine.com/ent/TOPIC13.HTM>, 08/01/2016.
6. Rosidin. Rancang bangun sistem informasi bisnis tanaman obat. 2009. <http://www.elibrary.mp.ipb.ac.id/gld.php>, 08/01/2016.
7. Dragan TYK, Milena TN, Stephanie VI, Jelena BS, Vlada BV. Extraction of Flavonoids from Garden (*Salvia officinalis* L.) and Glutinous (*Salvia glutinosa* L.) Sage by Ultrasonic and Classical Maceration, *J. Serb. Chem. Soc*, 2007. 72 (1) 73-80.
8. Barnes J, Anderson LA, Phillipson JD. Herbal Medicines, a Guide for Healthcare Professionals, second edition, 2002. Pharmaceutical Press, London, h. 408-411.
9. British Herbal Medicine Association. Sage Leaf (*Salviae officinalis folium*). 1996. www.bhma.info/downloads/SalviaMonograph.pdf, 08/01/2016.
10. Zupko I, Hohmann J, Redei D, Falkay G, Janicsak G, Mathe I. Antioxidant Activity of Leaves of *Salvia* Species in Enzyme-Dependent and Enzyme-Independent Systems of Lipid Peroxidation and their Phenolic Constituents, *Planta Medica*, 2001. 67: 366-368 (Abstr.).
11. Listgarten MA. Similarity of Epithelial Relationship in the Gingiva of Rat and Man, *J. Periodontal*, 1975. 46(11): 677-680.
12. Ruslin. Pengaruh Kondisi Diabetes Mellitus terhadap Jumlah Fibroblas Gingiva Tikus

- Sprague dawley yang Diinduksi Injeksi Streptozotolin, MIKGI. 2003. 5(9): 223.
13. MacKay D, Miller A. Nutritional Support for Wound Healing, *Alternative Medicine Review*. 2003. 8(4): 359-373.
 14. Mangajji U. 2010. Sage Herb Nutrition Facts.2010 <http://www.nutrition-and-you.com>, 08/01/2016.
 15. Stevens A, Lowe JS. *Human Histology*, second edition, 1996. Mosby Inc, Edinburgh, h. 54-55.
 16. Falanga V. Wound Healing, *American Academy of Dermatology*. 2008. <http://www.aad.org/education/students/woundhealing.htm>, 08/01/2016.
 17. Asrofudin, Vitamin A dan Manfaatnya, 2010, <http://www.canboz.co.cc/2010/03/vitamin-dan-manfaatnya.html>, 08/01/2016.
 18. Almatsier S. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*, 2004. Percetakan Gramedia Pustaka Utama, Jakarta. h. 58-176, 249-254.
 19. Armin SA. Zat Gizi Mikro Zink, dari Aspek Molekuler pada Program Kesehatan Masyarakat, *Suplement*, 2000. 26(3): 29-35.
 20. Szpaderska AM, Zuckerman JD, DiPietro LA. Differential Injury Responses in Oral Mucosal and Cutaneous Wounds, *Journal of Dental Research*, 2003. 82(8): 621-626.
 21. Hakkinen L, Uitto J, Lariava H. Cell Biology of Gingival Wound Healing, *Periodontology* 2000, 2000, 24:127-152.
 22. Deodhar AK, Rana RE. Surgical Physiology of Wound Healing, *J Postgrad Med*, 1997, 43: 52-6.
 23. Puspitawati R. Struktur Makroskopik dan Mikroskopik Jaringan Lunak Rongga Mulut, *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia*. 2013. 10(Edisi Khusus) : 462-467.
 24. Nanci A. *Ten Cate's Oral Histology, Development, Structure and Function*, 2008. 7th Ed, Mosby Elsevier, St Louis, h. 325-332.