

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Inflamasi merupakan reaksi terhadap benda asing yang masuk tubuh, kerusakan jaringan yang disebabkan invasi mikroorganisme, bahan kimia berbahaya dan atau faktor fisik. Tanda inflamasi berupa kemerahan, panas, bengkak, sakit dan gangguan fungsi (Karnen, GB, 2000). Pada tahap peradangan, terjadi peningkatan permeabilitas kapiler setempat, sel-sel leukosit polimorfonuklear (neutrofil) yang diikuti oleh monosit (makrofag muda) dengan rangsangan kemotaksis bermigrasi ke daerah radang (Peacock and Winkle, 1976). Neutrofil mempunyai fungsi utama sebagai garis pertahanan pertama untuk memfagosit mikroorganisme. Segera setelah pH peradangan menjadi asam akibat metabolisme mikroorganisme dan enzim lisosomal neutrofil, maka banyak neutrofil yang mengalami lisis, dalam suasana asam makrofag mononuclear sebagai garis pertahanan kedua mengambil alih proses fagositosis hingga berakhirnya proses peradangan serta mengangkut neutrofil yang telah rusak (Tizard, 1988). Makrofag mononuclear sangat berperan penting dalam melaksanakan fagositosis dan menghancurkan partikel asing, jaringan mati serta mengolah bahan asing tersebut sedemikian rupa sehingga bahan asing tersebut dapat membangkitkan tanggap kebal (Tizard, 1988)

Hampir semua penyakit ditandai dengan gejala inflamasi, dan pada umumnya berhubungan dengan sistem imunologi tubuh, misalnya karena luka, baik luka kecelakaan, luka bakar, kanker, sakit gigi, dan masih banyak lagi. Mengingat begitu pentingnya penyakit dengan gejala inflamasi tersebut dan ditunjang keadaan perekonomian Indonesia yang memprihatinkan, harga obat yang mahal menyebabkan penderita dengan gejala inflamasi banyak mengalami kendala dalam pengelolaan penyakitnya. Oleh karena itu diperlukan usaha untuk memperoleh obat berkhasiat antiinflamasi dari tanaman ataupun

senyawa-senyawa kimia sintetis. Dengan mempertimbangkan kekayaan alam Indonesia yang mempunyai kelimpahan jenis tumbuhan obat relatif tinggi, usaha pencarian dan penggalian tumbuhan obat untuk dimanfaatkan bagi pemeliharaan kesehatan masyarakat, termasuk untuk antiinflamasi juga menjadi prioritas utama. Akan tetapi penggunaan tanaman obat tersebut masih dalam taraf empiris dan belum banyak dilakukan penelitian yang lebih mendalam, misalnya efek farmakodinamik maupun farmakokinetik serta toksisitasnya. Salah satu tanaman obat yang dapat dimanfaatkan sebagai antiinflamasi antara lain lidah buaya (Robinson, Larry E., 2001)

Lidah buaya (*Aloe vera*), merupakan tumbuhan yang tersebar luas di wilayah Indonesia, mudah dibudidayakan serta banyak digunakan di masyarakat untuk mengatasi berbagai keluhan kesehatan. Kandungan kimia tumbuhan ini antara lain senyawa kimia golongan flavonoid, vitamin C, E dan zat besi (Syamsuhidayat, dkk., 1991). Berdasarkan hasil penelitian Robinson, Larry E (2001) ternyata lidah buaya dapat digunakan sebagai imunomodulator. Oleh karena itu pada penelitian ini akan diuji cobakan tentang khasiat lidah buaya sebagai antiinflamasi dengan mengamati jumlah PMN (polimorfonuklear) dan daya ingestinya pada mencit yang terpapar *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan permasalahan di atas dapat dibuat suatu rumusan masalah yaitu :

1. Apakah lidah buaya dapat menurunkan jumlah PMN pada mencit yang terpapar *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ?
2. Apakah lidah buaya dapat menurunkan daya ingesti PMN pada mencit yang terpapar *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ?

1.3 Hipotesis

Hipotesis yang dapat diajukan pada penelitian ini adalah :

1. Lidah buaya dapat menurunkan jumlah PMN pada mencit yang dipapar *Actinobacillus actinomycetemcomitans*
2. Lidah buaya dapat menurunkan daya ingesti PMN pada mencit yang dipapar *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Lidah Buaya (*Aloe vera*)

Menurut Syamsuhidayat dan Hutapea, (1994) lidah buaya mempunyai sinonim *Talinum racemosum* Rohrbach, nama umum atau dagang Lidah buaya serta nama daerah : Ilat baya (Jawa). Adapun klasifikasinya adalah sebagai berikut :

Divisi : Spermatophyta
 Sub Divisi : Angiospermae
 Kelas : Monocotyledoneae
 Bangsa : Liliiflorae
 Suku : Liliaceae
 Marga : Aloe
 Jenis : *Aloe vera*, Linn

Lidah buaya merupakan tanaman sukulen (bergetah, berdaging, dan mengandung banyak air) dengan rata-rata daun 10 – 30 lembar dengan ketebalan sekitar 2,5 cm da tinggi mencapai 30 – 50 cm.

Manfaat dari Lidah buaya telah banyak dipergunakan secara luas di seluruh dunia untuk merawat kesehatan dan pengobatan berbagai penyakit. Semua bagian dari tanaman lidah buaya mulai dari bunga, daun dan akar dapat dipakai untuk pengobatan. Pemanfaatan itu dapat secara internal maupun eksternal. Secara internal dapat digunakan untuk pengobatan gangguan perut, batuk, pilek, penyakit gigi dan gusi, diabet, wasir dan menjaga kesehatan tubuh (Wijayakusuma, dkk., 1988). Secara eksternal digunakan untuk perawatan kulit, rambut, pengobatan luka dan berbagai penyakit kulit (Magnuson and Woller, 1991)

Gel yang terdapat pada daun lidah buaya merupakan bagian yang paling banyak digunakan. Gel ini berwarna bening sampai kekuningan yan merupakan dua per tiga bagian

dari berat daun (Terry, 1977). Kandungan terbesar dari gel lidah buaya adalah air yaitu 99,5%, sisanya adalah padatan yang terutama terdiri dari karbohidrat yaitu monosakarida dan polisakarida (Morsy, 1991). Secara kuantitas, protein dalam lidah buaya ditemukan dalam jumlah kecil, akan tetapi secara kualitatif protein lidah buaya terdiri dari 17 macam asam amino yang disebut sebagai hormon penyembuh luka yaitu leusin, lisin, valin, histidin, asam aspartat, asam glutamat, arginin, alanin, glisin, isoleusin, prolin, fenilalanin, serin, threonin, methionin, triptofan dan tirosin. Beberapa vitamin yang terdapat dalam lidah buaya antara lain vitamin A, C, riboflavin, thiamin dan niasin dengan vitamin A sebagai komponen terbesar, selain itu juga terdapat asam folat dan kolin dalam jumlah yang kecil (Morsy, 1991) dan terdapat mineral antara lain kalsium, kalium, magnesium dan natrium.

Kandungan spesifik yang terdapat dalam lidah buaya adalah saponin yang bersifat sebagai antibakteri, derivat anthraquinon yaitu aloin untuk pencahar, krisofanat, asam aloetat dan emolin sebagai antibakteri (Fit, 1983). Juga mengandung minyak atsiri, lignin, enzim-enzim proteolitik, karboksipeptidase, katalase, amilase, oksidase dan aminase (Fit, 1983 dan Morsy, 1991).

Menurut Edi W. dan Koesnandar (2002), lidah buaya diketahui mempunyai banyak manfaat dan khasiat seperti antiinflamasi, antijamur, antibakteri dan regenerasi sel. Disamping itu, berfungsi menurunkan kadar gula dalam darah bagi penderita diabetes, mengontrol tekanan darah, menstimulasi kekebalan tubuh terhadap serangan penyakit kanker serta dapat digunakan sebagai nutrisi pendukung bagi penderita HIV, mengeluarkan bahan kimia beracun, bahan pengawet, pewarna dan pengharum badan.

Pada tahun 1977 dilaporkan dalam *Drugs and cosmetic journal* bahwa rahasia kemampuan lidah buaya terletak pada senyawa yang dikandungnya, terutama glukomannan, asam amino essential dan non essential, enzim oksidase, katalase, lipase dan protease. Enzim yang terakhir ini membantu memecah bakteri, sehingga gel lidah buaya bersifat

antibakteri sekaligus meredakan rasa sakit. Sementara itu, asam amino berfungsi menyusun protein pengganti sel yang rusak (Edi W. dan Koesnandar, 2002). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Roni (2005) yang menyatakan bahwa gel lidah buaya dapat menurunkan inflamasi pada tikus putih yang diinduksi karagenin secara intraplantar

2.2 Tinjauan Tentang Inflamasi

Inflamasi adalah reaksi jaringan hidup terhadap semua bentuk jejas. Inflamasi merupakan gejala yang menguntungkan dan pertahanan yang hasilnya adalah netralisasi dan pembuangan agen penyerang, penghancuran jaringan nekrosis dan pembentukan keadaan yang dibutuhkan untuk perbaikan dan pemulihan.

Penyebab inflamasi antara lain berupa noksi kimia, noksi fisika, infeksi dengan mikroorganisme atau parasit dan penting untuk diketahui bahwa inflamasi dan infeksi itu tidak sinonim. Infeksi hanya merupakan salah satu penyebab dari inflamasi, sedangkan inflamasi dapat terjadi dengan mudah pada keadaan steril.

Inflamasi memiliki tiga komponen penting yaitu 1) perubahan penampang pembuluh darah dengan akibat meningkatnya aliran darah, 2) perubahan struktural pada pembuluh darah mikro yang memungkinkan protein plasma dan leukosit meninggalkan sirkulasi darah, 3) agregasi leukosit di lokasi jejas. Selama berlangsungnya fenomena inflamasi, banyak mediator kimia yang dilepaskan secara lokal antara lain histamin, 5-hidroksitriptamin (5-HT), faktor kemotaktik, bradikinin, leukotrien dan prostaglandin. Penelitian terakhir menunjukkan autakoid lipid PAF (*Platelet Activating Factor*) juga merupakan mediator inflamasi (Mutsler, 1991; Gan, 1995; Robin and Kumar, 1995; Price and Kumar, 1997).

Tanda-tanda utama inflamasi antara lain 1) kemerahan (*rubor*) yang disebabkan karena jaringan yang meradang banyak mengandung darah akibat kapiler-kapilernya melebar dan kapiler-kapiler yang tadinya kosong menjadi berisi darah juga; 2) panas

(kalor) yang terjadi akibat sirkulasi darah yang meningkat; 3) pembengkakan (tumor) yang disebabkan oleh hiperemi dan sebagian besar oleh eksudat yang terjadi pada inflamasi; 4) rasa nyeri (dolor) yang disebabkan pengaruh zat pada ujung syaraf perasa yang dilepaskan oleh sel yang cedera yaitu histamin, selain itu juga disebabkan oleh tekanan yang meninggi dalam jaringan akibat terjadinya eksudat dan 5) gangguan fungsi (*functiolesia*).

Beberapa mediator kimia yang terlibat dalam proses inflamasi diantaranya adalah histamin, prostaglandin, leukotrien, kinin, serotonin. Zat tersebut merupakan autakoid yaitu suatu hormon lokal yang berfungsi dan bekerja di tempat hormon itu dibentuk atau dilepaskan (Neal, MJ., 2002).

2.3 Fagositosis Netrofil

Proses fagositosis adalah bagian dari respons imun non-spesifik dan memainkan peran pada pertemuan pertama hospes dengan benda-benda asing. Endositosis adalah istilah yang lebih umum, meliputi baik **fagositosis** (ingesti partikel-partikel) dan **pinositosis** (memakan zat-zat non partikel). Kelompok-kelompok sel khusus yang melaksanakan fungsi-fungsi tersebut biasanya dinamakan sel-sel fagositik. Dalam beberapa kasus, pencernaan lebih lanjut benda-benda ini menjadi fragmen-fragmen yang lebih kecil memudahkan penelannya. Pada manusia, fagositosis dilakukan terutama oleh fagositosis polimorfonuklear atau neutrofil, makrofag, dan dalam jumlah yang kecil oleh eosinofil (Karnen, GB, 2000)..

Fagositosis merupakan komponen penting pada inflamasi. Dalam proses inflamasi ada 3 hal yang terjadi sebagai berikut: 1) Pengiriman persediaan darah ke tempat benda asing, jasad renik atau jaringan yang rusak, 2) Peninggian permeabilitas kapiler yang ditimbulkan oleh pengerutan sel endotel. Hal tersebut memungkinkan molekul yang lebih besar seperti antibodi dan fagosit bergerak keluar pembuluh darah dan sampai di tempat benda asing, jasad renik atau jaringan yang rusak, 3) Leukosit, terutama fagosit polimorfonuklear dan makrofag dikerahkan dari sirkulasi dan bergerak ke tempat benda

asing, jasad renik atau jaringan yang rusak, hal tersebut dipermudah oleh pelepasan C3a dan C5a pada aktivitas komplemen yang bersifat kemotaksis.

Dalam proses tersebut banyak pula leukosit dihancurkan kemudian makrofag lain yang memasuki daerah tersebut akan mengakhiri inflamasi. Ketiga kejadian tersebut diatas disebut inflamasi (Karnen, GB, 2000).

Neutrofil mempunyai kemampuan untuk melekat pada kompleks antigen-antibodi-komplemen. Neutrofil melekat pada imunoglobulin sebagai antibodi spesifik yang terikat antigen atau pada gamaglobulin. Reaktivitas ini tergantung pada adanya fragmen Fc imunoglobulin. Karena proses ini menyebabkan fagositosis terhadap kompleks pada keadaan yang sesuai, maka hal ini menggambarkan opsonisasi. Perlekatan neutrofil dapat juga dirangsang oleh fiksasi C3. Karena sejumlah besar molekul C3b dilekatkan pada tiap-tiap molekul antibodi, C3 bertindak sebagai penguat pada reaktivitas perlekatan kompleks imun. Reseptor pada neutrofil untuk perlekatan C3 berbeda dari reseptor untuk gamaglobulin tetapi secara antigenik serupa dengan reseptor pada makrofag, monosit dan eritrosit primata (Bellanti, 1993).

Fagosit akhirnya memakan benda asing, jasad renik atau jaringan yang rusak. Selama proses tersebut enzim lisosom dilepas oleh fagosit keluar sel, sehingga hal itu dapat menimbulkan kerusakan pada jaringan sekitarnya. Jelas bahwa sistem imun non spesifik dan sistem imun spesifik bekerja sama dengan usaha untuk mengembalikan keseimbangan badan dan bahwa dalam usaha tersebut, hal-hal yang tidak menyenangkan untuk tubuh seperti panas, bengkak, sakit dan kerusakan jaringan dapat terjadi (Garna, 1996). Neutrofil merupakan garis depan pertahanan seluler terhadap invasi jasad renik. Mereka menfagosit partikel-partikel kecil dengan aktif, dan hal ini mungkin disebabkan spesialisasi membrannya untuk proses ini. Sel-sel tidak aktif dan berbentuk sferis waktu beredar tapi bentuknya berubah bila melekat pada substrat padat, dimana mereka bermigrasi dengan pseudopodia. Sel bergerak dengan kecepatan 19-36 $\mu\text{m}/\text{menit}$. Setelah melekat pada

permukaan penyokong, granulosit mengalami proses penyebaran, ditandai oleh emisi sitoplasmik yang menonjol ke berbagai arah yang diubah menjadi hialoplasma (sitoplasma tanpa granula) (Karnen, GB, 2000).

Partikel-partikel yang difagosit oleh neutrofil dikelilingi oleh pseudopodia yang bersatu mengelilinginya, jadi partikel akhirnya menempati suatu vakuola (fagosom) yang dibatasi oleh membran yang berasal dari permukaan sel dan mengandung cairan ekstrasel dengan isinya. Segera setelah itu, granula azurofilik dan granula spesifik menggabungkan membrannya pada membran fagosom dan mengosongkan isinya ke dalam fagosom, sehingga melindungi sitoplasma dari kontak dengan enzim-enzim yang terdapat dalam granula. Pada proses ini terdapat pengeluaran granula dan akibatnya jumlah granula berkurang. Adanya asam-amino D oksidase dalam granula azurofilik penting dalam pencernaan dinding sel bakteri yang mengandung asam amino D. Lisosom yang terdapat dalam granula-granula ini juga penting untuk destruksi dinding sel bakteri. Enzim ke tiga juga sebagai pembantu efek bakterisidal polimorfonuklear neutrofil. Selama proses fagositosis, dibentuk peroksida. *Myeloperoxydase* yang terdapat dalam neutrofil berikatan dengan peroksida dan halida bekerja pada molekul tirosin dinding sel bakteri dan menghancurkannya (Karnen, GB, 2000).

Proses fagositosis dapat dibagi dalam dua fase, ialah fase perlekatan dan fase ingesti. Selama fase perlekatan, terjadi sentuhan kuat dengan partikel. Sentuhan ini dapat terjadi secara langsung antara partikel dan fagosit melalui proses tanpa dorongan, dalam hal mana perlekatan ini sangat tergantung pada sifat-sifat permukaan partikel yang akan difagositosis, misal hidrofobisitas dan tegangan permukaan. Pada keadaan lain, perlekatan melibatkan peran serta 2 jenis reseptor membran plasma fagosit yaitu reseptor untuk fragmen Fc dari molekul imunoglobulin dan reseptor untuk C3b, suatu komponen dari komplemen (Roitt, 1997).

Proses ingesti adalah langkah fagositosis selanjutnya dan memainkan peran penelanan partikel. Fagosit menginvasi membran plasmanya dan kemudian partikel dimasukkan ke dalam sitoplasma dan ditutup dalam vakuola (fagosoma), dengan dindingnya dibentuk dari membrana plasma yang terinvaginasi (Bellanti, 1993). Sesudah pembentukan fagosoma, membrana yang meliputi partikel-partikel itu, sedikit demi sedikit menjauh dari permukaan membrana, dan dimasukkan ke dalam sel, membentuk vakuola fagositik. Granula-granula lisosom, dalam leukosit masuk bersamaan dengan fagositik ini, dan membrana dari kedua struktur ini berfungsi menjadi fagolisosom. Granula-granula lisosom pecah, melepaskan isi enzimatisnya ke dalam vakuola dan bercampur dengan partikel-partikel yang diingesti. Proses ini disebut degranulasi, dan berperan sebagai mitra morfolitik dalam pemindahan enzim-enzim dari granula lisosom ke dalam fagosom. Granula-granula leukosit (primer) analog dengan lisosom sel-sel lain dan berisi beberapa enzim hidrolitik dan zat-zat bakterisid lain (Roitt, 1997).

2.4 *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

A. actinomycetemcomitans ialah bakteri gram negatif berbentuk kokobasilus, tak bergerak, dengan ukuran $(0,7 \pm 0,1) \times (1,0 \pm 0,4) \mu$, dapat tampak sendiri, berpasangan atau dalam koloni berbentuk kecil berdiameter 0,5-1,0 mm, halus, sirkuler, cembung. Berbentuk menyerupai *star shape* yang *translucent* pada sediaan padat atau tampak berbentuk seperti *crossed cigar* melekat pada *Tryptic Soy-Serum Bacitracin Vancomycin* (TSBV) lempeng agar, *capnophilic*, pertumbuhannya membutuhkan sedikit oksigen dan merupakan salah satu flora normal rongga mulut. *A. actinomycetemcomitans* bersifat fermentatif terhadap dekstrin, galaktosa, maltosa dan manitol, non hemolitik, indol negatif, katalase positif, non fermentatif terhadap sukrosa dan trihalosa, tidak menghasilkan enzim glukosidase dan galaktosidase serta tidak memerlukan faktor pertumbuhan X (*hemin*) dan V (*nikotine amide adenine dinucleotide*) untuk pertumbuhannya. *A. actinomycetemcomitans* memproduksi leukotoksin, kolagenase, lipopolisakarida, alkalin, asam fosfat, epiteliotoksin, *fibroblast-*

inhibitory factor dan *bone resorption-inducing toxin* (Ebersole and Taubman, 1995; Zambon, 1983).

Bakteri ini mengekspresikan beberapa antigen permukaan yang berbeda dan mengeluarkan toksin yang dapat menyebabkan timbulnya respon imun yang berbeda juga. Dinding sel pada bakteri gram negatif mengandung beberapa antigen, diantara ialah kompleks lipoprotein, polisakarida, lipid, o-antigen dan endotoksin. Lipopolisakarida disebut juga endotoksin yang merupakan komponen penting pada dinding sel bakteri gram negatif dan bertanggung jawab pada sifat biologinya dan disebut sebagai penentu virulensi (Karnen, GB, 2000).

Lipopolisakarida (LPS) yang berasal dari dinding sel bakteri gram negatif ini termasuk pada *T Cell-Independent* (TI) antigen, suatu antigen yang tidak memerlukan sel-T untuk mengaktivasi respon antibodi. Pada konsentrasi tinggi dapat menyebabkan aktivasi sel-B baik yang spesifik ataupun yang *non-spesifik*. Karena lebih dari satu jenis sel-B dapat diaktivasi sel ini, maka antigen ini disebut sebagai *polyclonal B-Cells activator*. Disamping itu antigen ini juga dapat mengaktivasi makrofag untuk memproduksi IL-1 dan TNF- α . Pada konsentrasi rendah TI antigen menyebabkan respon antibodi terhadap antigen spesifik (Karnen, GB, 2000).

LPS terdiri dari *o-specific polysaccharida*, *corepolysaccharida (outer-core)*, dan lipid "A" (*innercore*). LPS dilepaskan oleh bakteri gram negatif yang mati atau lisis, pada konsentrasi rendah dapat merangsang produksi antibodi spesifik. Disamping itu LPS juga berfungsi sebagai aktivator dari beberapa mediator, seperti IL-1, prostaglandin, dan TNF. LPS juga merangsang pelepasan prostaglandin E₂ dan IL-1 dari makrofag, monosit dan fibroblast. Pelepasan PGE₂ dan IL-1 dari makrofag akibat aktivasi LPS dari *A. actinomycetemcomitans* yang ikut berperan dalam resorpsi tulang *in-vitro* (Karnen, GB, 2000).

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT

3.1 Tujuan

3.1.1 Tujuan umum

Penelitian ini secara umum bertujuan untuk mencari obat alternatif yang berasal dari tanaman obat yaitu lidah buaya yang diharapkan hasilnya dapat digunakan untuk meningkatkan pertahanan tubuh akibat semua penyakit yang ditandai dengan gejala inflamasi

3.1.2 Tujuan khusus

Berdasarkan permasalahan di atas, penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa :

- Lidah buaya dapat menurunkan jumlah PMN pada mencit yang dipapar *Actinobacillus actinomycetemcomitans*
- Lidah buaya dapat menurunkan daya ingesti PMN pada mencit yang dipapar *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

3.2 Manfaat Penelitian

Pada program jangka pendek, penelitian ini difokuskan untuk pemanfaatan tanaman obat atau obat tradisional yang tepat dan rasional sehingga dapat membantu atau menunjang penggunaan obat modern sebagai sumber obat alternatif, sedangkan untuk jangka panjang dapat dimanfaatkan sebagai sumber bahan obat dan dikembangkan lebih lanjut khususnya sebagai obat untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh.



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, yang dilaksanakan pada bulan Juli sampai dengan Oktober 2005.

4.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini termasuk penelitian eksperimental laboratoris, sedangkan rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap. Estimasi besar sampel ditentukan berdasarkan rumus dari Higgins dan Kleinbaum (1985) yaitu sebanyak 24 ekor yang dibagi dalam empat kelompok perlakuan dimana masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Klasifikasi variabel

Variabel bebas pada penelitian ini adalah jus lidah buaya konsentrasi 25%, 50% dan 100%, variabel tergantung adalah jumlah PMN dan daya ingesti PMN, sedangkan variabel kendali adalah umur, berat badan, strain mencit dan jenis kelamin mencit, air minum, pakan, kandang, suhu udara, dan sanitasi,.

4.3.2 Definisi operasional variabel

- **Lidah buaya** merupakan tanaman sukulen (bergetah, berdaging, dan mengandung banyak air) dengan rata-rata daun 10 – 30 lembar dengan ketebalan sekitar 2,5 cm dan tinggi mencapai 30 – 50 cm
- **Jumlah PMN** adalah jumlah rata-rata sel PMN dengan bentuk bulat, inti berlobi, bersegmen 2 atau 3, sitoplasmanya mengandung granula kecil-kecil berwarna merah

atau coklat, yang ditemukan dari 100 leukosit dengan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 1000 kali

- **Daya ingesti PMN** merupakan kemampuan fagositosis dengan cara penelanan bakteri masuk ke dalam vakuol yang disebut fagosom dan bergabung dengan lisosom membentuk fagolisosom lalu dihancurkan. Pengukurannya dilakukan dengan cara menghitung bakteri yang ditemukan pada setiap PMN dilihat dari 100 leukosit dengan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 1000 kali
- *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (A.a.) merupakan bakteri gram negatif berbentuk kokobasilus, anaerob dan merupakan flora normal rongga mulut.

4.4 Materi Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan mencit (*Mus musculus*) strain Balb/C sebagai hewan coba, dengan berat badan rata-rata 20-30 gram dan berumur kurang lebih dua bulan. Sebelum dilakukan penelitian, hewan coba dipelihara dengan kondisi yang sama selama satu minggu.

Bahan yang digunakan yaitu gel lidah buaya yang dibuat jus, pakan standart untuk hewan coba, Metanol, Cat giemsa, *Emersen oil xylol tissue* lensa, Betadine, *Trypticase A. actinomycetemcomitans*/

Alat yang dipakai pada penelitian ini adalah kandang mencit dan perlengkapannya, alat sentrifugasi, alat sonikator, mikroskop cahaya, tabung reaksi, tabung gelas, cawan petri, inkubator, obyek glas, cover glas, *disposable syringe*, sonde tumpul, alat bedah seperti gunting, pinset dan pisau, ose steril, sepasang sarung tangan karet, timbangan elektrik, timbangan hewan, *becker glass* 50 ml, 100 ml.

4.5 Metode Penelitian

4.5.1 Kelompok Perlakuan

Sebanyak 24 ekor mencit jantan dibagi dalam 4 kelompok perlakuan dimana masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor

Kelompok 1 (P0) : Aquades + *A. a*

Kelompok 2 (P1) : Jus lidah buaya 25% + *A. a*

Kelompok 3 (P2) : Jus lidah buaya 50% + *A. a*

Kelompok 4 (P3) : Jus lidah buaya 100% + *A. a*

Pemberian perlakuan dilakukan per oral selama 10 hari, sedangkan induksi bakteri *A. actinomycetemcomitans* 10^5 dalam 100 μ l salin dilakukan secara intra peritoneal pada hari ke 8. Pada hari ke 11 diambil darah dari ekor untuk diperiksa jumlah dan daya ingesti PMN menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 1000 kali.

4.5.2 Prosedur Pelaksanaan Penelitian

Persiapan Lidah Buaya

Lidah buaya diambil dagingnya kemudian dihancurkan dengan blender. Setelah hancur kemudian dilarutkan dalam aquades. Pemberian dosis lidah buaya disesuaikan dengan berat badan mencit dimana tiap 10 gr berat badan diberikan jus lidah buaya 0,1 cc.

Pembiakan Bakteri *A.a* dan Isolasi LPS dari *A.a*

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *A. actinomycetem comitans* (*A.a*) yang diperoleh dari Laboratorium Bersama di TDC. *A.a* merupakan bakteri gram negatif yang mengandung lipopolisakarida (LPS) sebagai penentu virulensi.

Inokulasi Bakteri dan Pengambilan Sampel

Mencit jantan dipapar dengan *A.a* secara intraperitoneal 0,1 ml yang mengandung *A.a* 10^5 dalam 100 μ l salin. Selanjutnya darah diambil dari ekor mencit setelah 3 hari inokulasi bakteri untuk diperiksa jumlah dan daya ingesti PMN (Dewanti, 2000).

4.6 Analisa Sel Fagosit

4.6.1 Pembuatan Sediaan Hapus

Satu tetes darah diletakkan $\pm 2 - 3$ mm dari ujung kaca obyek, dengan bantuan kaca penghapus yang membentuk sudut $30 - 45$ derajat terhadap kaca obyek terbentuklah hapusan darah sepanjang $3 - 4$ cm pada kaca obyek. Hapusan darah dibiarkan mengering, dan diberi tanda sesuai perlakuan.

4.6.2 Pewarnaan Giemsa

Sediaan hapus diletakkan pada dua batang gelas di atas bak tempat pewarnaan, kemudian difiksasi dengan metanol absolut selama $2 - 3$ menit. Setelah itu sediaan hapus digenangi dengan zat warna Giemsa yang baru diencerkan dan dibuat konsentrasi 5% kemudian dibiarkan selama $20 - 30$ menit. Kemudian dibilas dengan air mengalir dengan tujuan menghilangkan semua kelebihan zat warna, lalu sediaan hapus diletakkan dalam rak dengan posisi tegak dan biarkan mengering.

4.6.3 Pemeriksaan PMN

Pengamatan dilakukan dengan mikroskop dimulai dengan pembesaran lensa obyektif 40 kali untuk melihat keadaan eritrosit, leukosit, trombosit serta kelainan lain yang ada. Dilanjutkan dengan pembesaran 100 kali hingga 1000 kali dengan bantuan minyak emersi. Perhitungan PMN yang aktif dilakukan atas 100 leukosit (Dewanti, 2000).

Pengamatan jumlah PMN yang aktif dilakukan sebagai berikut.

- Dari 100 leukosit, dihitung berapa jumlah PMN yang aktif memfagosit bakteri. Terlihat inti yang membesar dan bakteri tampak tertelan masuk ke dalam vakuol yang disebut fagosom dan bergabung dengan lisosom sehingga terbentuk fagolisosom.
- Untuk pengamatan daya ingesti PMN dilakukan sebagai berikut. Dihitung jumlah bakteri yang difagosit oleh PMN dari 100 leukosit.

4.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ini dianalisis dengan ANAVA dengan Program SPSS for Windows dan bila ada perbedaan dilanjutkan dengan uji Duncan (Steel and Torrie, 1991).

BAB V
HASIL DAN PEMBAHASAN

5. 1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian tentang efek antiinflamasi lidah buaya terhadap jumlah PMN mencit aktif yang terpapar *A. actinomycetemcomitans* dapat dilihat pada Tabel 5.1 sedangkan data lengkap dapat dilihat pada Lampiran 1.

Tabel 5.1. Rata-rata dan simpangan baku efek antiinflamasi lidah buaya terhadap jumlah PMN aktif mencit yang terpapar *A. actinomycetemcomitans*

Perlakuan	Jumlah PMN (%)
P0	71,9533 ^d ± 4,916
P1	61,8200 ^c ± 1,812
P2	48,6400 ^b ± 2,453
P3	40,8617 ^a ± 2,850

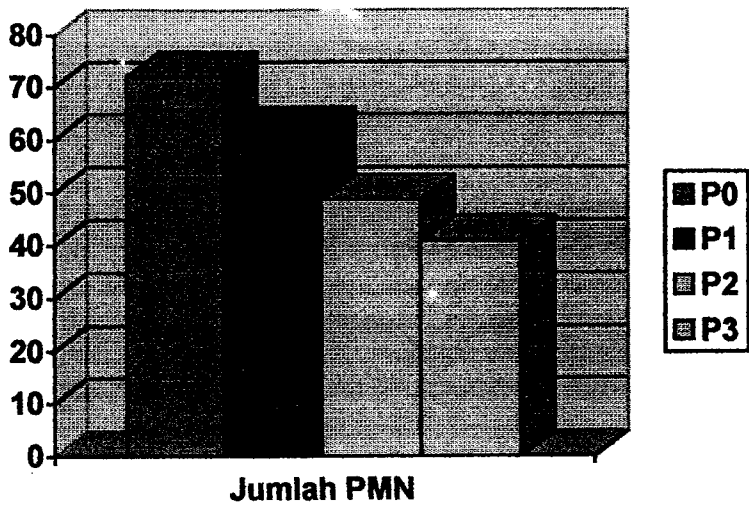
a, b, c, d. Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (p < 0,01)

Keterangan :

- P0 : Aquades + *A. actinomycetemcomitans*
- P1 : Lidah buaya 25% + *A. actinomycetemcomitans*
- P2 : Lidah buaya 50% + *A. actinomycetemcomitans*
- P3 : Lidah buaya 100% + *A. actinomycetemcomitans*

Berdasarkan analisa data dengan menggunakan uji ANAVA program SPSS for Windows, didapatkan hasil penelitian yang ternyata menimbulkan perbedaan yang sangat nyata (p<0,01) diantara perlakuan. Dengan uji lanjut Duncan untuk melihat perlakuan mana yang paling berpengaruh dalam menurunkan jumlah PMN aktif yang terpapar *A. actinomycetemcomitans* diperoleh perbedaan yang sangat nyata diantara perlakuan. Pada Tabel 5.1 menunjukkan bahwa P3 (40,8617 ± 2,850) mempunyai jumlah PMN mencit aktif terendah sedangkan yang tertinggi terdapat pada P0 (71,9533 ± 4,916)

Berdasarkan hasil analisis tersebut dapat ditunjukkan dengan diagram batang seperti yang tampak pada Gambar 5.1, dimana ditunjukkan bahwa Jumlah PMN pada P3 mempunyai nilai terendah.



Gambar 5.1. Diagram batang Jumlah PMN aktif mencit yang terpapar *A. actinomycetemcomitans*

Hasil penelitian tentang efek antiinflamasi lidah buaya terhadap daya ingesti PMN dari mencit yang terpapar *A. actinomycetemcomitans* dapat dilihat pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2. Rata-rata dan simpangan baku efek antiinflamasi lidah buaya terhadap daya ingesti PMN mencit yang terpapar *A. actinomycetemcomitans*

Perlakuan	Daya Ingesti PMN
P0	13,33 ^d ± 0,816
P1	7,83 ^c ± 0,753
P2	5,00 ^b ± 0,894
P3	2,83 ^a ± 0,983

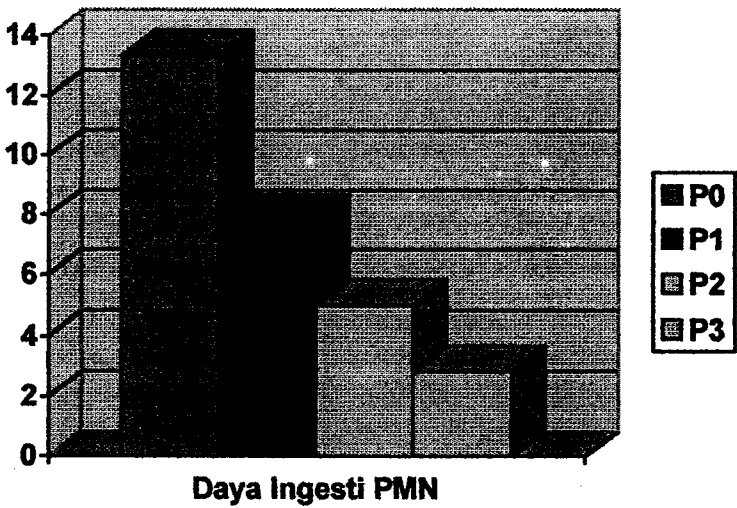
a, b, c, d. Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (p < 0,01)

Keterangan :

- P0 : Aquades + *A. actinomycetemcomitans*
- P1 : Lidah buaya 25% + *A. actinomycetemcomitans*
- P2 : Lidah buaya 50% + *A. actinomycetemcomitans*
- P3 : Lidah buaya 100% + *A. actinomycetemcomitans*

Berdasarkan analisa data dengan menggunakan uji ANAVA program SPSS for Windows, didapatkan hasil penelitian yang ternyata menimbulkan perbedaan yang sangat nyata ($p<0,01$) diantara perlakuan. Dengan uji lanjut Duncan untuk melihat perlakuan mana yang paling berpengaruh dalam menurunkan daya ingesti PMN diperoleh perbedaan yang sangat nyata diantara perlakuan. Pada Tabel 5.2 menunjukkan bahwa P3 ($2,83 \pm 0,983$) mempunyai daya ingesti PMN terendah sedangkan yang tertinggi terdapat pada P0 ($13,33 \pm 0,816$)

Berdasarkan hasil analisis tersebut dapat ditunjukkan dengan diagram batang seperti yang tampak pada Gambar 5.2. dimana ditunjukkan bahwa daya ingesti PMN terendah ditunjukka pada P3.



Gambar 5.2. Diagram batang daya ingesti PMN mencit yang terpapar *A. actinomycetem-comitans*

5.2 Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian tentang efek antiinflamasi lidah buaya terhadap jumlah PMN aktif dan daya ingesti PMN dari mencit yang terpapar *A. actinomycetemcomitans*, menunjukkan bahwa lidah buaya dengan konsentrasi 25%, 50% dan 100% dapat menurunkan aktifitas fagositosis PMN.

Menurunnya aktivitas fagositosis PMN oleh lidah buaya yang ditandai dengan penurunan jumlah PMN yang aktif memfagosit bakteri dan jumlah bakteri yang difagosit oleh PMN, kemungkinan berkaitan dengan perubahan yang terjadi pada metabolisme asam arakidonat, produksi sitokin dan enzim-enzim dalam PMN.

Penurunan aktifitas fagositosis PMN oleh lidah buaya kemungkinan disebabkan ada proses yang berkaitan dengan metabolisme arakhidonat yaitu pada hambatan sistem prostaglandin dan leukotrien. Asam arakhidonat dibutuhkan untuk pembentukan senyawa eukasinoid (prostaglandin dan leukotrien), dimana pada proses ini melibatkan peran enzim siklooksigenase dan lipoksigenase. Hambatan pada jalur siklooksigenase akan berpengaruh terhadap penurunan prostaglandin (PGE₂) sebagai media reseptor dan memicu timbulnya cAMP intraseluler. Tingginya cAMP dapat mempengaruhi produksi sitokin IL1, IL2, IL6 dan TNF α . Dengan adanya hambatan pada jalur siklooksigenase yang berpengaruh terhadap penurunan PGE₂ dan sitokin proinflamatori akan berpengaruh terhadap penurunan aktifitas fagositosis, sedangkan adanya hambatan pada jalur lipoksigenase akan berpengaruh pada produksi leukotrien yang dikenal sebagai mediator aktivitas leukosit, berperan dalam menstimulasi agregasi dan kemotaksis PMN. Dengan turunnya produksi leukotrien karena hambatan lipoksigenase, maka akan mempengaruhi penurunan aktivitas fagositosis.

Salah satu kandungan lidah buaya yaitu acetylated mannosida diduga merupakan immunostimulan yang kuat, yang berfungsi meningkatkan fungsi fagositik dari sel makrofag, respon sel T terhadap patogen serta produksi interferon dan zat kimia yang meningkatkan sistem imun untuk menstimulasi atau merangsang antibodi (Edi, W dan Koesnandar, 2002).

Selain itu juga mengandung bahan aktif saponin, senyawa anthraquinon dan tannin. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan seperti sabun serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuan membentuk busa dan menghemolisis darah, dengan kemampuan menghemolisis darah ini, saponin dalam bentuk glikosida mempunyai daya antibakteri (Mann, 1984). Tannin mempresipitasi protein yang rusak sehingga protein itu tidak dapat digunakan sebagai nutrisi bagi bakteri sehingga dapat mencegah kontaminasi eksterna, sedangkan anthraquinon merupakan produk yang sangat berguna untuk pengobatan beberapa kondisi kulit (Wilson, 1971).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang efek antiinflamasi lidah buaya terhadap jumlah PMN dan daya ingesti PMN mencit yang terpapar *A. actinomycescomitans*, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Pemberian jus lidah buaya secara statistik menunjukkan adanya penurunan jumlah PMN mencit yang terpapar *A. actinomycescomitans*
2. Pemberian jus lidah buaya secara statistik menunjukkan adanya penurunan daya ingesti PMN mencit yang terpapar *A. actinomycescomitans*

6.2 Saran

Saran yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini adalah :

1. Lidah buaya dapat digunakan sebagai antiinflamasi pengganti obat antiinflamasi lain
2. Perlu dilakukan penelitian terhadap mekanisme kerja lidah buaya sebagai antiinflamasi
3. Perlu dilakukan penelitian untuk mencari bahan aktif lidah buaya yang berkhasiat sebagai antiinflamasi

DAFTAR KEPUSTAKAAN

- Bellanti, JA. 1993. *Imunobiologi Umum. Immunology III*. Terjemahan Samik Wahab dan Noerhajati Soeripto. Gajah Mada Upress. 18-57.
- Ebersole, JL. and Taubman, MA. 1995. Gingival Cervicular Fluid Antibody to Oral Micro-organism, Distribution and Specificity of Local Antibody Respon. *J. Periodont Res.* 20:357.
- Edi Wahjono dan Koesnandar. 2002. *mengebunkan Lidah Buaya Secara Intensif*.
- Fit. 1983. *Aloe vera : The Miracle Plant*. Anderson World Books Inc., Mountain View: 63p.
- Gan, S. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi ke-4. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, hal 207-222; 491; 498-499.
- Garna, KB. 1996. *Imunologi Dasar*. Edisi 3. Fakultas Kedokteran Univ. Indonesia. Jakarta, hal 9-12.
- Karnen, GB. 2000. *Imunologi Dasar*. Ed. 4. Fak. Kedokteran Univ. Indonesia.
- Magnuson, J.A. and T.A. Woller. 1991. *Aoe vera as an ingradient*. Drug and cosmetic industry. May 148 (5) : 20-22.
- Morsy, E.M. 1991. *The final echnical report on Aloe vera : Stabilization and prosscressing for the coemetics, beverage and food industry*. Aloe industry and technology institute. Phoenic, USA : 72P.
- Mutschler, E. 1991. *Dinamika Obat*. Edisi ke-5. ITB.
- Peacock, E.E. and W. Van Winkle. 1976. *Wound Repair*. 2nd.ed. W.B. saunders Company. Philadelphia. 63-77
- Price, SA. Dan Wilson, LM. 1997. *Fisiologi Proses-proses Penyakit*. Edisi ke-4. Alih bahasa: Anugerah, EGC., hal 35-37.
- Robinson, LE., 2001. A novel, non-toxic proprietary immunomodulatory polysaccharide for the nutraceutical and functional food industries using gene expression technology (Annual Meeting of the Federation of American Societies for Experimental Biology on Experimental Biology 2001 Orlando, Florida, USA March 31-April 04, 2001).In: *FASEB Journal* March 8, 2001. 15 (5): A993.
- Roitt, I. 1997, *Immunology*. Ninth Ed. St Louis. Mosby. pp. 8.1; 15.20-15.21.
- Roni. 2005. *Efek Antiinflamasi Aloe vera pada tikus putih jantan yang telah diinduksi Karagenin 1%*. Skripsi. Fak. Kedokteran Gigi. Univ. Hang Tuah.
- Steel, RGD and JH. Torrie. 1989. *Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik*. Edisi II. Alih Bahasa: Sumantri B. PT. Gramedia, Jakarta.

- Syamsuhidayat, S.S., Hutapea, J.R. 1991. Inventaris Tanaman obat Indonesia I. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta
- Terry, Corp. 1977. Aloe vera: The "Ageless" Botanical Soap/Cosmetics/Chemical Specialities for. February 53 (2) : 34-38.
- Tizard, J.R. 1988. Pengantar Immunologi Veteriner. 2nd. Ed. Penerbit Univ. Airlangga. Surabaya. 18-32.
- Wijayakusuma, H.M.H., A.S. Wirian, I. Yaputra, S. Dalimartha dan B. Wibowo. 1988. Tanaman berkhasiat oabat di Indonesia. Pustaka Kartini. Jakarta. 64-65.
- Zambon, JJ. 1983. Studies of Leukotoxin from *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Using the Promyelocytic HL 60 Cell Line. Infect. Immunol. 40:205-212.

Lampiran 1. Data PMN aktif dan Daya Ingesti PMN mencit yang terpapar *A. actinomycetemcomitans*

Case Summaries^a

			PMN Aktif	PMN Aktif (y%)	Arc.Sin. Vy%	Daya Ingesti PMN
Kontrol	1		35	92,11	73,68	14
	2		29	82,86	65,57	12
	3		32	88,89	70,54	14
	4		34	97,14	80,19	13
	5		30	90,91	72,44	13
	6		28	87,50	69,30	14
	Total	Sum	188	539,41	431,72	80
		Mean	31,33	89,9017	71,9533	13,33
		SD	2,805	4,78881	4,91621	,816
Lidah Buaya 25%	1		25	78,13	62,10	8
	2		27	77,14	61,41	8
	3		23	76,67	61,14	9
	4		22	73,33	58,89	7
	5		28	80,00	63,44	8
	6		25	80,65	63,94	7
	Total	Sum	150	465,92	370,92	47
		Mean	25,00	77,6533	61,8200	7,83
		SD	2,280	2,63195	1,81177	,753
Lidah Buaya 50%	1		18	58,07	49,66	5
	2		19	63,33	52,71	4
	3		17	54,84	47,75	5
	4		20	57,14	49,08	4
	5		18	54,55	47,64	6
	6		16	50,00	45,00	6
	Total	Sum	108	337,93	291,84	30
		Mean	18,00	56,3217	48,6400	5,00
		SD	1,414	4,43037	2,56283	,894
Lidah Buaya 100%	1		15	42,86	40,92	2
	2		13	39,39	38,88	4
	3		12	35,29	36,45	3
	4		16	47,06	43,34	2
	5		16	48,49	44,14	2
	6		14	43,75	41,44	4
	Total	Sum	86	256,84	245,17	17
		Mean	14,33	42,8067	40,8617	2,83
		SD	1,633	4,88790	2,85017	,983
Total	Sum		532	1600,10	1339,65	174
	Mean		22,17	66,6708	55,8188	7,25
	SD		6,957	19,09728	12,58061	4,099

a. Limited to first 100 cases.

Lampiran 2. Analisis Statistik PMN aktif mencit yang terpapar *A. actinomycetemcomitans*

Descriptives

PMN Aktif (y%)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
Kontrol	6	89,9017	4,78881	1,95502	82,86	97,14
Lidah Buaya 25%	6	77,6533	2,63195	1,07449	73,33	80,65
Lidah Buaya 50%	6	56,3217	4,43037	1,80869	50,00	63,33
Lidah Buaya 100%	6	42,8067	4,88790	1,99548	35,29	48,49
Total	24	66,6708	19,09728	3,89822	35,29	97,14

Descriptives

Arc.Sin. Vy%

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
Kontrol	6	71,9533	4,91621	2,00703	65,57	80,19
Lidah Buaya 25%	6	61,8200	1,81177	,73965	58,89	63,94
Lidah Buaya 50%	6	48,6400	2,56283	1,04627	45,00	52,71
Lidah Buaya 100%	6	40,8617	2,85017	1,16358	36,45	44,14
Total	24	55,8188	12,58061	2,56801	36,45	80,19

ANOVA

Arc.Sin. Vy%

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3429,531	3	1143,177	108,504	,000
Within Groups	210,716	20	10,536		
Total	3640,247	23			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Arc.Sin. Vy%

Duncan^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
Lidah Buaya 100%	6	40,8617			
Lidah Buaya 50%	6		48,6400		
Lidah Buaya 25%	6			61,8200	
Kontrol	6				71,9533
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

Lampiran 3. Analisis Statistik Daya Ingesti PMN mencit yang terpapar *A. actinomycetemcomitans*

Oneway

Descriptives

Daya Ingesti PMN						
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
Kontrol	6	13,33	,816	,333	12	14
Lidah Buaya 25%	6	7,83	,753	,307	7	9
Lidah Buaya 50%	6	5,00	,894	,365	4	6
Lidah Buaya 100%	6	2,83	,983	,401	2	4
Total	24	7,25	4,099	,837	2	14

ANOVA

Daya Ingesti PMN					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	371,500	3	123,833	165,111	,000
Within Groups	15,000	20	,750		
Total	386,500	23			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Daya Ingesti PMN

Duncan ^a					
Perlakuan	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
Lidah Buaya 100%	6	2,83			
Lidah Buaya 50%	6		5,00		
Lidah Buaya 25%	6			7,83	
Kontrol	6				13,33
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

Lampiran 4. Gambar PMN menci