

# PENGARUH TOPIKAL GEL *CHITOSAN* TERHADAP PROSES PENYEMBUHAN *STOMATITIS APHTHOUSA* PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

Puri Rahasdini\* Erlina Sih Mahanani\*\*

\*Mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

\*\*Dosen Program Studi Pendidikan Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

## Abstrak

*Chitosan* merupakan modifikasi dari senyawa *chitin* yang banyak terdapat dalam kulit luar hewan golongan krustaceae seperti udang, kepiting dan lobster yang digunakan sebagai agen antiinflamasi dan bahan penyembuhan luka dalam bidang kesehatan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian gel *chitosan* 3% terhadap proses penyembuhan *Stomatitis Aphthosa* pada tikus putih (*Rattus Norvegicus*). Sebanyak 9 ekor tikus dibagi kedalam 3 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif tanpa perlakuan, kelompok kontrol positif diberi obat Kenalog® dan kelompok perlakuan gel *chitosan* 3%. Stomatitis dibuat dengan cara mengaplikasikan Hidrogen Peroksida 10% ( $H_2O_2$ ) dan lidokain 2% kedalam mukosa mulut tikus sebanyak 3x sehari selama 10 menit. Setelah terbentuk stomatitis, kelompok kontrol positif diberi obat Kenalog® dan kelompok perlakuan *chitosan* diberi perlakuan gel *chitosan* 3%. Setiap harinya masing-masing kelompok dilakukan pengamatan proses penyembuhan stomatitis dengan mengukur diameter lesi stomatitis menggunakan jangka sorong. Pengamatan dan pengaplikasian gel *chitosan* dilakukan selama 7 hari.

Hasil uji statistik parametrik komparatif *Oneway Anova* menunjukkan hasil yang tidak signifikan ( $p > 0.05$ ), tidak terdapat perbedaan ukuran lesi stomatitis yang bermakna antar kelompok, tetapi secara deskriptif terdapat pengurangan diameter lesi stomatitis yang lebih besar pada kelompok perlakuan gel *chitosan* 3%, sehingga pemberian gel *chitosan* berpengaruh pada proses penyembuhan stomatitis aphthosa walaupun tidak ada perbedaan pengurangan diameter lesi yang bermakna antar kelompok.

**Kata kunci:** *Chitosan*, *Stomatitis Aphthosa*, diameter lesi.

## Abstract

*Chitosan* is the modification of *chitin*, which can be found on crustacean shells such as shrimps, crabs and lobsters, and is widely used as anti-inflammatory and wound-healing dressing in medical field.

The aim of this research is to determine the effect of 3% *chitosan* gel on the healing process of *Aphthous Stomatitis* in rats (*Rattus Norvegicus*). The subjects were 9 of the rats, divided into 3 groups: negative control group without treatment, positive control group treated with Kenalog®, and *chitosan* treatment group treated with 3% *chitosan* gel. *Aphthous Stomatitis* is made by applying 10% Hydrogen Peroxyde ( $H_2O_2$ ) and 2% lidocain on oral mucosa of the rats 3 times a day for 10 minutes. After stomatitis appeared, the positive control group was given Kenalog® and the *chitosan* treatment group was given 3% *chitosan* gel. The daily observation of the healing process in each group was done by measuring the diameter of the lesions using sliding caliper. The observation and application of *chitosan* gel were performed for 7 days straight.

The results of comparative parametric statistical tests *Oneway ANOVA* showed no significant results ( $p > 0.05$ ). Generally, there is no significant difference in the size of each group's lesions, but descriptively there is greater reduction in the diameter of the lesions on *chitosan* group treatment, which is treated with 3% *chitosan* gel, meaning that 3% *chitosan* gel does have a positive effect on the healing process of *Aphthous Stomatitis* although there was no significant difference reduction on diameter lesion between groups.

**Keywords:** *Chitosan*, *Aphthous Stomatitis*, Diameter lesion.

## PENDAHULUAN

Masalah kesehatan gigi dan mulut merupakan masalah penting yang dapat mempengaruhi kualitas aktivitas seseorang. Salah satu masalah kesehatan gigi dan mulut tersebut adalah *Stomatitis Aphthosa* atau yang lebih dikenal dengan istilah sariawan yang merupakan ulser kambuhan pada mukosa mulut dengan ciri khas ulser single atau *multiple*, kecil, bulat atau oval dengan batas jelas kemerahan, dan dasar abu-abu atau kuning. Sariawan dapat dijumpai di seluruh dunia dan terdapat lebih dari 25% dari populasi. Walaupun *Stomatitis Aphthosa* bersifat *self limited* atau dapat sembuh dengan sendirinya, akan tetapi kehadirannya sangat mengganggu pada proses pengunyahan, bicara dan bahkan mengganggu kegiatan membersihkan rongga mulut<sup>1</sup>. Sariawan dapat disebabkan oleh banyak faktor, seperti

trauma, stress, defisiensi hormonal, faktor hematologis seperti kekurangan zat besi, asam folat, vitamin B12, dan akibat abnormalitas imunologi<sup>2</sup>. Salah satu permasalahan kesehatan gigi dan mulut tentu saja dihadapkan pada proses penyembuhan lesi dan inflamasi, inflamasi bukanlah suatu penyakit melainkan suatu respon imun non-spesifik yang bertujuan untuk menjaga tubuh. Tanpa adanya inflamasi, infeksi akan tidak terkendali, luka tidak akan sembuh dan organ yang mengalami cedera akan tetap sakit, meskipun demikian inflamasi dan proses perbaikan tetap berpotensi membahayakan sehingga peningkatan efek positif dari inflamasi membutuhkan suatu agen antiinflamasi<sup>3</sup>.

Salah satu strategi yang dapat digunakan adalah dengan penerapan *chitosan*. *Chitosan* telah banyak diaplikasikan dalam bidang industri

farmasi, salah satunya sebagai agen antiinflamasi, *wound healing*, antimikroba, dan sebagai bahan *bone graft*<sup>4</sup>.

*Chitosan* merupakan biopolimer yang dapat diekstrak dari cangkang krustasea laut seperti kepiting, udang dan lobster, sehingga ketersediannya di alam sangat banyak dan biaya produksi yang murah, selain itu *chitosan* juga memiliki sifat biokompatibilitas dan bioresorbibilitas yang baik, serta modifikasi kimia yang mudah<sup>5</sup>. Mengingat banyaknya penderita *Stomatitis Aphthosa* yang menggunakan obat-obat kimiawi yang dapat menimbulkan efek samping serta mahalnya dari obat tersebut, maka dengan pemilihan *chitosan* dipercaya efektif dalam membantu proses penyembuhan luka<sup>6</sup>.

Beberapa studi telah menunjukkan aktifitas *chitosan* dalam proses penyembuhan melalui peningkatan

infiltrasi sel-sel inflamasi di daerah cedera. Selanjutnya, stimulasi *chitosan* dimediasi makrofag dan aktifitas fibroblast selama penyembuhan luka telah menghasilkan pembentukan lebih menonjol dari jaringan granulasi<sup>7</sup>.

Beberapa penelitian mengatakan *Chitosan* mampu mempercepat penyembuhan luka dan sudah banyak dikembangkan sebagai obat luka<sup>6</sup>. *Chitosan* juga mampu membantu pembentukan jaringan granulasi dan pengaturannya, oleh karena itu, *Chitosan* sangat mempunyai pengaruh dan bermanfaat pada penyembuhan luka yang cukup lebar dan terbuka<sup>8</sup>. Melihat dari fungsi *chitosan* sebagai penyembuh luka dan efek antiinflamasi diharapkan sediaan gel *chitosan* dapat berpengaruh terhadap fase inflamasi dari proses penyembuhan luka sariawan.

## METODE

Desain penelitian ini adalah eksperimental *in vivo* pada hewan uji.

Penelitian ini menggunakan subyek 9 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan. Semua tikus pada penelitian ini dilakukan adaptasi selama empat hari, dalam kandang yang telah diberi nama sesuai dengan kelompoknya. Dalam satu kandang masing-masing berisi tiga ekor tikus. Pada penelitian ini terdapat tiga kelompok perlakuan, yaitu kelompok I (kontrol negatif tanpa perlakuan), kelompok II (kontrol positif diberi perlakuan Kenalog®), kelompok III (perlakuan gel *chitosan* 3%).

Pada penelitian ini, semua tikus diaplikasikan Hidrogen peroksida 10% dengan *cutton bud*, yang sebelumnya juga telah dioleskan lidokain 2% pada mukosa mulutnya selama 3 kali sehari dalam 10 menit. Setelah induksi sariawan, tikus kelompok I (kontrol negatif) tidak diberi perlakuan hanya makan dan minum saja, kelompok II (kontrol Positif) diberi perlakuan obat kenalog®, dan kelompok III (perlakuan gel *chitosan* 3 %) diberi

perlakuan gel *chitosan* 3%, masing-masing kelompok diberi perlakuan tersebut selama 3x5 menit pada hari pertama dan seterusnya.

Sediaan gel *chitosan* dibuat dengan melarutkan serbuk *chitosan* dengan derajat deasetilisasi 90,2% (*medical grade*) dalam air, asam, dan gliserol. Dalam penelitian ini, 3 gram serbuk *chitosan* dilarutkan dalam larutan asam asetat 1% yang ditambahkan aquades, lalu ditambahkan gliserol 50% untuk mendapatkan konsistensi gel yang baik, selanjutnya ditambahkan methyl paraben sodium salt 0,1% sebagai bahan pengawet dan terbentuklah gel *chitosan* dengan konsentrasi 3%.

Pada hari ke 1-7 setiap 3 ekor tikus dari kelompok I sampai III diamati secara klinis dan dilakukan pengukuran diameter lesi *Stomatitis Aphthosa* menggunakan jangka sorong. Kemudian keadaan lesi difoto. Pada hari ke 8, semua hewan uji dimatikan menggunakan anestesi *Ether*.

Semua hewan uji satu persatu dimasukkan kedalam toples yang berisi anestesi *Ether* sampai mati. Hal ini bertujuan untuk mengurangi rasa sakit yang berkelanjutan pada hewan uji.

Pada penelitian ini, teknik pengumpulan data yang digunakan adalah pengurangan diameter lesi *Stomatitis Aphthosa* setiap hari sekali yang diukur dengan menggunakan jangka sorong. Adapun teknik analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah *One Way Anova* (uji parametrik) satu jalur karena sampel lebih dari 2 kelompok, dan uji normalitas data menggunakan *Shaphiro-wilk* karena data kurang dari 50.

## HASIL PENELITIAN

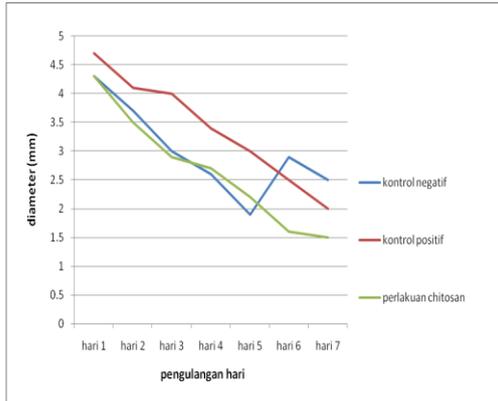
Hasil rata-rata perubahan diameter lesi sariawan setiap kelompok pada proses penyembuhan *Stomatitis Aphthosa* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*), sesuai Tabel 1.

**Tabel 1.** Rata-rata ukuran diameter lesi *stomatitis perhari* (mm)

Kelompok	hari 1	hari 2	hari 3	hari 4	hari 5	hari 6	hari 7
kontrol negatif	4.3	3.7	3	2.6	1.9	2.9	2.5
kontrol positif	4.7	4.1	4	3.4	3	2.5	2
perlakuan <i>chitosan</i>	4.3	3.5	2.9	2.7	2.2	1.6	1.5

Berdasarkan Pada Tabel 1, semua tikus dari kelompok kontrol negatif, positif dan perlakuan mengalami perubahan diameter (dalam mm) lesi *stomatitis* perharinya. Hasil yang diperoleh dari pengukuran diameter lesi *stomatitis* diuji menggunakan uji *statistic SPSS 15.0 for Windows Evaluation Version*. Selanjutnya ukuran diameter akan diuji normalitasnya dengan menggunakan uji normalitas *shapiro-wilk* karena data < 50, kemudian apabila data normal maka dilanjutkan dengan uji parametrik komparatif *Oneway Anova* karena data lebih dari dua kelompok. Rata-rata ukuran diameter lesi sariawan juga dapat dilihat pada grafik sebagai berikut :

**Grafik 1.** Rata-rata diameter lesi *stomatitis*



Dari Grafik 1, kurva terlihat mengalami penurunan pada hari pertama hingga hari ke tujuh setiap kelompoknya. Kurva kelompok dengan perlakuan *chitosan* memiliki rata-rata penurunan ukuran diameter lesi yang lebih kecil dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan kontrol negatif. Dengan adanya penurunan, maka secara deskriptif *chitosan* memiliki pengaruh terhadap proses penyembuhan *stomatitis*.

selanjutnya data akan dianalisis menggunakan uji statistik parametrik komparatif Anova satu jalur (*One way Anova*).

**ANOVA**

ukuran diameter lesi					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.810	2	.405	1.047	.407
Within Groups	2.322	6	.387		
Total	3.132	8			

Dari hasil uji parametrik *Oneway Anova* didapatkan nilai signifikansi atau nilai (p)= 0.407 atau  $p > 0.05$  sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan secara bermakna antar variabel. tetapi apabila dilihat secara rata-rata perubahan diameter lesi atau secara deskriptif, sebagai berikut :

**Tabel 4.** Rata-rata diameter lesi *stomatitis*.

Kelompok	Mean ± standar deviasi
Kontrol negatif	3.033 ± .97146
Kontrol positif	3.442 ± .27553
Perlakuan <i>Chitosan</i>	2.709 ± .37589

Data pada tabel menunjukkan rata-rata perubahan diameter lesi *stomatitis* dimana ukuran perubahan lesi pada kelompok perlakuan *chitosan* memiliki rata-rata paling kecil, artinya terdapat pengurangan diameter lesi yang lebih

besar pada kelompok perlakuan *chitosan* dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan kontrol positif, sehingga walaupun tidak terdapat perbedaan secara bermakna antar kelompok tetapi kelompok perlakuan *chitosan* memiliki pengaruh pada ukuran diameter lesi *stomatitis* dilihat dari perbedaan dan pengurangan ukuran diameter lesi rata-rata.

## **PEMBAHASAN**

stomatitis adalah salah satu kelainan mukosa yang paling sering terjadi dan menyerang kira-kira 15-20 % populasi manusia. Prevalensi yang lebih tinggi sering ditemukan pada golongan sosioekonomi atas maupun bawah serta pada pelajar yang sedang dalam masa-masa ujian<sup>9</sup>. Pada penelitian ini, stomatitis terbentuk oleh iritasi kimiawi yang dihasilkan dari pemberian aplikasi Hidrogen Peroksida yang diawali dengan peradangan kemudian membentuk stomatitis. Hal ini sesuai dengan pendapat

Lewis (1998) bahwa penyebab traumatik ulserasi atau stomatitis yang disebabkan karena trauma bisa berupa trauma fisik dan trauma kimiawi. Trauma yang disebabkan oleh iritasi kimiawi dapat menimbulkan ulser dan ulser dapat sembuh dalam waktu 7-10 hari<sup>9</sup>.

Setelah terbentuk stomatitis dalam waktu tiga hari, pemberian Hidrogen Peroksida 10% dihentikan, penelitian dilanjutkan dengan pengukuran diameter lesi stomatitis dan pemberian obat sesuai dengan perlakuan perkelompoknya. Setelah itu dilakukan pengukuran diameter lesi setiap harinya untuk melihat perkembangan kesembuhan lesi stomatitis berdasarkan pengurangan ukuran diameter lesi. Pengukuran diameter lesi stomatitis dilakukan dengan menggunakan jangka sorong.

Pada hasil uji statistik menunjukkan tidak adanya perbedaan ukuran diameter lesi yang bermakna diantara tiga kelompok, dengan nilai

( $p > 0.05$ ) yaitu ( $p$ ) = 0.47, akan tetapi apabila dilihat secara deskriptif dengan rata-rata pengurangan diameter lesi perharinya (Tabel 1 dan Grafik 1) setiap kelompok memiliki perbedaan pengurangan diameter lesi, dimana pada kelompok perlakuan gel *chitosan* menunjukkan adanya pengurangan ukuran diameter lesi paling besar dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan kontrol negatif dan memiliki rata-rata perubahan ukuran diameter lesi yang paling kecil diantara kelompok lainnya, dengan demikian gel *chitosan* memiliki pengaruh terhadap pengurangan ukuran diameter lesi. Penurunan diameter lesi pada kelompok *chitosan* diharapkan karena manfaat dari gel *chitosan* itu sendiri yakni *chitosan* dapat mempercepat infiltrasi sel PMN yang merupakan tahap awal proses penyembuhan luka, diikuti dengan peningkatan migrasi makrofag dan

produksi kolagen oleh fibroblas ke jaringan yang mengalami inflamasi<sup>8</sup>.

Kelompok kontrol positif yang menggunakan pengobatan dengan Kenalog® juga mengalami penurunan diameter lesi *stomatitis*. Hal ini karena Kenalog® mengandung *triamsinolon acetonid*, yaitu kortikosteroid sintetik yang secara umum mempunyai efek anti peradangan, anti gatal dan anti alergi. Kelompok Kontrol negatif yang tidak diberi perlakuan juga mengalami perubahan ukuran diameter lesi, namun penurunannya tidak begitu cepat jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan gel *chitosan*. Hal ini disebabkan karena pada kelompok kontrol negatif tidak dibantu dengan agen antiinflamasi untuk mempercepat penyembuhan, artinya proses penyembuhan pada kontrol negatif hanya dipengaruhi oleh daya sistem imun hewan uji saja.

Hasil uji statistik yang menunjukkan tidak adanya perbedaan secara bermakna antar kelompok disebabkan karena beberapa faktor. Pemberian aplikasi Kenalog® dan Gel *chitosan* yang memiliki rasa pahit menyebabkan hewan uji berontak untuk menghapus kedua obat tersebut pada mukosanya, kemudian hewan uji pada masing-masing kelompok memiliki perbedaan waktu dalam proses penyembuhan. Perbedaan waktu penyembuhan tersebut juga dipengaruhi oleh daya sistem imun tubuh pada masing-masing hewan uji, dan beberapa faktor yang sangat berpengaruh terhadap sistem imun non spesifik menurut Bratawidjaja (2004) adalah nutrisi dan stress<sup>11</sup>.

Nutrisi yang buruk dapat menurunkan resistensi terhadap infeksi. Peneliti tidak bisa memonitor dan mengontrol hewan uji pada malam hari terkait makanan dan minumannya. Banyak nya hewan uji yang

dipelihara dalam satu kelompok yang sama menyebabkan asupan makanan dan minuman yang dimakan serta diminum berbeda dalam setiap individu hewan uji, kemudian stress dapat mempengaruhi sistem imun dan menyebabkan rentannya terhadap penyakit dan infeksi. Rasa sakit pasca induksi stomatitis yang menggunakan bahan korosif yaitu Hidrogen Peroksida menyebabkan hewan uji sulit untuk makan dan minum, dan rasa sakit pada mukosanya mempengaruhi kondisi psikologis hewan uji. Meskipun proses penyembuhan pada setiap hewan uji dan kelompoknya berbeda-beda, tetapi proses penghentian pengobatan dan pengukuran hewan uji dihentikan pada hari ke 7, diimana rata-rata penyembuhan sariawan berlangsung dalam 7-14 hari. Selain itu peneliti juga memperhatikan perubahan warna dan ukuran lesi stomatitis nya. Kesembuhan stomatitis ditandai juga dengan gambaran klinis pada jaringan luka stomatitis yang

berubah warna dari merah keabu-abuan menjadi warna seperti mukosa sehat, atau seperti mukosa disebelah luka stomatitis<sup>11</sup>.

## **KESIMPULAN**

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah pemberian Gel *Chitosan* berpengaruh positif pada proses penyembuhan *Stomatitis Aphthosa* dilihat dari adanya pengurangan diameter lesi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) walaupun tidak ada perbedaan pengurangan diameter lesi yang bermakna antar kelompok.

## **SARAN**

Penelitian yang telah dilakukan ini tidak lepas dari kekurangan, untuk itu bagi kemajuan ilmu pengetahuan terutama di bidang kesehatan maka peneliti mengajukan saran sebagai berikut:

1. Diperlukan penelitian untuk mengetahui pengaruh Gel *Chitosan* terhadap proses penyembuhan

*Stomatitis Aphthosa* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang ditinjau dari perbedaan konsentrasi gel *Chitosan* yang diberikan.

2. Diperlukan penelitian untuk mengetahui pengaruh Gel *Chitosan* terhadap proses penyembuhan *Stomatitis Aphthosa* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang ditinjau dari gambaran Histologis (ketebalan epitel dan jumlah sel neutrofil) secara Mikroskopis.

3. Diperlukan penelitian untuk mengetahui pengaruh Gel *Chitosan* terhadap proses penyembuhan *Stomatitis Aphthosa* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang ditinjau dari banyaknya jumlah sample yang diteliti.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Field, A. dan L. Longman. 2003. *Tyldesley's Oral Medicine*. 5th ed. United Kingdom :Oxford University Press. p. 52-58.
2. Greenberg. 2003. *Burket's Oral Medicine Diagnosis and Treatment*. 10th ed. USA:JB. Lippincott Company. p.63-65.
3. Sjamsuhidajat, R. dan W.Dejong .2010. In : *Buku Ajar Buku Ilmu Bedah Edisi 3*. Jakarta: EGC.
4. Muzzrelli, R.A.A., Terbojevich, M. and Cosani, A. 1996. *Unspecific activities of lipase and amylases on chitosans*. In:Chitin Enzymology Vol.2, R.A.A. Muzzarelli (ed), Atec, Grottammare, Italy, 69-82.
5. Andres, Y *et al.* 2007. *Antibacterial Effect of Chitosan Powder:Mechanisms of Action*. Environ Technol, vol.28 no.12.
6. Ishihara, M., Nakanishi, K., Ono, K., Sato, M., Kikuchi, M., Saito, Y., dkk. 2002. Photocrosslinkable chitosan as a dressing for wound occlusion and accelerator in healing process. *Biomaterials*.,p.833-840
7. Qiao Y, Bai XF, Du YG. 2011. *Chitosan oligosaccharides protect mice from LPS challenge by attenuation of inflammation and oxidative stress*. In : Immunopharmacol. Vol. 11, Issue 1, January 2011, p. 121–127, diakses pada 21 Oktober 2014, Sciencedirect database.
8. Ueno, H., Mori, T., & Fujinaga, T. 2001. Topical Formulations and Wound Healing Applications Of Chitosan (Abstract). *Advanced Drugs Delivery Reviews*.,p.105-115.
9. Lewis, M.A.O . 1998. *Tinjauan Klinis Penyakit Mulut* . Jakarta: EGC, p.48-50.
10. Winarto, D. 2009. Pengaruh Pemberian Ketamin Dosis Induksi dan Analgesi terhadap Kapasitas Fagositosis Makrofag Intra Peritoneal Mencit BALB/C yang Terpapar Lipopolisakarita. *Skripsi strata satu*. Universitas Diponegoro, Semarang.
11. Bratawidjaja, K,G. 2004. *Imunologi Dasar*. Edisi 8. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.