

Pengaruh pemberian lidah buaya (*Aloe vera*) pada kultur fibroblast embrio ayam

Sri Herwiyanti, Muhammad Ghufon, Bambang Budiono
Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran
Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRACT

Sri Herwiyanti, Muhammad Ghufon, Bambang Budiono - *The effect of Aloe vera on fibroblast cell growth*

The study was designed to investigate the effect of *Aloe vera* on fibroblast cell growth *in vitro*. The fibroblast cell culture in a microplate was prepared from twelve day old chicken embryos. Each well was added with 0.3 cc fibroblast suspension. Various concentrations, i.e: 0.010 g/ml; 0.015 g/ml and 0.020 g/ml of *Aloe vera* were then added into the well, incubated afterwards for 24, 48 and 72 hours at 37° C and were examined under a phase contrast microscope. The results showed that the density and number of fibroblast were increased, proportionally to the concentration of *Aloe vera*. The control wells were added with fibroblast only suspension. In the control groups, however, there was only a slight increased and density of cells occurred. In conclusion, *Aloe vera* could stimulate the fibroblast growth.

Keywords: *Aloe vera* - fibroblast - cell culture - chicken embryo - growth factor

ABSTRAK

Sri Herwiyanti, Muhammad Ghufon, Bambang Budiono - *Pengaruh pemberian lidah buaya (Aloe vera) pada kultur fibroblast embrio ayam*

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan lidah buaya (*Aloe vera*) terhadap pertumbuhan fibroblast *in vitro*. Digunakan teknik kultur jaringan yang diambil dari embrio ayam umur 12 hari. Setiap lempeng sumuran (*well plate*) diisi 0,3 cc suspensi fibroblast dalam minimum essential medium (MEM). Kemudian ke dalam tiap sumuran tersebut ditambahkan larutan *Aloe vera* dengan konsentrasi 0,010 g/ml, 0,015 g/ml dan 0,020 g/ml sebagai kelompok perlakuan. Kelompok pembanding adalah sumuran yang berisi 0,3 cc suspensi fibroblast. Setelah inkubasi selama 24, 48 dan 72 jam pada suhu 37° C pertumbuhan fibroblast diamati. Pada kelompok perlakuan tampak tingkat kepadatan fibroblast berbanding lurus dengan kenaikan konsentrasi suspensi *Aloe vera*. Pada kelompok pembanding kenaikan tingkat kepadatan fibroblast jauh lebih rendah daripada kelompok perlakuan. Disimpulkan bahwa *Aloe vera* mampu meningkatkan pertumbuhan fibroblast.

(B.I.Ked. Vol. 30, No. 2:61-66, Juni 1998)

PENGANTAR

Di Indonesia banyak tumbuhan yang berpotensi sebagai fitofarmaka untuk anti-inflamasi. Salah satu di antaranya adalah lidah buaya (*Aloe vera*). Tanaman ini dapat tumbuh di dataran tinggi sampai sedang, dengan pemeliharaan yang sangat mudah. Masyarakat telah lama meman-

faatkan tanaman ini secara tradisional sebagai ramuan obat. *Aloe vera* mengaktivasi sistem biologis hidrokortison acetat dalam inflamasi akut¹. Kemampuan dalam penyembuhan luka telah dibuktikan terhadap 21 pasien laparotomi^{2,3}. Pengaruh ekstrak lidah buaya (*Aloe vera*) yang dapat menurunkan inflamasi juga telah dibuktikan⁴. Dari aspek biokimiawi, kandungan gula terbanyak pada agar *Aloe vera* adalah mannose-6-fosfat. Substansi tersebut merupakan *growth factor* yang berperan sebagai anti in-

Sri Herwiyanti, Muhammad Ghufon, Bambang Budiono,
Department of Histology, Faculty of Medicine, Gadjah Mada
University, Yogyakarta, Indonesia

flamasi dan penyembuhan luka³. Kandungan mannose-6-fosfat yang cukup tinggi ini diperkirakan dapat memacu pertumbuhan fibroblast. Fibroblast merupakan salah satu komponen sel jaringan ikat berbentuk poligonal atau stelat dengan processus atau penjururan sitoplasmik. Nukleus fibroblast berbentuk bujur telur dengan satu atau dua nukleoli aktif mensintesis matriks yang berupa substansi dasar glikosaminoglikan. Sitoplasma tampak basofil. Pertumbuhan fibroblast dipengaruhi oleh beberapa faktor di antaranya protein, hormon dan vitamin. Faktor pertumbuhan fibroblast ini mampu merangsang sel-sel yang berasal dari mesenkim⁵. Secara *in vitro*, kultur jaringan merupakan media yang sangat baik digunakan dalam penelitian biomedis. Untuk kultur fibroblast, yang paling ideal dan mudah dikerjakan adalah menggunakan embrio ayam umur 11-12 hari⁶. Fibroblast di dalam media kultur akan berproliferasi, dan mencapai konfluen setelah 72 jam.

Dalam kaitan dengan peran mempercepat penyembuhan luka, daun lidah buaya diduga dapat memacu proliferasi fibroblast. Karena itu menarik untuk dikaji, apakah daun lidah buaya (*Aloe vera*) mampu memacu proliferasi fibroblast?

Penelitian-penelitian yang terdahulu tentang *Aloe vera* ditinjau dari aspek biokimiawi dan fisiologi. Penelitian yang dilakukan sekarang ini secara *in vitro* untuk mengetahui tingkat kemampuan pertumbuhan sel, dengan menggunakan teknik kultur jaringan hewan.

Tujuan penelitian ini ialah untuk mengetahui pengaruh *Aloe vera* terhadap pertumbuhan fibroblast secara *in vitro* dalam medium kultur.

CARA PENELITIAN

Bahan dan alat

Bahan yang diperlukan

Telur dengan embrio umur 12 hari, MEM (*minimum essential medium*) Earle, penstrep, fungizone, FCS (*fetal calf serum*), PBS (*phosphat buffer saline*), tripsin, larutan Giemsa, lempeng 24 sumuran, pipet steril dan alkohol absolut.

Alat

Alat untuk kultur jaringan, mikroskop dan kamera tersedia di laboratorium Hayati, Universitas Gadjah Mada.

Prosedur Pelaksanaan

Inkubator dan steriliser

Inkubator distabilkan dengan suhu 37° C, CO₂ 5% dan udara 95%. Ruang kultur disterilkan dengan lampu ultra violet, meja kultur dibersihkan dengan alkohol 70%.

Medium kultur

Dibuat medium kultur steril dengan pH 7,2-7,4 terdiri dari 100 ml MEM, 10 ml FCS, 3 ml penstrep dan 1 ml fungizone.

Larutan lidah buaya

Diambil cairan lidah buaya (*Aloe vera*) dengan konsentrasi 0,010 g/ml, 0,015 g/ml dan 0,020 g/ml dengan pelarut RPMI. Dilakukan filtrasi pada saringan 0,22 m untuk sterilisasi.

Kultur fibroblast embrio ayam

Telur ayam dengan embrio umur 12 hari dibersihkan dengan alkohol 70%. Telur dibuka, embrio diangkat dengan pinset, dimasukkan ke dalam PBS steril. Kepala dan paha embrio dipotong, kemudian dikeluarkan viseranya dan dimasukkan ke dalam pompa suntik 10 ml. Hancuran embrio yang dikeluarkan dari pompa suntik ditampung dalam bejana tripsinasi yang berisi magnit, divortex 3 kali kemudian disaring dengan prefilter. Filtrat ditampung dalam cawan kultur berisi medium kultur.

Pemberian lidah buaya pada kultur fibroblast

Fibroblast ditanam ke dalam lempeng 24 sumuran. Kelompok pertama (P1) diberi perlakuan dengan cairan lidah buaya konsentrasi 0,010 g/ml. Kelompok kedua (P2) dengan konsentrasi 0,015 g/ml dan sebagai kelompok ketiga (P3) 0,020 g/ml. Kelompok pembanding (K) adalah sumuran yang berisi 0,3 cc kultur fibroblast embrio ayam. Lempeng yang berisi kelompok perlakuan dan pembanding tersebut kemudian dimasukkan ke dalam inkubator CO₂ 5% suhu 37° C.

Pengamatan pertumbuhan fibroblast

Pertumbuhan fibroblast meliputi tingkat dan lama konfluen diamati setiap 24, 48 dan 72 jam. Pertumbuhan dan morfologi fibroblast diamati dengan mikroskop inversi. Penentuan tingkat kepadatan kultur fibroblast dinyatakan dalam %

berdasarkan tingkat konfluensi dalam sumuran kepadatan kultur fibroblast dinyatakan 100% apabila kultur fibroblast memenuhi sumuran.

Perhitungan jumlah fibroblast

Jumlah fibroblast dihitung setelah 24, 48 dan 72 jam dengan tripsinasi, kemudian dihitung dengan menggunakan bilik hitung.

Cara analisis

Perbedaan kemampuan proliferasi berupa tingkat kepadatan dan jumlah fibroblast dalam skala nominal antara kelompok perlakuan dengan pembandingan dianalisis dengan uji statistik X^2 .

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian

Kultur fibroblast embrio ayam baik pembandingan maupun perlakuan dengan lidah buaya tampak sehat, sel satu dengan yang lain saling terpisah, besarnya seragam, bentuk sel poligonal dan stelat, sitoplasma jernih inti normokromatis dan tidak ditemukan sel yang mengalami degenerasi.

Hasil rerata tingkat proliferasi fibroblast embrio ayam dengan perlakuan lidah buaya konsentrasi 0,010, 0,015 dan 0,020 g/ml setelah 24, 48 dan 72 jam disajikan dalam TABEL 1. Tingkat

TABEL 1. - Rerata tingkat kepadatan fibroblast embrio ayam setelah perlakuan lidah buaya.

Subyek	Tingkat kepadatan sel (konfluen) dalam %		
	24 jam	48 jam	72 jam
K (n=6)	20	45	80
P1 (n=6)	25	55	90
P2 (n=6)	25	60	90
P3 (n=6)	30	65	100

K, Kelompok pembandingan

P1, Kelompok perlakuan 0,010 g/ml lidah buaya

P2, Kelompok perlakuan 0,015 g/ml lidah buaya

P3, Kelompok perlakuan 0,020 g/ml lidah buaya

kepadatan kultur fibroblast embrio ayam pembandingan dan perlakuan lidah buaya pada medium kultur tampak menunjukkan perbedaan setelah 24, 48 dan 72 jam perlakuan. Tingkat kepadatan kultur fibroblast pembandingan setelah 24 jam sekitar 20% sedangkan tingkat kepadatan kultur fibroblast perlakuan lidah buaya konsentrasi 0,010 dan 0,015 g/ml adalah 25%, kemudian konsentrasi 0,020 g/ml 30%. Pada hari ke 2 kultur (setelah 48 jam) tingkat kepadatan kultur fibroblast pembandingan adalah 45% sedangkan tingkat kepadatan kultur fibroblast kelompok perlakuan lidah buaya adalah 55, 60 dan 65%. Tingkat kepadatan kultur fibroblast embrio ayam mencapai maksimum (konfluen) pada perlakuan 0,020 g/ml lidah buaya setelah 72 jam, sedangkan pada pembandingan tingkat kepadatan kultur

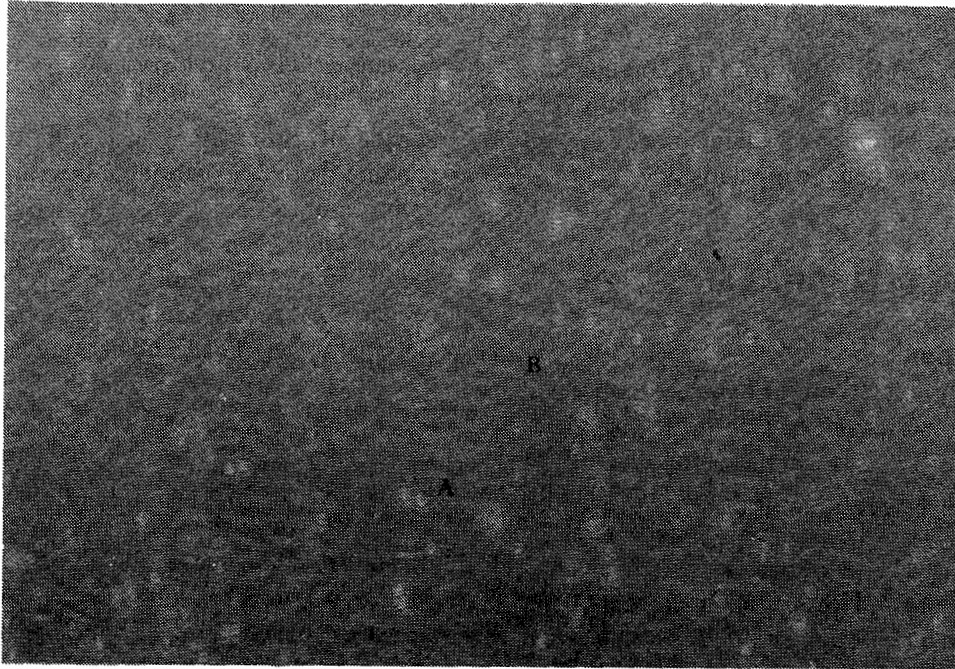


GAMBAR 1. - Kultur fibroblast embrio ayam pembandingan (72 jam)
A. inti sel. B. fibroblast. Tingkat kepadatan 80%.

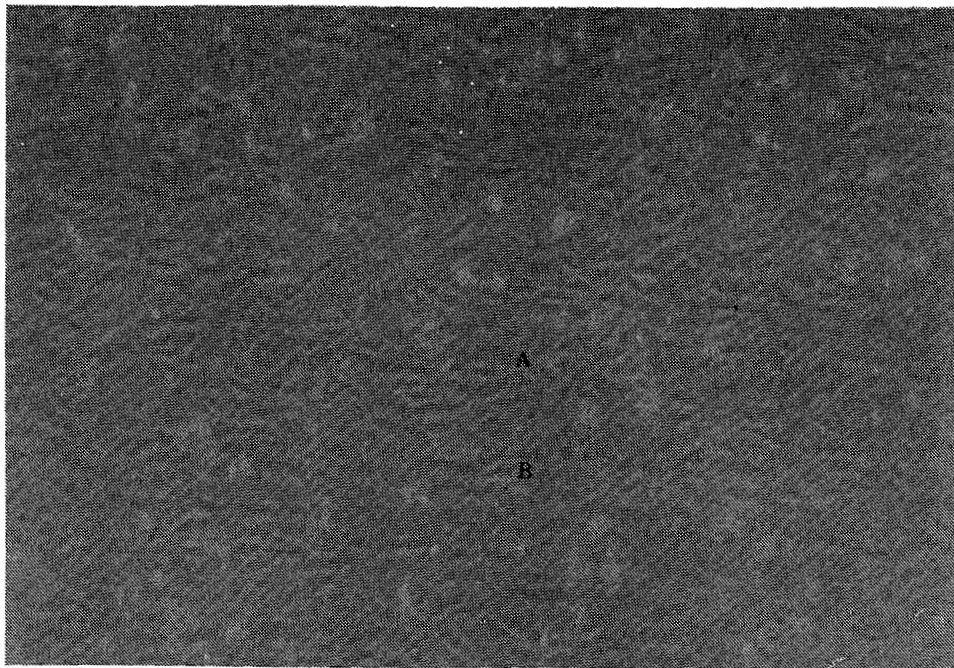
fibroblast adalah 80% dan perlakuan dengan 0,010 dan 0,015 masing-masing adalah 90 % (GAMBAR 1, 2, 3 dan 4).

Selain pengamatan morfologi dan tingkat kepadatan fibroblast juga dilakukan penghitungan jumlah sel dari kultur sel yang disajikan dalam TABEL 2.

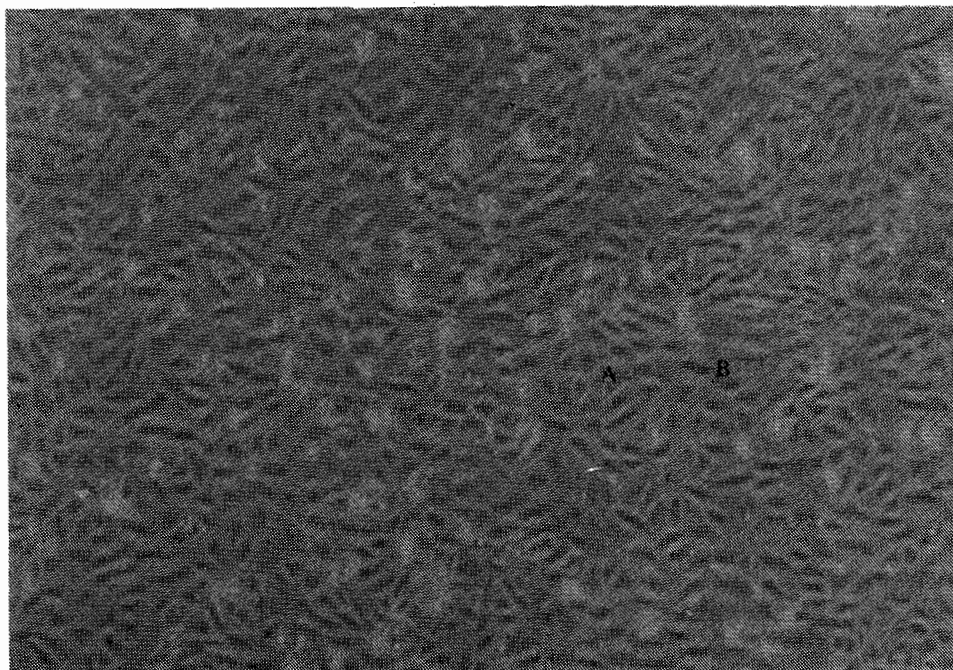
Hubungan antara tingkat kepadatan dan jumlah fibroblast dengan pengenceran diuji dengan X^2 . Hasilnya menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dengan kelompok pembandingan ($p < 0,01$). Dari ketiga kelompok perlakuan pada tingkat pengenceran yang berbeda-beda, tampak bahwa makin tinggi konsentrasi lidah buaya makin



GAMBAR 3. - Kultur fibroblast embrio ayam perlakuan dengan 0,015 g/ml lidah buaya (72 jam). A. inti sel. B. fibroblast. Tingkat kepadatan 90%.



GAMBAR 2. - Kultur fibroblast embrio ayam perlakuan dengan 0,010 g/ml lidah buaya (72 jam). A. inti sel. B. fibroblast. Tingkat kepadatan 90%.



GAMBAR 4. - Kultur fibroblast embrio ayam perlakuan dengan 0,020 g/ml lidah buaya (72 jam). A. inti sel. B. fibroblast. Tingkat kepadatan 100%.

bertambah kepadatan dan jumlah fibroblast. Pada kelompok dengan konsentrasi 0,020 g/ml lidah buaya setelah 48 jam tingkat kepadatannya mencapai 100%, sedangkan kelompok pembanding hanya mencapai 80%.

TABEL 2. - Rerata perhitungan jumlah fibroblast setelah perlakuan dengan lidah buaya.

Subyek	Jumlah fibroblast		
	24 jam	48 jam	72 jam
K (n=6)	70 x 10 ⁴	140x10 ⁴	280x10 ⁴
P1 (n=6)	70 x 10 ⁴	140x10 ⁴	280x10 ⁴
P2 (n=6)	70 x 10 ⁴	140x10 ⁴	280x10 ⁴
P3 (n=6)	70 x 10 ⁴	140x10 ⁴	280x10 ⁴

K, Kelompok pembanding

P1, Kelompok perlakuan 0,010 g/ml lidah buaya

P2, Kelompok perlakuan 0,015 g/ml lidah buaya

P3, Kelompok perlakuan 0,020 g/ml lidah buaya

PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa penambahan konsentrasi lidah buaya menyebabkan tingkat kepadatan fibroblast semakin bertambah. Ini sejalan dengan penelitian dari Davis *et al*, yang menggunakan kombinasi lidah buaya (*Aloe vera*) dan hidro cortisone secara sistemik dan menghasilkan hambatan edema sampai 88,1% dan berkurangnya infiltrasi leukosit polimorfonuklear sampai dengan 91,1%⁸. Peranan *Aloe*

vera dalam memacu pertumbuhan fibroblast dipertegas oleh penelitian Davis *et al*, berikutnya pada stimulasi penyembuhan membran sinovial oleh *Aloe vera*, merupakan salah satu penambahan kepadatan fibroblast⁹.

Fibroblast merupakan salah satu sel yang ikut berperan pada proses penyembuhan luka. Peranan fibroblast dalam penyembuhan luka dengan jalan mensintesis serabut kolagen sangat dipengaruhi oleh hormon, protein dan vitamin⁵. Stimulasi kepadatan fibroblast oleh *Aloe vera* ini disebabkan adanya kandungan senyawa aktif pada *Aloe vera*. Kandungan mannose-6-fosfat yang cukup tinggi pada *Aloe vera* merupakan *growth factor* yang mampu memacu pertumbuhan fibroblast¹.

Dalam penelitian ini kultur fibroblast embrio ayam tampak konfluen setelah 72 jam pada perlakuan dengan 0,020 g/ml lidah buaya berbeda dengan kultur fibroblast pembanding setelah 72 jam belum mencapai konfluen. Secara normal fibroblast di dalam media kultur akan berproliferasi dan mencapai konfluen setelah 72 jam⁷. Dari penelitian ini tampak konfluensi yang paling ideal adalah kultur fibroblast embrio ayam dengan perlakuan 0,015 g/ml lidah buaya di mana konfluensi baru akan dicapai pada kira-kira setelah 96 jam, dengan demikian stimulasi *Aloe vera* terhadap pertumbuhan fibroblast tidak secara drastis

sehingga tidak secara cepat memacu siklus hidup fibroblast.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa secara kualitatif dan kuantitatif, peningkatan konsentrasi lidah buaya (*Aloe vera*) yang diberikan pada kultur fibroblast menyebabkan penambahan tingkat kepadatan fibroblast embrio ayam.

SARAN

Dari simpulan hasil penelitian disarankan:

- a) Perlu dicari dosis optimal lidah buaya untuk pertumbuhan fibroblast.
- b) Perlu dilakukan purifikasi lidah buaya (*Aloe vera*), kemudian dilakukan penelitian pada tingkat molekular.

KEPUSTAKAAN

1. Davis RH, Parker WL, Samson RT, Murdoch DP. Isolation of a stimulatory system in an Aloe extract. J Am Pediatr Med Assoc 1991; 81(9):473-8.
2. Schmidt JM, Greenspoon JS. Aloe vera dermal wound gel is associated with a delay in wound healing. Obstet Gynecol 1991; 78(1):115-7.
3. Davis RH, Donato JJm, Hartman GM, Haas RC. Anti inflammatory and wound healing activity of growth substance in Aloe vera. J Am Pediatr Med Assoc 1994; 84(2):77-81.
4. Davis RH, Parker WL, Samson RT, Murdoch DH. The isolation of an active inhibitory system from an extract of Aloe vera. J Am Pediatr Med Assoc 1994; 81(5):256-61.
5. Junqueira CL, Carneiro J, Kelley RO. Basic histology, 6th ed. California: Lange Medical Publications, 1993.
6. Freshney RI. Culture of animal cells A manual of basic technique, 3rd ed New York: John Wiley & Sons Inc, 1994.
7. Paul J. Cell and Tissue culture. 5th ed. Edinburgh : Churchill Livingstone, 1975.
8. Davis RH, Parker WL, Murdoch DP. Aloe vera as a biologically active vehicle for hydrocortisone acetate. J Am Pediatr Med Assoc 1991; 81(1):1-9.
9. Stewart GJ, Bregman PJ. Aloe vera and the inflamed synovial pouch model. J Am Pediatr Med Assoc 1992; 82(3):140-8.