

PENYEMBUHAN LUKA BAKAR PADA TIKUS PUTIH YANG DIINDUKSI ALOKSAN MENGGUNAKAN SALEP SERUM OTOLOGUS

(Healing of Aloxa-Induced White Rat Burns Using Autologous Serum)

Rostina Melpin*, Mervina Rondonuwu, & Mario Walean

Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Prisma

*e-mail: rostinamel@gmail.com

ABSTRAK

Diabetes militus merupakan penyakit jangka panjang atau kronis yang ditandai dengan kadar gula darah (glukosa) yang jauh diatas normal. Peningkatan jumlah kejadian diabetes militus juga meningkatkan angka kejadian komplikasi diabetes militus, salah satunya adalah luka kaki diabetik. Penurunan resistensi terhadap infeksi dan perubahan respon imun adalah akibat diabetes militus. Penggunaan serum otologus sudah pernah dilakukan dalam terapi penyembuhan luka *dry eye* dalam bentuk tetes mata dan tetes telinga sebagai faktor regulasi. Serum otologus memiliki sifat biomekanik serta biokimia yang mengandung faktor pertumbuhan seperti, EGF, TGF- β , dan Fibronectin. Selain itu juga mengandung Lisozim dan IgA yang merupakan faktor suplemen yang bersifat bakterisida dan Vitamin yang penting dalam proses penyembuhan luka. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh salep serum otologus pada penyembuhan luka tikus putih yang diinduksi aloksan. Adapun metode yang digunakan adalah metode penelitian eksperimental. Hewan uji dibagi menjadi lima kelompok. Kelompok 1 (kontrol normal), kelompok II (kontrol negatif), kelompok III (kontrol positif), kelompok IV dan V adalah kelompok perlakuan yang induksi aloksan dengan dosis 120 mg/KgBB secara intraperitoneal. Kemudian dilakukan pemberian salep serum otologus dengan konsentrasi 40 % sebanyak 2 kali dalam sehari dan 4 kali dalam sehari pada luka. Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah masa kering luka bakar yang dianalisis secara dekskriptif.

Kata kunci: aloksan, luka bakar, serum otologus.

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a disease long-term or chronic marked with blood sugar levels (glucose) in above normal. Increase the number of events diabetes mellitus also increased incidence complications diabetes mellitus, one is wound feet diabetic. Decline resistance against infection and change the immune response is due to diabetes mellitus. The use of serum autologous has been done in therapy wound healing dry eye in the form of eye drops and drops ear as a factor of regulation. Autologous serum have the nature of biomechanics and biochemistry containing growth factors such as, EGF, TGF- β and fibronectin. It also contains lysozyme and IGA which is a factor supplements are bactericidal and vitamin important in the process of wound healing. This study aimed to determine the effect of autologous serum ointment in wound healing

Email: jurnal.itekima@stack.ac.id

on alloxan induced White rat. As for the method used is a experimental research method. Research subjects the form of White rat were divided into five treatment group. Group I was the normal control group, group II as the negative control group, group III as the positive control group, group IV and V group were given alloxan induction intraperitoneally at a dose of 120 mg/Kg BW then followed by autologous serum anointment with the concentration of 40 % as much as 2 times in a day and 4 times in a day on burns. Parameters used in this study is a dry burns descriptive analyzed.

Key words: *alloxan, autologous serum, burns.*

1. PENDAHULUAN

Diabetes militus (DM) merupakan penyakit jangka panjang atau kronis yang ditandai dengan kadar gula darah yang jauh diatas normal. Luka kaki diabetik merupakan komplikasi yang paling sering terjadi dari penyakit DM. Prevalensi DM menurut WHO telah lebih dari 382 juta jiwa orang di dunia mengidap penyakit DM (Parkeni, 2011). Jumlah penderita DM di Amerika Serikat mencapai 2,5 % dan berkembang menjadi luka kaki diabetes pertahunnya dan 15 % dari penderita luka kaki diabetes tersebut akhirnya menjalani amputasi (Sheenan, 2013). Prevalensi DM di dunia dan Indonesia akan mengalami peningkatan, secara epidemiologi, diperkirakan bahwa pada tahun 2030 prevalensi Diabetes Melitus di Indonesia mencapai 21,3 juta orang.

Perawatan kaki, inspeksi kaki setiap hari, menjaga kelembapan, menggunakan alas kaki yang sesuai, dan melakukan olahraga kaki merupakan cara untuk mencegah munculnya luka kaki pada penderita DM (Smeltzer *et al.*, 2002). Membersihkan luka dengan normal salin atau larutan NaCl 0,9 % dan ditambahkan dengan iodine providine, kemudian ditutup dengan kassa kering, merupakan metode konvensional yang biasa dilakukan. Tujuan utama dari metode ini hanyalah untuk melindungi luka dari infeksi (Rainey, 2002). Pasien dengan luka kaki diabetes membutuhkan perawatan jangka panjang untuk dapat sembuh kembali.

Serum telah dimanfaatkan sebagai terapi obat tetes mata pada penderita *dry eye* yang dinenal sebagai serum otologus, berfungsi memperbaiki jaringan-jaringan yang telah rusak (Calonge, 2001). Hal ini dimungkinkan karena serum otologus mengandung beberapa komponen *growth factor* seperti EGF, TGF- β , Fibronectin serta Lisozim dan IgA yang merupakan faktor suplemen yang bersifat bakterisida. Serum otologus dibuat sebagai sediaan yang tidak menggunakan pengawet, bersifat alami, tidak menimbulkan

Email: jurnal.itekima@stack.ac.id

reaksi alergi dan mempunyai sifat biomekanik serta biokimiawi yang dapat digunakan sebagai obat terapeutik (Geerling *et al.*, 2004).

Berdasarkan uraian di atas maka pada penelitian ini, akan dilakukan penelitian efektivitas salep serum pada luka bakar tikus putih galur Wistar usia 3 bulan, dengan berat badan 140-250 gram yang diinduksi aloksan. Aloksan sendiri adalah senyawa diabetogenik yang secara luas telah digunakan untuk membuat model hewan diabetes, karena kemampuannya secara spesifik membuat kerusakan pada sel beta pankreas yang menyebabkan produksi insulin berkurang sehingga menimbulkan diabetes tipe 1 (Etuk, 2010). Penelitian ini meliputi analisis masa kering luka bakar dengan pemberian salep serum otologus sebanyak dua kali dalam sehari dan empat kali dalam sehari pada luka bakar tikus.

2. BAHAN DAN METODE

Desain penelitian

Desain penelitian yaitu penelitian eksperimental dengan pendekatan secara deskriptif.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan yaitu glukometer, gunting, pinset, pisau cukur, timbangan elektronik, karton, staples, kandang hewan coba, termometer, spatula, stopwatch, mikroskop, sentrifugasi, dan peralatan laboratorium lainnya. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serum otologus, aloksan, NaCl fisiologis, adeps lanae, vaselin album, formalin, eter, pelarut etanol 96 %, dan beberapa bahan lainnya.

Hewan uji

Tikus putih adalah populasi dalam penelitian ini. Sampel diambil adalah tikus dengan kriteria berusia 3 bulan dengan berat 140-250 gram.

Cara kerja

Penyiapan serum dan pembuatan salep

Sejumlah 100 mL darah diambil dan didiamkan selama 2 jam kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5000 g selama 10 menit (Geerling *et al.*, 2004). Serum yang diperoleh kurang lebih 25 mL, kemudian ditempatkan pada wadah tersendiri.

Email: jurnal.itekima@stack.ac.id

Adeps lanae dan vaseline album merupakan basis salep yang digunakan. Adeps lanae ditambahkan dengan vaseline album dan diaduk dengan kecepatan konstan hingga homogen. Selanjutnya, serum ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam basis salep. Pengujian homogenitas sediaan salep dilakukan dengan cara mengoleskan sediaan pada sekeping kaca yang transparan, sediaan yang diambil pada bagian atas, tengah dan bawah salep. Sediaan dikatakan homogen jika basis salep dan serum sudah bercampur merata dan ketika dioleskan di atas kaca tidak menggumpal.

Uji hewan diabetes

Sebelum diberikan perlakuan, tikus terlebih dahulu dipuasakan selama 20 jam. Selama masa puasa tikus tetap diberikan air minum. Hewan coba dibagi menjadi lima kelompok perlakuan. Setiap kelompok perlakuan terdiri dari tiga ekor tikus (Adeoye *et al.*, 2017). Kategori perlakuan percobaan yaitu: Kelompok I: Kontrol normal (P0); Kelompok II: Kontrol negatif yang diberi aloksan 90 mg/kgBB (P1); Kelompok III: Kontrol positif yang diberi aloksan 100 mg/kgBB lalu diikuti pemberian salep biasa (P2); Kelompok IV: Pemberian aloksan 120 mg/kg BB lalu diikuti pemberian salep serum konsentrasi 40 % sebanyak dua kali dalam sehari (P3); Kelompok V: Pemberian aloksan 120 mg/kg BB lalu diikuti pemberian salep serum dengan konsentrasi 40 % sebanyak empat kali dalam sehari (P4). Sebelum perlakuan tikus-tikus diadaptasikan. Setelah adaptasi, tikus-tikus ditimbang bobot badannya. Kecuali kelompok kontrol, kelompok lain diberi penyuntikan aloksan monohidrat. Pemberian aloksan dilakukan sedikit modifikasi yaitu dengan dosis 100 mg/Kg BB yang dilarutkan dalam 0.2 mL NaCl fisiologis secara intraperitoneal. Pemeriksaan gula darah dilakukan dengan menggunakan glukometer Accu-Chek tiga hari setelah penyuntikan.

Pemberian luka dan uji salep

Tikus yang dianggap diabetes atau memiliki gula darah yang tinggi selanjutnya dilakukan pemberian luka bakar. sebelum perlakuan, sampel diaklimatisasi selama 3 hari. Setelah dilakukan pembuatan luka bakar, keempat kelompok tersebut diberikan masing-masing sediaan salep pada pagi dan sore hari selama 10 hari. Khusus untuk perlakuan kelompok yang kelima diberikan salep sebanyak empat kali dalam sehari. Pada hari ke-11 dilakukan pengamatan luka pada masing-masing perlakuan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Serum darah yang diperoleh

Pada penelitian ini darah yang diperoleh dari masing-masing relawan adalah 100 mL dengan jumlah serum yang bervariasi antara 25-27 mL yang ditunjukkan pada Tabel 1. Hasil ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Liu *et al.*, (2005) yang mengungkapkan adanya variasi perolehan serum darah.

Tabel 1. Serum yang diperoleh dari darah donor

Donor	Volume darah (mL)	Volume serum yang diperoleh (mL)
1	100	25
2	100	27
3	100	26

Hasil uji tikus diabetes

Hasil pemeriksaan kadar berat badan tikus pada hari ketiga sebelum dan tiga hari sesudah pemberian aloksan disajikan dalam tabel 2.

Tabel 2. Kadar glukosa darah (mg/dL) dan berat badan (gram) masing-masing kelompok perlakuan

Kelompok Perlakuan	Berat badan sebelum pemberian aloksan	Kadar glukosa darah setelah diinduksi aloksan
Kontrol normal	145 ± 6.24	79.33 ± 16.77
Kontrol negatif yang diberi aloksan 90 mg/kgBB	144.33 ± 2.08	375.67 ± 25.16
Kontrol positif yang diberi aloksan 100 mg/kgBB (luka bakar diberi salep biasa)	172 ± 8	179.67 ± 18.77
Pemberian aloksan 120 mg/kg BB (luka bakar diberi salep serum sebanyak 2x sehari)	182.33 ± 15.27	205.67 ± 17.56
Pemberian aloksan 120 mg/kg BB (luka bakar diberi salep serum sebanyak 4x sehari)	193 ± 10.44	355 ± 17.78

Pengujian salep pada luka

Gambaran luka bakar pada tikus putih yang telah diinduksi aloksan secara makroskopik terlihat kulit tikus yang diberikan luka berwarna hitam, merah kecokelatan dan juga beberapa luka bakar tikus terdapat bula pada hari pertama setelah pembuatan luka bakar. Selain itu juga ada beberapa bagian kulit tikus yang mengelupas. Warna hitam dimungkinkan berasal dari plat besi yang dipanaskan pada api. Luka bakar kemudian diberikan salep sesuai perlakuan pada masing-masing kelompok selama 10

hari, dan setiap hari dilakukan pengamatan perubahan luka pada masing-masing perlakuan. Pada hari kedua pemberian salep, luka terlihat berair dan basah. Pada hari ketiga sampai kelima luka juga masih terlihat basah namun pada kelompok perlakuan 4 dan 5 luka sudah tidak terlihat hitam, merah kecokelatan tapi terlihat seperti putih. Hal ini dimungkinkan pengaruh dari salep serum. Pada hari ketujuh luka bakar pada kelompok 1 masih terlihat basah, kelompok 2 pada bagian tengah luka masih terlihat merah dan sedikit berair. Kelompok 3 juga masih terlihat merah namun sedikit mengering. Kelompok 4 dan 5 pada hari ke-7 terlihat jauh lebih baik dimana pada bagian tengah luka terlihat penumpukan berupa serat-serat daging dan sudah mengering. Pengamatan pada hari ke 10 dari semua perlakuan terlihat luka bakar kelompok 3,4, dan 5 sudah membaik.

Pembahasan

Waktu penyembuhan luka bakar menggunakan salep serum dilakukan selama 10 hari. Pengamatan yang dilakukan pada masing-masing perlakuan diperoleh hasil yang jauh lebih baik pada kelompok lima dengan pemberian salep sebanyak empat kali dalam sehari. Pada umumnya proses penyembuhan luka dibagi menjadi empat bagian tahapan penyembuhan yakni hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan tahapan remodeling.

Serum darah merupakan hasil sentrifugasi darah yang diambil dari darah manusia. Serum adalah plasma darah tanpa fibrinogen dan berisi ribuan protein. Sebelumnya, serum telah digunakan sebagai obat tetes mata dan telah digunakan untuk pengobatan luka, karena mengandung komponen seperti *growth factor*, lisozim dan vitamin (Geerling *et al.*, 2004). *Growth factor* memainkan peran penting dalam komunikasi antara sel-sel. Pada transmisi sinyal, *growth factor* mengatur perkembangan dan pertumbuhan normal dengan merangsang dan menghambat proses seperti proliferasi sel, diferensiasi, migrasi, dan adhesi. Inisiasi kegiatan ini terjadi ketika *growth factor* mengikat reseptor dari sel target, dan tingkat dan jenis respon diperintah oleh identitas kimia, konsentrasi dan durasi kerja (Putri & Sriwidodo, 2016).

Growth Factor adalah molekul hormon yang berinteraksi dengan reseptor permukaan sel khusus untuk mengontrol proses perbaikan jaringan. Meskipun mereka hanya dalam jumlah nanogram, tapi mereka memiliki pengaruh kuat pada penyembuhan dan perbaikan luka (Putri & Sriwidodo. 2016). *Epidermal growth factor* (EGF)

Email: jurnal.itekima@stack.ac.id

merupakan salah satu *growth factor* yang terikat pada reseptor epidermal *growth factor receptor* (EGFR). Mekanisme fungsi EGF sendiri melalui pengikatan pada reseptor spesifiknya yaitu EGFR yang terdapat pada permukaan sel dengan daya afinitas yang tinggi dan menstimulasi aktivitas intrinsik protein tirosin kinase (Polat *et al.*, 2009).

EGF merupakan salah satu faktor pertumbuhan yang berfungsi untuk menginduksi proliferasi jaringan epidermis dan epitel pada mamalia (Mu, 2016). EGF memiliki reaksi biologi yang cukup luas dan dengan cepat memacu pertumbuhan berbagai susunan kulit, mempercepat pertumbuhan sel-sel baru yang berperan dalam mempercepat metabolisme kulit dalam menghambat penuaan dini, selain itu juga membuat kulit memproduksi sendiri protein dan serat elastis protein baru sehingga kulit kembali elastis. Saat kulit terluka EGF dapat meningkatkan fungsi pemulihan dan pertumbuhan baru dari susunan kulit tersebut. EGF telah banyak diteliti sebagai agen penyembuhan luka bedah maupun luka bakar (Choi, 2012).

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa salep serum dapat digunakan dalam penyembuhan luka bakar tikus putih dengan kadar gula darah yang tinggi. Hal ini dapat terjadi karena kandungan adanya *growth factor* pada serum. Pemberian salep lebih efektif diberikan sebanyak empat kali dalam sehari dibandingkan hanya dua kali sehari.

Saran untuk penelitian berikutnya adalah perlu dilakukan uji histologi pada luka bakar serta variasi konsentrasi pemberian salep serum.

DAFTAR PUSTAKA

- Adeoye, A. T., Oyagbemi, A. A., Adedapo, D. A., Omobowale, O. T., Ayodele, E. A., & Adedapo A. A. 2017. Antidiabetic and Antioxidant Activities of The Methanol Leaf Extract of *Vernonia amygdalina* In Alloxan-Induced Diabetes In Wistar Rats. *Journal of Medical Plants for Economic Development*, pp. 1–12.
- Calonge, M. 2001. The Treatment of Dry Eye. *Surv. Ophthalmol*, 45:227-239.
- Choi, J.K. 2012. The Effect of Epidermal Growth Factor (EGF) Conjugated with Low-Molecular-Weight Protamine (LMWP) on Wound Healing of The Skin. *Biomaterials*, 33(33): p. 8579-90.

- Etuk, E. U. 2010. Animals Models for Studying Diabetes Mellitus. *Agric. Biol. J. N. Am.*, 1(2): 130-134.
- Geerling, G., S., MacLennan, & D., Hartwig. 2004. Autologous Serum Eye Drops for Ocular Surface Disorder. *Journal Ophthalmology*, 88:1467-1474.
- Liu, D. D., Hartwig, S., Harloff, P., Herminghaus, T., Wedel, & G., Geerling. 2005. An Optimised Protocol for The Production of Autologous Serum Eyedrops. *Grefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*, 243:706-714.
- Mu, W. 2016. Epidermal Growth Factorinduced Stimulation of Proliferation and Gene Expression Changes in The Hypotrichous Ciliate, *Stylonychia Lemnae*. *Gene*, 592(1): p. 186-92.
- Perkeni, P. B. 2011. Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan DM Tipe 2 di Indonesia 2011. Jakarta: PERKENI.
- Polat, B., D. B. Acar, H. C. Macun, O. Korkmaz, A. Çolak, A. Baştan, & A. Akça. 2009. Effect of Epidermal Growth Factor on In Vitro Maturation of Cat Oocytes Recovered from Ovaries at Follicular and Luteal Stages. *Kafkas. Univ. Vet. Fak. Derg.* 15(4): 623-627.
- Putri, D. E. & Sriwidodo. 2016. *Review artikel: Peranan Epidermal Growth Factor* pada Penyembuhan Luka Pasien Ulkus Diabetes.
- Rainey, J. 2002. Wound Care: A Handbook For Community Nurses. Philadelphia: Whurr Publisher.
- Sheehan, Peter. 2003. Percent Change in Wound Area of Diabetic Foot Ulcer Over a 4-week Period is a Robust Predictor of Complete Healing in a 12- week Prospective Trial, (online), (<http://www.medscape.com/>, diakses tanggal 7 Agustus 2018).
- Smeltzer, S. C., Bare, B. G. 2001. Buku Ajar Keperawatan Medikal –Bedah Brunner & Suddarth. Vol. 2. Edisi 8. Jakarta : EGC.