

**AKTIVITAS GEL EKSTRAK KOLAGEN SISIK IKAN KAKAP MERAH
(*Lutjanus argentimaculatus*) TERHADAP FASE EPITELISASI PADA
PROSES PENYEMBUHAN LUKA BAKAR KULIT KELINCI
“Gambaran Makroskopis dan Mikroskopis”**

**THE EPITHELIALIZATION PHASE ON BURN WOUND HEALING
ACTIVITY OF COLLAGEN EXTRACT FROM RED SNAPPER FISH
SCALES (*Lutjanus argentimaculatus*) IN RABBIT SKIN
“Macroscopic and Microscopic Description”**

Lisa Riana Wardani¹⁾, Dwi Hadi Setya Palupi³⁾, Noor Wijayahadi²⁾

¹⁾ Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang

²⁾ Universitas Diponegoro Semarang

SARI

Luka bakar adalah kerusakan jaringan yang disebabkan kontak dengan sumber panas. Kolagen merupakan material dominan yang berguna untuk regenerasi jaringan dan berpotensi untuk mempercepat penyembuhan luka bakar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak kolagen sisik ikan kakap merah dalam sediaan gel terhadap karakteristik fisik gel, gambaran makroskopis dan mikroskopis fase epitelisasi pada proses penyembuhan luka bakar derajat II. Penelitian ini menggunakan 9 ekor kelinci jantan galur *New Zealand* usia 4-6 bulan, punggung kelinci dibagi menjadi 5 area luka yang diinduksi dengan lempeng besi panas berdiameter 20 mm dengan suhu 70°C selama 5 detik. Setiap kelompok diberikan perlakuan gel ekstrak kolagen konsentrasi 0,3%, 0,6%, dan 0,9%. kontrol negatif diberikan perlakuan basis gel, sedangkan kelompok kontrol positif diberikan perlakuan gel *Neomisin sulfat-Plasenta bovine*. Pengamatan secara makroskopis dilakukan setiap hari dan pengamatan secara mikroskopis dilakukan pada hari ke-3, 9 dan 12. Data karakteristik fisik gel dianalisis menggunakan SPSS dengan taraf kepercayaan 95% menunjukkan perbedaan signifikan ($P < 0,05$) antara gel ekstrak kolagen terhadap basis gel. Pengaruh ekstrak kolagen terhadap karakteristik fisik gel yaitu dapat menurunkan pH, viskositas, daya lekat, dan meningkatkan daya sebar. Hasil uji statistik aktivitas gel ekstrak kolagen menunjukkan tidak berbeda signifikan secara makroskopis, namun hasil skoring fase epitelisasi luka bakar kulit kelinci menunjukkan perbedaan signifikan dengan kontrol negatif. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian gel ekstrak kolagen sisik ikan kakap merah dapat mempercepat fase epitelisasi pada proses penyembuhan luka bakar.

Kata kunci: luka bakar, fase epitelisasi, kolagen, sisik ikan kakap merah

ABSTRACT

Burns is a tissues damage caused by contact with a heat source. Collagen was a dominant material which was usefull for tissue regeneration and it was potential to accelerate wound healing. The purpose of this study was to determine the effect of different concentrations of collagen red snapper fish scales extract in the physical characteristics of gel, macroscopic and microscopic description epithelialization

phase in healing process of second-degree skin. This study was conduct 9 male rabbits of New Zealand strain were age 4-6 months. Each rabbit back divided into 5 wound areas which induced by 20 mm heat iron with temperature 70⁰ C . Each group treated with collagen extract of red snapper fish scales gel concentration 0.3%, 0.6%, and 0.9%. Negative control group treated with gel base, while the positive control gave treatment neomycin sulfate- bovine placenta gel. Microscopic observation was done every day and microscopic observations performed on days 3, 9 and 12. Gel Physical characteristics data analyzed by spss with confidence level 95 % showed that significant differences (P <0.05) between collagen extract gel with gel base. The influence of collagen extract to the gel physical characteristics that could be lowered ph, viscosity, attaching power, and improve the gel spreading. The results of the statistical test collagen extract activity showed no significant difference between macroscopic examination, but epithelialization phase data scoring rabbit skin burns result showed significant differences with negative control. Based on the results could be conclude that the administration of collagen red snapper fish scales extract in gel could be accelerate epithelialization phase on healing process of burns.

Keywords : *burns, epithelialization phase, collagen, red snapper scales*

PENDAHULUAN

Luka bakar merupakan penyebab trauma yang sering terjadi dan dapat mengakibatkan morbiditas dan mortalitas yang relatif tinggi dibandingkan dengan cedera oleh sebab lain. Luka bakar adalah bentuk kerusakan jaringan yang disebabkan kontak dengan sumber panas seperti api, air panas, bahan kimia, listrik dan radiasi (Moenadjat, 2003). Di Indonesia, belum ada laporan tertulis mengenai jumlah penderita luka bakar dan jumlah angka kematian yang diakibatkannya. Di Indonesia, belum ada laporan tertulis mengenai jumlah penderita luka bakar dan jumlah angka kematian yang diakibatkannya.

Di RSUP M. Jamil Padang pada tahun 2009 dilaporkan bahwa kasus luka bakar mencapai 91 orang dengan penyebab berasal dari kompor dan alat elektronik. Tercatat di RSUP Dr. Sardjito, jumlah kasus luka bakar yang dirawat di bagian bedah terjadi peningkatan dari 76 kasus pada tahun 2005 menjadi 82 kasus pada tahun 2006 (Fitria *et.al*, 2013).

Studi *in vivo* terhadap hewan uji menunjukkan bahwa kolagen sapi yang diberikan secara topikal dapat mempercepat penutupan luka, dan memacu penutupan luka, selain itu kolagen dari sapi dapat meningkatkan granulasi jaringan dan efektif untuk regenerasi jaringan. Kolagen dapat

memacu pembentukan kembali jaringan epitel dengan matrik ekstra seluler (Kirubanandan dan Sehgal, 2010).

METODE PENELITIAN

Obyek Penelitian : gambaran makroskopis dan mikroskopis sel epitel pada penyembuhan luka bakar

Variabel Bebas : konsentrasi ekstrak kolagen sisik ikan kakap merah sebesar 0,3 %, 0,6 %, dan 0,9 %.

Variabel terikat : karakteristik fisik gel (uji organoleptis, uji pH, uji daya sebar, uji daya lekat, dan uji viskositas) dan pengamatan makroskopik meliputi persen penyembuhan luka bakar serta gambaran mikroskopis fase epitelisasi pada proses penyembuhan luka bakar.

Bahan yang digunakan : sisik ikan kakap merah, etil klorida. Hewan uji yang digunakan kelinci galur *New Zealand* jumlah 9 ekor, umur 4-6 bulan dengan berat 2-3 kg, Aquadestilatta, NaOH, N - Butil Alkohol, Asam Asetat, NaCl, Metil Paraben, Detergen, Na CMC, Carbopol, Propilenglikol, Trietanolamin, dan Gliserin, gel Neomisin sulfat- Plasenta bovine.

Alat : lumpang, alu, gelas ukur, timbangan analitik, cawan porselin, batang pengaduk, Beaker glass, kain flannel hitam, kertas saring, jangka sorong, mikroskop foto lensa olympus

CX41 alat yang digunakan adalah beaker glass, lemari es, centrifuge, tabung centrifuge, batang pengaduk, kertas saring, gelas ukur, labu takar, neraca digital, pinset, penginduksi panas, dan jangka sorong, FTIR .

Pembuatan ekstrak kolagen sisik ikan kakap merah: Sisik ikan dibersihkan kembali dengan NaOH 0,1 M. Ditempatkan pada suhu 4°C dalam lemari es selama 24 jam. Disaring dengan kertas saring dan dibilas dengan aquadest, kemudian ampas tersebut ditambahkan 10% n-butyl Alkohol, disimpan di dalam lemari es selama 48 jam untuk menghilangkan kandungan lemaknya. Sisik disaring, ampasnya disuspensikan dengan Asam Asetat 0,5 M, disimpan kembali di dalam lemari es pada suhu 4°C selama tiga hari. Kolagen terlarut diendapkan menggunakan centrifuge dingin suhu 4°C dengan kecepatan 3.000 rpm selama 15 menit. Endapan kolagen dikumpulkan dalam cawan dan disimpan di lemari es suhu 8°C hingga mengering. Kolagen yang telah mengering tersebut ditimbang dan dihitung rendemennya.

Formula Gel Kolagen Ikan Kakap Merah

R/ Carbopol	1,5%
Metil Paraben	0,2%
Gliserin	10%
Propilenglikol	10%
Trietanolamin	5%
Aquadest ad	100%

Basis gel yang sudah jadi kemudian dicampur dengan ekstrak kering yang sudah ditimbang dengan konsentrasi 0,3%; 0,6%; 0,9% kemudian dicampur homogen dan diuji aktivitasnya.

Pembuatan basis gel : Metil paraben (0,2%) dilarutkan dalam air suling dengan memanaskan hingga suhu 70°C, kemudian ditambah carbopol diaduk hingga mengembang membentuk gel, ditambahkan trietanolamin (5%), dan gliserin (10%). Ekstrak kolagen dilarutkan dalam propilenglikol, kemudian ditambahkan ke dalam basis gel yang telah terbentuk, dan diaduk hingga homogen.

Perlakuan hewan uji : 9 ekor kelinci, masing masing punggung kelinci dibagi menjadi 5 kelompok. Dicukur bulu kelinci didaerah punggung kelinci. Kulit punggung kelinci dianestesi dengan etil klorida pada

kulit yang akan dibuat luka bakar. Kemudian kulit punggung diinduksi dengan lempeng besi panas berdiameter 20 mm dengan suhu 70⁰ C selama 5 detik. Kemudian diberikan gel ekstrak kolagen sisik ikan kakap merah sebanyak 200 mg pada masing – masing konsentrasi.

Analisi Data : Data yang diperoleh pengujian karakteristik fisik sediaan gel kolagen sisik ikan kakap merah, gambaran makroskopis dan mikroskopis fase epitelisasi. Diuji statistik menggunakan SPSS 16. Bila data homogen dan berdistribusi normal maka dilakukan analisis dengan anava. Adanya perbedaan diuji dengan *post hoc* dengan nilai signifikansi <0,05.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Uji kualitatif terhadap ekstrak dilakukan untuk memastikan kolagen

di dalam ekstrak. Uji pendahuluan ekstrak kolagen yaitu uji biuret dan uji pengendapan logam. Hasil uji kualitatif yaitu uji biuret dan uji pengendapan logam terhadap ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak positif mengandung protein. Uji biuret dilakukan untuk mengetahui adanya ikatan peptide didalam proteinyang didasarkan pada reaksi antara ion Cu^{2+} dan ikatan peptida dalam suasana basa yang akan membentuk kompleks

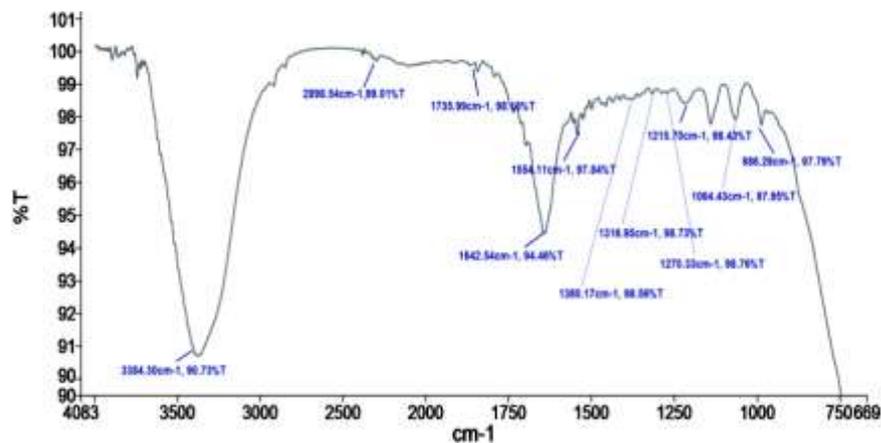
berwarna ungu. Uji pengendapan protein dengan logam, ditunjukkan dengan adanya perubahan warna larutan pada saat penambahan $AgNO_3$ yang membentuk endapan putih. Pengendapan akan terjadi bila protein berada dalam bentuk isoelektrik yang bermuatan negatif, dengan adanya muatan positif logam berat akan terjadi reaksi netralisasi dari protein dan dihasilkan garam proteinat yang mengendap.

Tabel 2. Uji Kualitatif Kandungan Senyawa Ekstrak Kolagen Sisik Ikan Kakap Merah (*Lutjanus argentimaculatus*)

Senyawa	Uji	Identifikasi	Hasil	Keterangan
Ikatan peptide	Biuret	Ekstrak + 3 tetes NaOH + 1 tetes $CuSO_4$ 5%	Ungu	+
Protein	Pengendapan Logam	Ekstrak + 3 tetes $AgNO_3$	Putih	+

Keterangan :

+ : Menunjukkan adanya senyawa yang dimaksud



Gambar 1. Hasil Uji FTIR Kolagen Sisik Ikan Kakap Merah (*Lutjanus argentimaculatus*)

Selanjutnya dilakukan uji penegasan terhadap adanya kandungan

kolagen di dalam ekstrak dengan menggunakan FTIR menunjukkan

bahwa ekstrak positif mengandung kolagen. Hal ini dibuktikan dengan adanya amida I, amida II, dan amida III yang muncul pada frekuensi,

1642,54 cm^{-1} , 1554,11 cm^{-1} , dan 3384,30 cm^{-1} yang merupakan spektrum utama dari kolagen.

Tabel 2. Hasil Uji Karakteristik Fisik Gel Ekstrak Kolagen Sisik Ikan Kakap Merah (*Lutjanus argentimaculatus*)

Pengujian	Organoleptis	Homogenitas	pH	Daya lekat (det)	Daya sebar (cm)	Viskositas (cp)
F1	Kental, Transparan, bau khas	Homogen	8,14±0,35 ^a	2,77±0,30 ^a	6,54±0,03 ^a	585,666±1527,52 ^a
F2	Sedikit kental, transparan, bau khas	Homogen	7,74±0,13 ^b	2,9±0,46 ^{bcd}	6,73±0,03 ^{bcd}	573,666±2081,66 ^{bcd}
F3	Encer, transparan, bau khas	Homogen	7,35±0,47 ^c	1,77±0,51 ^{cde}	6,84±0,03 ^{cde}	564,666±2081,66 ^{cde}
K-	Kental, transparan, bau khas	Homogen	8,21±0,08 ^{de}	8,1±0,56 ^{de}	5,91±0,07 ^{de}	596,666±1527,52 ^{de}

Huruf *subscript* yang sama pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p < 0,05$)

Keterangan:

- F1 : Gel kolagen sisik ikan kakap merah konsentrasi 0,3%
- F2 : Gel kolagen sisik ikan kakap merah konsentrasi 0,6%
- F3 : Gel kolagen sisik ikan kakap merah konsentrasi 0,9%
- K-: Basis gel Carbopol

Formula yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas 3 formula yang berbeda konsentrasi yaitu formula 1, formula 2, formula 3 dengan konsentrasi kolagen sisik ikan kakap merah 0,3%; 0,6%; dan 0,9%. Masing-masing formula dibuat gel sebanyak 100 gram. Pengujian fisik sediaan gel meliputi pengujian terhadap organoleptis, pH, daya sebar, daya lekat, dan viskositas.

Gel kolagen sisik ikan kakap merah secara umum (dalam konsentrasi berbeda) memiliki bentuk kental, berbau khas, bening tidak

berwarna dan memiliki homogenitas yang baik. Uji pH sediaan gel bertujuan untuk mengetahui kesesuaian pH sediaan gel dengan pH kulit. Semakin besar konsentrasi kolagen yang ditambahkan terlihat semakin rendah pH sediaan gel. Kolagen memiliki pH sebesar 5,5 sehingga ketika ditambahkan kedalam basis gel akan mengakibatkan penurunan pH sediaan. Uji daya lekat sediaan gel adalah untuk mendapatkan gambaran kemampuan gel melekat pada kulit. Semakin besar konsentrasi kolagen yang ditambahkan ke dalam

gel maka semakin kecil daya lekat sediaan gel. Berdasarkan hasil uji statistik peningkatan konsentrasi sebesar 0,3% pada sediaan mempengaruhi penurunan daya lekat sediaan gel secara signifikan.

Berdasarkan hasil uji statistik peningkatan konsentrasi kolagen sebesar 0,3% dalam sediaan berbeda signifikan terhadap daya sebar gel. Semakin besar konsentrasi kolagen yang ditambahkan ke dalam gel, semakin besar daya sebar sediaan gel yang dihasilkan.

Uji viskositas terhadap sediaan gel bertujuan untuk mengetahui konsistensi gel yang dibuat. Semakin tinggi konsentrasi sisik ikan kakap

merah yang ditambahkan ke dalam gel, maka semakin rendah viskositas sediaan gel. Berdasarkan hasil uji statistik peningkatan konsentrasi kolagen sisik ikan kakap merah sebanyak 0,3% yang ditambahkan ke dalam sediaan mampu mempengaruhi karakteristik viskositas dari sediaan. Pengaruh kolagen terhadap karakteristik sediaan gel berupa penurunan viskositas gel yang disebabkan oleh kolagen yang ditambahkan ke dalam gel memiliki pH asam yaitu 5,5 menyebabkan putusannya rantai polimer Carbopol dengan akibat langsungnya adalah penurunan viskositas gel (Ansiah, 2014).



Gambar 2. Kurva Persentase Penyembuhan Luka Bakar kulit kelinci terhadap waktu (hari)

Berdasarkan kurva hari perlakuan terhadap persentase penyembuhan terlihat bahwa semakin curam kenaikan persen penyembuhan luka bakar menunjukan proses penyembuhan semakin cepat. Gel

kolagen sisik ikan kakap merah formula 2 dengan konsentrasi 0,6% menunjukkan penurunan kurva yang paling curam jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya, sehingga dari kurva dapat ditarik kesimpulan bahwa

gel kolagen sisik ikan kakap merah konsentrasi 0,6 % memiliki aktivitas penyembuhan terhadap luka bakar yang lebih efektif.

Hasil uji statistika terhadap persentase penyembuhan luka bakar pada hari ke-12 tidak menunjukkan adanya perbedaan pada masing-masing perlakuan. Hal ini terjadi karena, luka yang telah mengering maka akan membentuk keropeng

(scar) yang akan menutupi jaringan dibawahnya sehingga akan menutupi proses perbaikan yang terjadi pada jaringan epitel dibawahnya dan proses perebaikan luka secara makroskopis nampak terhenti. Proses perbaikan yang terjadi dalam jaringan perlu diamati lebih lanjut melalui pemeriksaan histopatologi pada jaringan kulit untuk melihat proses perbaikan yang terjadi pada jaringan.

Tabel 3. Rata-rata Skor Re-Epitelisasi Luka Bakar Kulit Kelinci

Hari ke-	F1	F2	F3	K-	K+
3	1,4±0,2 ^a	1,8±0,2 ^{b,a}	1,6±0,2 ^c	1,2±0,2 ^{d,a,b,c}	1,6±0,2 ^{e,d}
9	3,2±0,2 ^a	3,6±0,2 ^{b,a}	3,6±0,2 ^{c,a}	2,4±0,2 ^{d,c,b,a}	3,6±0,2 ^{e,a,d}
12	3,8±0,2 ^a	4,53±0,3 ^{b,a}	4,53±0,3 ^{c,a}	3,2±0,2 ^{d,c,b,a}	4,6±0,2 ^{e,a,d}

Superscript huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan adanya perbedaan signifikan (P<0,05)

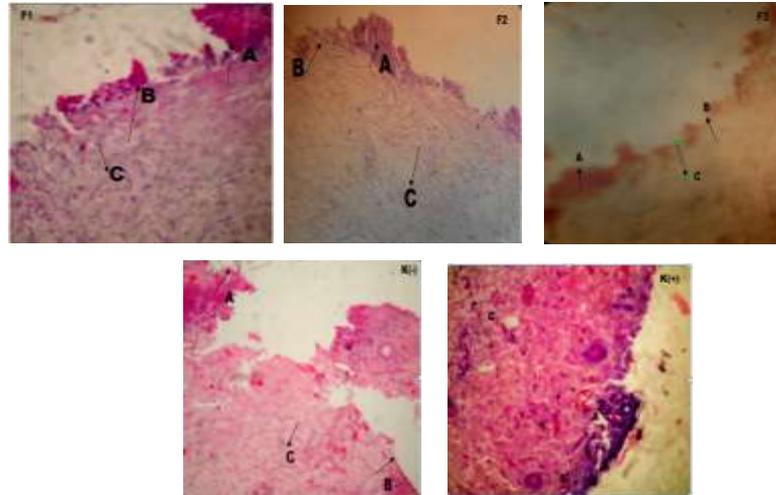
Keterangan:

- F1 : Gel kolagen sisik ikan kakap merah konsentrasi 0,3%. K-: Basis gel Carbopol
- F2 : Gel kolagen sisik ikan kakap merah konsentrasi 0,6%. K+: Kontrol positif
- F3 : Gel kolagen sisik ikan kakap merah konsentrasi 0,9%.

Hasil statistik skoring fase epitelisasi hari ke-3 pada proses penyembuhan luka bakar memiliki kemampuan dalam memicu pertumbuhan jaringan granulasi. Pada hari ke-9 kandungan kolagen dalam gel membantu regenerasi jaringan termasuk sel epitel yang rusak sehingga fase epitelisasi pada proses penyembuhan luka bakar akan berjalan lebih cepat (Kirubanandan dan Sehgal, 2010). Re-epitelisasi merupakan proses perbaikan sel-sel

epitel kulit sehingga luka akan menutup. Semakin cepat terjadi reepitelisasi akan membuat struktur epidermis segera mencapai keadaan normal (Putriyanda 2006). Pada hari ke-12 Penyembuhan luka bakar berada dalam fase maturasi adalah untuk meningkatkan faktor pertumbuhan, mendorong proses fibroplasia yang akan membentuk jaringan epitel baru dan proliferasi epidermis, yang akan mengembalikan elastisitas dan ketahanan kulit setelah adanya luka

bakar (Kirubanandan dan Sehgal, 2010).



Gambar 3. Pengamatan Mikroskopis Reepitelisasi luka bakar kulit kelinci hari ke-3 (HE 100X)

Keterangan:

A : Jaringan Granulasi

B : Epidermis

C : Dermis

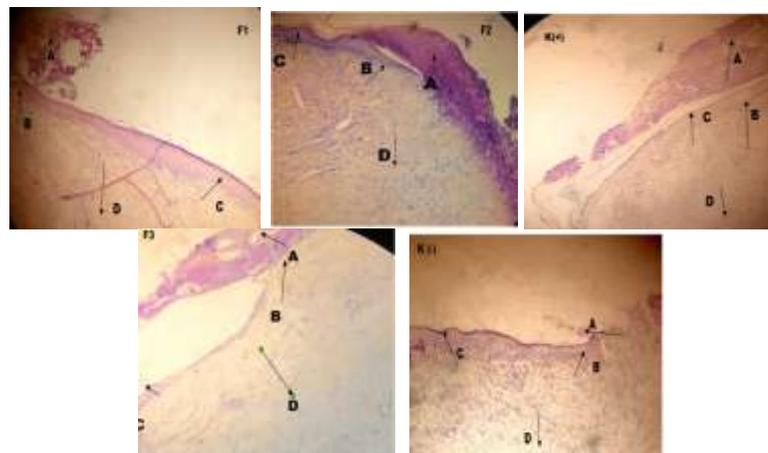
F1: Gel kolagen konsentrasi 0,3%

F2 : Gel kolagen konsentrasi 0,6%

F3 : Gel kolagen konsentrasi 0,9%

K(-) : basis gel

K(+): kontrol positif



Gambar 4. Pengamatan Mikroskopis Reepitelisasi luka bakar kulit kelinci hari ke-9 (HE 100X)

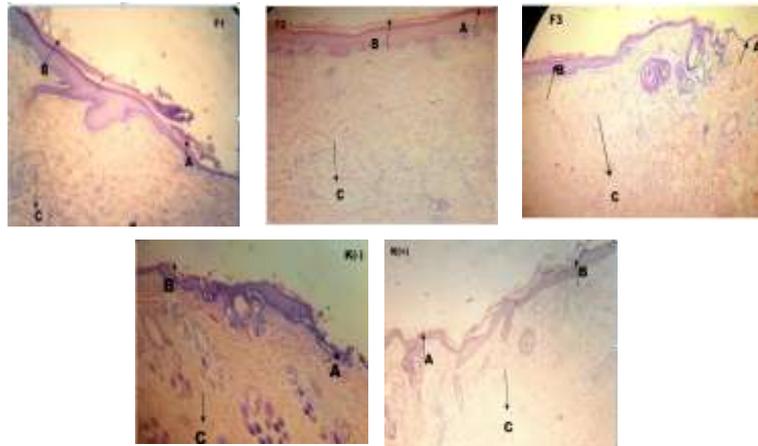
Keterangan:

A : Jaringan Granulasi

B : Re-epitelisasi

C : Epidermis

D : Dermis



Gambar 5. Pengamatan Mikroskopis Reepitelisasi luka bakar kulit kelinci hari ke-12 (HE 100X)

Keterangan:

- A : Re-epitelisasi
- B : Epidermis
- C : Dermis

SIMPULAN

1. Perbedaan konsentrasi kolagen sisik ikan kakap merah mempengaruhi karakteristik fisik sediaan gel kolagen sisik ikan kakap merah, diantaranya menurunkan pH sediaan, menurunkan daya lekat sediaan, menurunkan viskositas sediaan, dan meningkatkan daya sebar sediaan.
2. Tidak ada perbedaan gambaran makroskopis penyembuhan luka bakar pada kulit punggung kelinci jantan *New Zealand*, namun ada perbedaan secara mikroskopis histologi kulit pada fase epitelisasi.
3. Gel kolagen sisik ikan kakap merah (*Lutjanus*

argentimaculatus) konsentrasi 0,6% secara mikroskopis paling efektif dalam fase epitelisasi pada proses penyembuhan luka bakar kulit kelinci.

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap pengamatan histologi bagian kulit yang lain seperti fibroblast dan kolagen.
2. Perlu penelitian lebih lanjut di skala klinis agar ekstrak kolagen sisik ikan kakap merah dapat digunakan untuk terapi luka bakar.

DAFTAR PUSTAKA

- Ansiah, S.W. 2014. Formulasi Sediaan Gel Antiseptik Fraksi polar Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds). *Skripsi*. Pontianak: Program Studi

- Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.
- Fitria, M., Deddy, S., dan Gusti, R. 2014. Pengaruh Papain getah Pepaya terhadap Pembentukan Jaringan Granulasi pada penyembuhan luka Bakar Tikus Percobaan. *Jurnal Kesehatan Andalas*. Vol 3 : 73-76
- Kirubanandan, S. dan Sehgal, P.K. 2010. Regeneration Of Soft Tissue Using Porous Bovine Collagen Scaffold. *Journal of Optoelectronics and Biomedical Materials*. (2) :141-149
- Kusumawati, L.H., Wardani, L.R., Saesaria, M.A.L., Ramdini, M., dan Dinurrosifa, R.S. 2014. Formulasi Kolagen Mbah Sikan (Limbah Sisik Ikan) Kakap Merah (*Lutjanus sp.*) Sebagai Obat Luka Bakar. *Laporan Penelitian Program Kreativitas Mahasiswa*. Semarang : Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi.
- Moenadjat, Y. 2001. *Luka Bakar Pengetahuan Klinis dan Praktis ed II*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI .
- Najibpour, N., Jehantab, M.B., Hosseinzadeh, M., Roshanravan, R., Moslemi, S., Rahimikazeroni, S., Safarpour, A.R., Ghahramani, L., dan Hosseini, S.V. 2013 The effects of human Amniotic Membrane on healing of Colonic Anastomosis Dogs. *Ann. Colecteral Res*. 1(3): 97-100
- Putriyanda, N. 2006. Kajian patologi Aktivitas Getah Pohon Pisang Tanduk (*Musa paradisiaca forna typica*) dalam Proses Penyembuhan Luka pada Mencit (*Mus musculus albinus*). *Skripsi*. Bogor : Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.