

AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN UJI EFIKASI *IN VIVO* MEMBRAN SERAT NANO POLIVINIL ALKOHOL/GELATIN DENGAN ANTIBIOTIKA TOPIKAL UNTUK TEKSTIL MEDIS PEMBALUT LUKA

ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND IN VIVO EFFICACY TESTING OF POLYVINYL ALCOHOL/GELATIN NANOFIBROUS MEMBRANES WITH TOPICAL ANTIBIOTICS FOR WOUND DRESSING MEDICAL TEXTILES

Eva Novarini, Theresia Mutia, RR. Srie Gustiani

Balai Besar Tekstil, Jalan Jenderal Ahmad Yani No. 390 Bandung 40272

Telp. (022) 7206214, 7206215, Fax. (022) 7271288

e-mail: bbt@kemenperin.go.id

Tanggal diterima: 26 Desember 2020, direvisi: 17 Juni 2021, disetujui terbit: 25 Juni 2021

ABSTRAK

Luka memiliki beberapa derajat keparahan dan terkadang memerlukan penanganan khusus, misalnya untuk luka kronis akibat diabetes atau borok vena. Pembalut luka dari membran serat nano campuran polimer sintetik polivinil alkohol (PVA) dan polimer alam gelatin dapat dijadikan pembalut untuk luka kronis. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan adanya aktivitas antibakteri dan kaitannya dengan penyembuhan luka oleh membran serat nano PVA/gelatin yang ditambahkan antibiotika topikal Bacitracin dan Neomycin. Penilaian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode *parallel streak* menggunakan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Untuk mengetahui efikasi membran serat nano terhadap penyembuhan luka terinfeksi, dilakukan uji *in vivo* menggunakan kelinci albino jantan sehat yang diinfeksi oleh bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Hasil pengujian menyatakan bahwa membran serat nano memiliki kekuatan antibakteri tinggi dilihat dari zona hambat/daerah bening > 20 mm yang menandakan mikroorganisme sangat sensitif terhadap spesimen uji. Membran serat nano juga terbukti dapat mempercepat penyembuhan luka terinfeksi. Kelinci albino yang diinfeksi oleh bakteri dan diobati membran serat nano menunjukkan kesembuhan total pada hari ke 5 sedangkan kelinci kontrol sembuh pada hari ke 14. Berdasarkan hasil yang ada, membran serat nano PVA/gelatin/antibiotika topikal ini berpotensi untuk dijadikan sebagai pembalut luka terinfeksi.

Kata kunci: membran serat nano, pembalut luka, gelatin, antibiotika topikal, uji *in vivo*

ABSTRACT

*The wound has several degrees of severity and sometimes requires special treatment, for example in chronic wounds caused by diabetics or venous ulcers. A wound dressing from a nanofiber membrane, made from mixing synthetic polyvinyl alcohol (PVA) polymer with a natural gelatin polymer, can be used as a dressing for chronic wounds. This study aims to prove the existence of antibacterial activity of PVA/gelatin nanofiber membrane with the addition of topical antibiotics Bacitracin and Neomycin and its relation to wound healing. The assessment of antibacterial activities was carried out by the parallel streak method using *E. coli* and *S. aureus*. To figure out the efficacy of nano fiber membrane on healing an infected wound, in vivo tests were carried out using healthy male albino rabbits infected by *E. coli* and *S. aureus* bacteria. The test results state that the nanofiber membrane has a high antibacterial strength based on the inhibition zone/clear area which is > 20 mm that indicates that microorganisms are very sensitive to the test specimens. Nano-fiber membranes have also been shown to accelerate the healing of infected wounds. Bacterially infected albino rabbits treated with nanofibrous membrane showed total wound healing on day 5 while control rabbits fully recovered on day 14. Based on the results, this PVA/gelatin/topical antibiotics nanomembrane has the potential to be used as a dressing for the infectious wound.*

Keywords: nanofibrous membrane, wound dressing, gelatin, topical antibiotics, in vivo studies

PENDAHULUAN

Kulit adalah organ terluar tubuh yang rentan terhadap paparan luka seperti luka terbakar, luka kronis, trauma, kontak dengan bahan kimia maupun paparan bahan berbahaya lainnya.^{1,2} Kulit memiliki kemampuan meregenerasi diri namun pada kasus

cedera parah ataupun luka dalam, proses penyembuhan dapat terhambat. Selama proses penyembuhan, area luka harus dijaga kelembabannya, tanpa adanya akumulasi cairan luka (eksudat) di antara luka dan penutup luka supaya tidak terjadi infeksi akibat invasi bakteri.^{1,3} Metode

perawatan luka kronis umumnya menggunakan salep topikal berbentuk gel atau krim dengan kandungan obat paling tinggi sebanyak 5%. Metode ini selain menyebabkan lingkungan luka mudah mengering, juga membutuhkan proses pembersihan, monitoring dan aplikasi berkala pada luka sehingga kurang efektif dan akan menyakitkan jika dilakukan pada pasien dengan luka kronis, seperti pada penderita luka akibat diabetes atau borok vena (*venous ulcers*).^{4,5}

Beberapa penelitian menyatakan bahwa membran serat nano hasil *electrospinning* dari campuran polimer alam dan sintetik dapat dijadikan sebagai alternatif perawatan luka, terutama untuk luka-luka kronis.^{1-3,6-9} Struktur membran serat nano dari campuran polimer ini dianggap ideal, memiliki porositas tinggi namun bersifat sebagai penghambat yang baik. Polimer alam maupun sintetik pada dasarnya dapat dibuat menjadi membran serat nano secara mandiri (tunggal), namun gabungan keduanya memberikan peningkatan terhadap kualitas dan sifat membran. Polimer sintetik mudah didapatkan dan konsistensi kualitasnya cukup baik, namun permeabilitas, daya absorpsi dan adhesinya rendah sehingga hanya cocok untuk digunakan pada luka superfisial (luka stadium I yang hanya terjadi pada lapisan epidermis kulit).¹⁰ Polimer alam seperti alginat, kolagen, keratin, sutera dan gelatin bersifat biokompatibel, *biodegradable* serta memiliki kapasitas untuk memperbaiki dan meregenerasi jaringan kulit yang rusak, sehingga penggunaannya untuk rekayasa jaringan kulit semakin populer. Kelemahan dari polimer alam ini adalah sifatnya yang rentan terhadap kontaminasi mikroba.¹¹ Upaya mencampur kedua jenis polimer tersebut untuk produk pembalut luka bertujuan untuk memperpanjang masa degradasi hingga waktu penyembuhan luka selesai, meningkatkan sifat mekanik, sekaligus mempertahankan kemampuan permeabilitas uap air dan gas pada produk.^{4,12}

Pada penelitian ini digunakan pembalut luka membran serat nano yang terbuat dari polivinil alkohol dan gelatin dengan penambahan antibiotika topikal jenis Bacitracin dan Neomycin.¹³ Polivinil alkohol (PVA) merupakan polimer sintetik yang larut dalam air, murah dan mudah didapatkan, memiliki stabilitas mekanik yang baik namun sifat adhesi selnya buruk karena afinitasnya yang rendah terhadap protein.¹⁴ Gelatin adalah senyawa turunan kolagen yang merupakan tiruan alami matriks ekstraseluler pada jaringan dan organ manusia. Sifat gelatin yang biokompatibel, *biodegradable*, non-imunogenik, sel-interaktif dan mudah didapat secara komersial menjadikannya mulai digunakan secara luas untuk regenerasi jaringan. Gelatin merupakan polimer polielektrolit yang memiliki sejumlah senyawa terionisasi dan bersifat larut dalam air. Ikatan hidrogen yang kuat membentuk jaringan makromolekul 3 dimensi yang menyebabkan mobilitas rantai molekul gelatin berkurang drastis,

dengan demikian *electrospinnability* gelatin menjadi sangat rendah.³ Untuk meningkatkan sifat mekanik dan stabilitasnya, gelatin memerlukan proses pengikatan silang agar perancah (*scaffold*) gelatin tidak mudah larut dalam lingkungan biologis.¹⁵ Keberadaan PVA sebagai campuran gelatin dapat meningkatkan *electrospinnability* dan kekuatan mekanik dari membran, namun dengan tetap mempertahankan sifat adhesi sel yang baik dan menjaga kelembaban pada luka karena sifat hidrofiliknya.^{1,3}

Penggunaan antibiotika pada membran serat nano dapat membantu mempercepat proses penyembuhan luka.^{6,16-21} Pada penelitian ini digunakan antibiotika topikal Bacitracin dan Neomycin untuk meningkatkan kemanjuran membran serat nano PVA/gelatin dalam penyembuhan luka. Bacitracin adalah sejenis antibiotika polipeptida yang dihasilkan oleh bakteri *Bacillus subtilis*. Polipeptida pada Bacitracin dapat menghambat sintesis dinding sel berbagai jenis bakteri gram positif. Bacitracin pertama kali ditemukan tahun 1943 dan menjadi populer digunakan pada berbagai produk topikal baik secara tunggal maupun dikombinasikan dengan antibiotika lain, termasuk Neomycin. Bacitracin relatif aman digunakan karena termasuk obat dengan sensitivitas rendah sehingga jarang menimbulkan reaksi alergi.²² Neomycin adalah antibiotika jenis aminoglikosida. Neomycin banyak digunakan untuk mengatasi infeksi akibat bakteri gram positif seperti *Staphylococcus*. Selain efektif pada beberapa jenis bakteri gram positif, Neomycin juga memiliki aktivitas *in vitro* terhadap bakteri-bakteri gram negatif dari jenis *Enterobacter*, *E. coli*, *H. influenzae*, *Proteus* dan *Serratia*.²³ Neomycin tidak efektif terhadap bakteri jenis *Streptococcus* dan mayoritas bakteri anaerob lainnya.²⁴ Selain memiliki aktivitas antibakteri yang efektif, kedua jenis antibiotika ini juga kompatibel saat digunakan pada proses *electrospinning* PVA dan gelatin.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efikasi membran serat nano PVA/gelatin/antibiotika topikal sebagai pembalut luka dalam mempercepat penyembuhan luka terinfeksi. Pembuktian terhadap hal tersebut dilakukan melalui uji secara *in vitro* dan *in vivo* pada hewan baku galur tertentu. Selain untuk mengetahui khasiat dari membran serat nano PVA/gelatin/antibiotika topikal, diharapkan pula diperoleh informasi mengenai sensitivitas, iritabilitas atau toksisitas calon obat (membran serat nano) terhadap reseptor. Informasi ini dapat diketahui melalui percobaan menggunakan hewan uji sebagai model yang dirancang pada serangkaian uji bergantung pada tujuan penggunaan obat dan kemungkinan terjadinya bahaya atau risiko akibat paparannya pada manusia.²⁵

METODE

Bahan

- Pembalut luka yang digunakan pada penelitian ini merupakan membran serat nano hasil penelitian terdahulu.¹³ Membran serat nano dari proses *electrospinning* berbahan Polivinil alkohol 10% (w/w) dan gelatin 5% (w/w) dengan tambahan antibiotika topikal Bacitracin sebanyak 400 IU per gram sediaan dan Neomycin sebanyak 5 mg per gram sediaan. Rasio komposisi berat campuran PVA dan gelatin adalah 70 : 30.
- Sediaan bakteri gram negatif *E. coli* dan bakteri gram positif *S. aureus*.
- Hewan baku dari jenis kelinci albino jantan sehat sebanyak 6 ekor, bobot minimum 1800 gram dengan variasi bobot tidak lebih dari 20% dan rentang usia 8 – 9 bulan.²⁵

Peralatan

Antistatic Ionizer labForce® untuk proses sterilisasi, peralatan gelas lengkap, neraca analitis *Sartorius*, peralatan uji aktivitas antibakteri, *Laminar Airflow Sterilaire* (ruang kerja untuk melakukan tindakan pendedahan pada kelinci) serta kandang *restainer* untuk kelinci.

Uji aktivitas antibakteri secara *in vitro*

Aktivitas antibakteri membran serat nano secara *in vitro* dinilai menggunakan metode uji AATCC Test Method 147-2004 *Antibacterial Activity Assessment of Textile Materials: Parallel Streak Method*.²⁶ Pada penelitian ini, bakteri yang digunakan adalah *E. coli* untuk spesies bakteri gram negatif dan *S. aureus* untuk spesies bakteri gram positif. Prinsip ujinya adalah spesimen uji (membran serat nano) ditempatkan pada cawan berisi *nutrient agar* yang telah dilapisi inokulum bakteri. Setelah masa inkubasi, daerah bening yang terbentuk di sekeliling sisi spesimen uji mengindikasikan aktivitas antibakteri spesimen tersebut. Tingkat kekuatan antibakteri dapat dilihat pada Tabel 1. Lebar rata-rata zona hambat di sekeliling spesimen dihitung dengan persamaan 1 berikut ini:

$$W = (T - D) / 2 \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan:

W = lebar daerah bening yang merupakan zona hambat (dalam mm)

T = total diameter spesimen uji dan daerah bening (dalam mm)

D = diameter spesimen uji (dalam mm)

Tabel 1. Tingkat Kekuatan Antibakteri²⁷

Diameter Zona Bening	Resistensi Mikroba
> 20 mm	Sangat sensitif
10 – 20 mm	Sensitif
5 – 10 mm	Kurang sensitif
< 5 mm	Resisten

Uji efikasi membran secara *in vivo*

Pengujian ini dilakukan oleh tenaga ahli dari Kelompok Keahlian Farmakologi – Farmasi Klinik – Institut Teknologi Bandung mulai dari proses persiapan hingga pengamatannya dalam lingkungan yang terkontrol. Prosedur pelaksanaan uji adalah sebagai berikut:

- Pengujian ini menggunakan 6 ekor kelinci albino jantan sehat (3 ekor/kelompok dosis bakteri) yang dikondisikan dalam temperatur (24 ± 2)°C dengan kelembaban relatif 70 – 80% pada ruang pemeliharaan hewan. Ruang pemeliharaan dikondisikan pencahayaannya untuk 12 jam terang dan 12 jam gelap serta bebas dari kebisingan. Proses aklimatisasi hewan uji di ruang pemeliharaan dilakukan selama kurang lebih 5 hari dan hewan ditempatkan pada kandang individual (1 kandang untuk 1 ekor). Kelinci diberi pakan konvensional dan air minum sesuai standar laboratorium secara *ad libitum* (tidak dibatasi).
- Sekurang-kurangnya 24 jam sebelum pengujian, kelinci percobaan dicukur rambutnya pada daerah punggung seluas kurang lebih 10 x 15 cm atau tidak kurang 10% dari permukaan tubuh untuk tempat pemaparan spesimen uji. Pencukuran dimulai dari area tulang belikat (bahu) sampai dengan tulang pangkal paha (tulang pinggang) dan setengah ke bawah badan pada tiap sisi. Pendedahan (melukai kulit dengan cara digores menggunakan *syringe* 5 ml) dilakukan sesuai dengan standar yang berlaku dan dilaksanakan dalam ruangan steril (*Laminar Airflow*).^{28,29} Pendedahan dilakukan dengan menggores punggung kiri dan kanan kelinci masing-masing 3 goresan sepanjang 2 cm. Punggung kanan digunakan untuk menempelkan spesimen uji berukuran 2 x 3 cm, sedangkan punggung kiri digunakan sebagai spesimen kontrol.
- Pada tiga ekor kelinci pertama, bagian punggung kiri dan kanannya disuntikkan bakteri *E. coli* 0,1 ml dengan tingkat kekeruhan 25%T. Perlakuan yang sama juga pada punggung kiri dan kanan 3 ekor kelinci lain yang disuntikkan bakteri *S. aureus* 0,1 ml dengan tingkat kekeruhan 25%T. Tiga titik yang telah diinfeksi bakteri pada bagian punggung kanan diobati dengan spesimen uji (membran serat nano PVA/gelatin/antibiotika topikal) dan tiga titik pada bagian kiri adalah sebagai spesimen kontrol (tidak diobati). Tiga titik pada bagian punggung kanan yang diinfeksi bakteri dan ditutupi spesimen uji kemudian ditutupi kain kasa dan plester agar spesimen uji tidak terlepas dari kulit reseptor. Selanjutnya seluruh badan kelinci dibungkus dengan kain pembalut.
- Pengamatan awal dilakukan pada 3 titik tempelan punggung kanan 1 kelinci yang diinfeksi oleh

masing-masing jenis bakteri. Setelah dibuat 3 tempelan spesimen untuk 3 pemaparan, tempelan pertama dibuka setelah 3 menit, jika tidak ada reaksi kulit yang serius akibat iritasi oleh spesimen uji maka tempelan kedua dibuka setelah 1 jam, dan jika tidak ada iritasi parah yang terjadi maka tempelan ketiga dibuka pada jam ke 4. Jika tidak tampak iritasi setelah paparan selama 4 jam maka pengujian dilanjutkan.

- Penilaian respon reseptor terhadap khasiat maupun toksisitas spesimen uji kemudian dilakukan pada jam ke 24 (hari ke-1), 48 (hari ke-2), 72 (hari ke-3) dan dapat dilanjutkan hingga hari ke-14. Pada saat proses penilaian, kain pembalut dibuka dan spesimen uji diangkat dari

kulit reseptor untuk dilakukan pengamatan terhadap adanya eritema (ruam merah), edema (pembengkakan) atau timbulnya nanah dan *eschar* (luka parut/goresan). Setelah pengamatan, spesimen uji ditempelkan kembali dan tubuh reseptor dibungkus kembali dengan kain pembalut. Prosedur pengamatan ini diulangi setiap hari hingga batas waktu yang ditentukan atau reseptor dinyatakan sembuh. Jalannya prosedur uji praklinik dapat dilihat pada Gambar 2. Penilaian reaksi reseptor terhadap spesimen uji berdasarkan pada pedoman OECD [Organisation for Economic Co-operation and Development] disajikan pada Tabel 2.^{25,30}



Reseptor kelinci albino jantan yang telah dicukur rambutnya



Proses pendedahan punggung kelinci dan penyuntikan bakteri pada luka hasil pendedahan



Punggung kelinci yang telah diinfeksi oleh bakteri



Punggung kanan kelinci ditemplei spesimen uji membran serat nano dan ditutupi kain kasa



Pemasangan plester pada bagian luka yang telah ditemplei oleh spesimen uji membran serat nano



Tubuh kelinci dibungkus oleh kain pembalut



Kelinci ditempatkan di dalam *restrainer* untuk mengondisikan pergerakannya



Pelepasan kain pembalut dan kasa untuk persiapan pengamatan reaksi kulit



Pengamatan reaksi kulit yang telah diinfeksi bakteri pada reseptor dan pengaruh spesimen uji terhadap luka yang terbentuk

Gambar 2. Prosedur uji praklinik membran serat nano pada kelinci albino jantan

Tabel 2. Penilaian reaksi pada kulit^{25,30}

PEMBENTUKAN ERITEMA	SKOR
Tidak ada eritema.....	0
Eritema yang sangat kecil (hampir tidak dapat dibedakan).....	1
Eritema terlihat jelas.....	2
Eritema sedang sampai parah.....	3
Eritema parah (merah daging) sampai pembentukan <i>eschar</i> yang menghambat penilaian eritema.....	4
PEMBENTUKAN EDEMA	SKOR
Tidak ada edema.....	0
Edema sangat kecil (hampir tidak dapat dibedakan).....	1
Edema kecil (batas area terlihat jelas).....	2
Edema tingkat menengah (luasnya bertambah sekitar 1 mm).....	3
Edema parah (luas bertambah lebih dari 1 mm dan melebar melebihi area pemaparan oleh sediaan uji).....	4

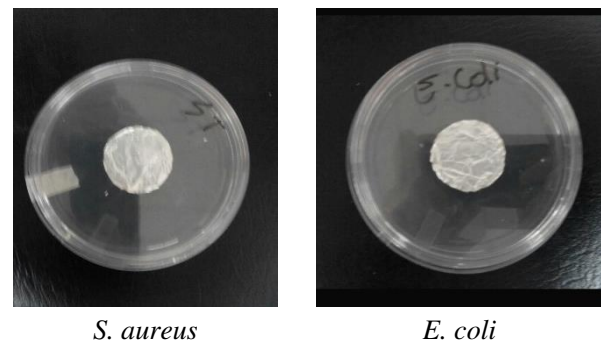
HASIL DAN PEMBAHASAN

Efikasi membran serat nano PVA/gelatin/ antibiotika topikal terhadap penyembuhan luka terinfeksi dinilai secara *in vitro* dan *in vivo*. Pada pengujian secara *in vitro*, aktivitas antibakteri membran diuji menggunakan metode difusi agar dengan 2 jenis bakteri patogen yaitu *E. coli* (bakteri gram negatif) dan *S. aureus* (bakteri gram positif).²⁶ Pemilihan jenis patogen didasari oleh banyaknya bakteri tersebut berada di sekeliling lingkungan dan merupakan bakteri yang umum menyebabkan berbagai penyakit, seperti infeksi pada jaringan kulit.^{27,31} Munculnya zona hambat/daerah bening di sekeliling spesimen uji mengindikasikan sensitivitas mikroorganisme terhadap spesimen uji tersebut. Dengan membandingkan diameter dari zona bening dengan standar, maka dapat ditentukan jenis mikroorganisme yang rentan atau resisten.²⁷

Hasil uji aktivitas antibakteri membran serat nano terhadap kedua jenis patogen (Gambar 2) memperlihatkan bahwa bakteri tidak tumbuh baik pada produk maupun pada seluruh lingkungan cawan petri. Daerah bening pun teramati > 20 mm, sehingga spesimen dinilai memiliki resistensi terhadap mikroorganisme yang sangat sensitif (Tabel 1). Aktivitas atau daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri ini kemungkinan dihasilkan oleh sinergi kerja antara Bacitracin dan Neomycin yang terkandung dalam membran serat nano.

Bacitracin diketahui memiliki aktivitas yang baik terhadap bakteri gram positif, termasuk pada bakteri yang digunakan pada penelitian ini yaitu *S. aureus*. Kandungan cincin thiazoline dan rantai peptide pada Bacitracin akan membentuk senyawa kompleks dengan komponen dinding sel bakteri yaitu C55-isofrenilpirofosfat.^{23,32} Molekul C55 pada bakteri inilah yang berperan sebagai pembawa/*carrier* dalam proses transfer polisakarida, peptidoglikan dan lipopolisakarida untuk pertumbuhan dinding sel. Terbentuknya senyawa

kompleks ini kemudian akan menghambat pembentukan dinding sel bakteri sehingga bakteri tidak dapat melakukan replikasi dan akhirnya mati. Kinerja Bacitracin pada membran serat nano dinilai cukup baik jika dilihat dari tidak terbentuknya koloni bakteri pada lingkungan cawan petri yang berisi bakteri *S. aureus*.

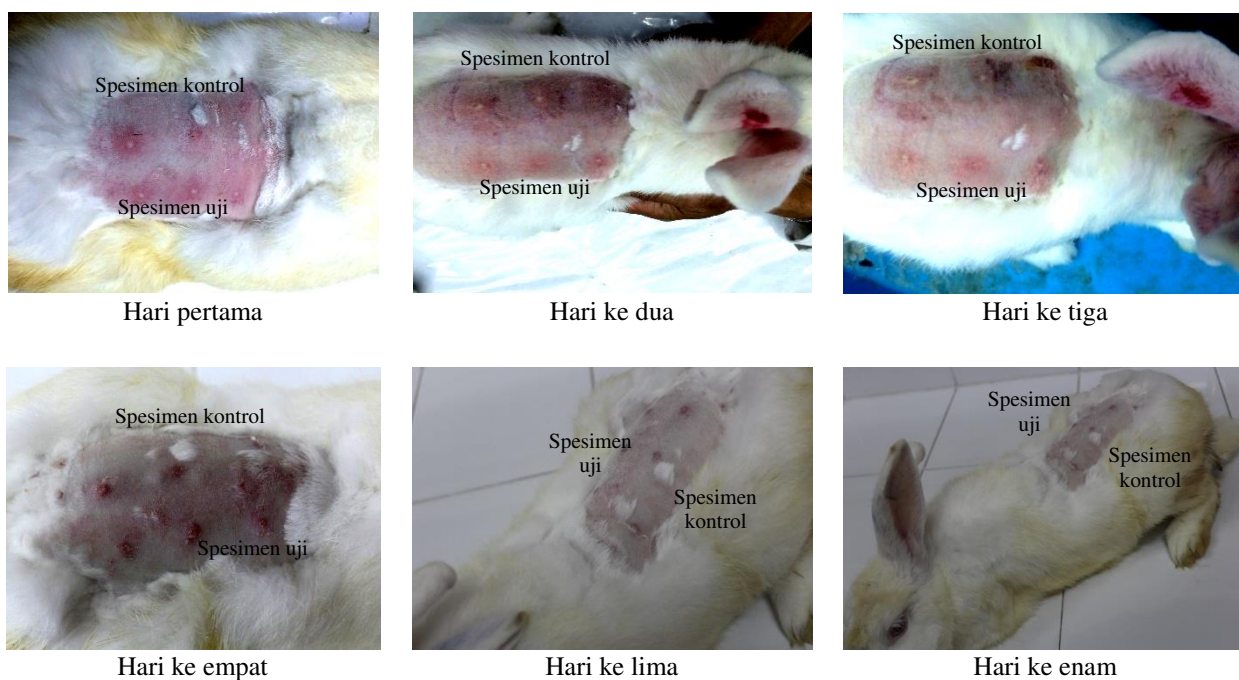


Gambar 2. Hasil uji aktivitas antibakteri membran PVA/ gelatin / antibiotika topikal (metode difusi agar)

Neomycin pada membran serat nano juga menunjukkan kinerja yang baik dalam menghambat aktivitas bakteri *E. coli*. Tampak pada Gambar 2, tidak terbentuk koloni bakteri *E. coli* pada lingkungan cawan petri berisi membran serat nano. Mekanisme hambatan yang dilakukan oleh Neomycin terhadap pertumbuhan bakteri adalah Neomycin secara aktif diangkut ke dalam sel bakteri di mana Neomycin akan mengikat reseptor yang ada pada sub unit ribosom 30 S. Pengikatan ini mengganggu kompleks inisiasi antara *messenger* RNA (mRNA) dan sub unit. Hal ini mengakibatkan terbentuknya protein abnormal dan nonfungsional karena kesalahan pembacaan kode genetik DNA bakteri. Bakteri kemudian menjadi rentan mati karena kekurangan protein fungsional.^{23,33,34}

Tabel 3. Pengamatan kondisi kulit kelinci yang diinfeksi bakteri *E. coli*

Hari	Punggung kanan (ditempeli spesimen uji membran serat nano/antibiotika topikal)			Punggung kiri (tidak ditempeli spesimen uji)		
	Eritema	Nanah	Edema	Eritema	Nanah	Edema
1	+++	+++	+++	+++	+++	+++
2	+++	+++	+++	+++	+++	+++
3	++	++	++	+++	+++	+++
4	+	+	+	+++	+++	+++
5	—	—	—	++	++	++
6	—	—	—	—	—	++

**Gambar 3.** Kondisi kulit reseptor kelinci yang diinfeksi oleh bakteri *E. coli* (bagian kanan diberi perlakuan dengan spesimen uji; bagian kiri tidak diberi perlakuan/spesimen kontrol)

Pengujian ikatan obat membran PVA/gelatin/antibiotika topikal dilakukan secara *in vivo* terhadap reseptor kelinci albino jantan sehat pada lingkungan yang terkontrol. Sebelum digunakan, membran serat nano disterilisasi pada alat *Ionizer*. Sebelum dilakukan pengamatan pengaruh spesimen uji terhadap proses penyembuhan luka, terlebih dahulu dilakukan pengamatan reaksi kulit terhadap kandungan zat pada spesimen uji. Pada ketiga tahapan pengamatan tersebut (pembukaan tempelan ke-1, ke-2, dan ke-3) tidak ditemukan adanya indikasi terjadi iritasi pada kulit reseptor kelinci albino. Dengan demikian, spesimen uji diduga tidak bersifat mengiritasi sehingga pengujian dapat dilakukan hingga batas waktu yang telah ditentukan.

Tiga ekor reseptor kelinci albino jantan yang telah diinfeksi oleh sediaan bakteri gram negatif *E. coli* 0,1 ml (25% T) dan tiga ekor lainnya diinfeksi oleh sediaan bakteri gram positif *S. aureus*, diamati kondisi kulitnya (diberi spesimen uji dan

tidak/spesimen kontrol) berdasarkan 3 indikator yaitu terjadinya eritema (ruam merah), edema (pembengkakan) dan nanah. Hasil uji untuk reseptor kelinci yang diinfeksi oleh bakteri *E. coli* dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 3, sedangkan hasil uji untuk reseptor kelinci yang diinfeksi oleh bakteri *S. aureus* dapat dilihat pada Tabel 4 dan Gambar 4.

Pada reseptor kelinci albino yang diinfeksi oleh bakteri *E. coli*, kedua bagian punggung kiri (tanpa spesimen uji) dan kanan (ditempeli spesimen uji) menunjukkan eritema, edema yang teraba seperti benjolan keras serta mengeluarkan cairan nanah hingga hari ke-2. Hari ke-3 dan ke-4, kondisi kulit reseptor kelinci yang diobati oleh spesimen uji membran serat nano menunjukkan kemajuan perbaikan yang ditandai dengan berkurangnya eritema, edema yang mulai mengempis dan berkurangnya nanah secara signifikan. Pada hari ke-5, punggung kanan 3 ekor reseptor kelinci yang diberi spesimen uji telah menunjukkan tanda-tanda kesembuhan dari infeksi meskipun masih tersisa

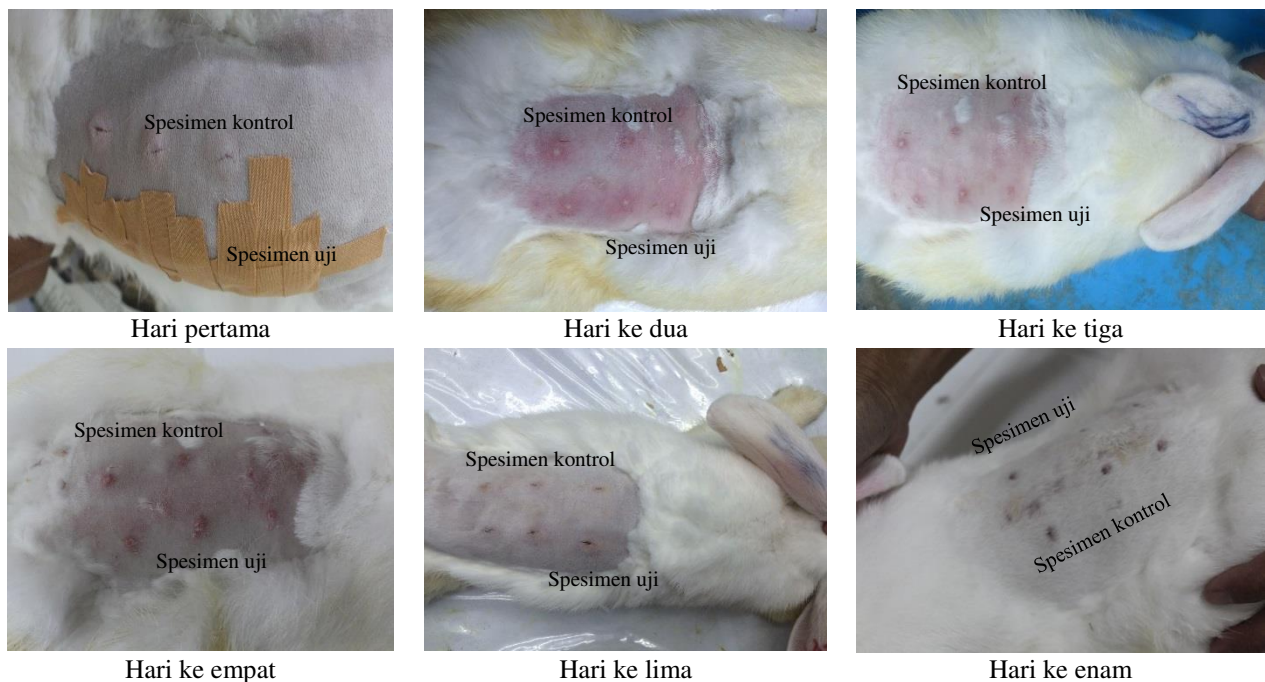
jaringan parut yang telah mengering (kulit belum rata seperti sebelumnya). Pada punggung kiri 3 ekor reseptor kelinci (spesimen kontrol), eritema, edema dan nanah masih dialami hingga hari ke-5 meskipun telah terjadi penurunan tingkat keparahan menjadi nilai 2 berdasarkan Skor OECD. Pada hari ke-6 punggung kiri ketiga kelinci tersebut mulai menunjukkan tanda-tanda kesembuhan. Hal ini terlihat dari tidak adanya eritema maupun nanah yang dikeluarkan, meskipun masih mengalami edema ringan dengan tepian edema yang terlihat menebal. Penyembuhan total punggung kiri kelinci albino (spesimen kontrol) terjadi setelah 14 hari namun meninggalkan luka bekas infeksi berupa jaringan parut/*eschar* yang cukup kentara.

Pada reseptor kelinci yang diinfeksi oleh bakteri *S. aureus*, kedua bagian punggung kiri (tanpa spesimen uji) dan kanan (ditempeli spesimen uji) menunjukkan eritema, edema yang teraba seperti benjolan keras serta mengeluarkan cairan nanah

hingga hari ke-2. Kemajuan yang sangat signifikan terjadi pada hari ke-4 dimana kelinci yang diberi perlakuan dengan spesimen uji hanya mengalami eritema ringan tanpa adanya edema maupun keluar nanah dari luka. Pada hari ke-5, kelinci yang diobati telah menunjukkan kesembuhan total dengan bekas luka berupa jaringan parut yang sangat minim. Pada punggung kiri 3 ekor reseptor kelinci (spesimen kontrol), eritema, edema dan nanah masih dialami hingga hari ke-5 meskipun telah terjadi penurunan tingkat keparahan menjadi nilai 2 berdasarkan Skor OECD. Pada hari ke-6 punggung kiri kelinci albino tersebut mulai menunjukkan tanda-tanda kesembuhan. Hal ini terlihat dari tidak adanya eritema maupun nanah yang dikeluarkan dan hanya mengalami edema yang sangat ringan. Penyembuhan total kelinci spesimen kontrol terjadi setelah 14 hari dengan jaringan parut bekas luka yang lebih ringan dibandingkan dengan reseptor kelinci yang diinfeksi oleh bakteri *E. coli*.

Tabel 4. Pengamatan kondisi kulit kelinci yang diinfeksi bakteri *S. aureus*

Hari	Punggung kanan (ditempeli spesimen uji membran serat nano/antibiotika topikal)			Punggung kiri (tidak ditempeli spesimen uji)		
	Eritema	Nanah	Edema	Eritema	Nanah	Edema
1	+++	+++	+++	+++	+++	+++
2	+++	+++	+++	+++	+++	+++
3	++	+	++	+++	+++	+++
4	+	—	—	+++	+++	+++
5	—	—	—	++	++	++
6	—	—	—	—	—	+



Gambar 4. Kondisi kulit reseptor kelinci yang diinfeksi oleh bakteri *S. aureus* (bagian kanan diberi perlakuan dengan spesimen uji; bagian kiri tidak diberi perlakuan/spesimen kontrol)

Dengan membandingkan kondisi punggung kiri dan punggung kanan reseptor kelinci yang diinfeksi oleh bakteri *E. coli* dan *S. aureus*, terlihat bahwa punggung kanan yang diberi perlakuan dengan spesimen uji mengalami kemajuan penyembuhan luka yang lebih cepat dibandingkan luka pada punggung kiri (spesimen kontrol). Punggung kanan seluruh reseptor kelinci albino pun memiliki bekas luka jaringan parut/*eschar* yang jauh lebih ringan dibandingkan bekas luka pada punggung kiri.

Punggung kanan seluruh reseptor kelinci albino yang diberi perlakuan dengan specimen uji telah menunjukkan kesembuhan total pada hari ke-5, sedangkan punggung kelinci bagian kiri baru terlihat perbaikan setelah proses berlangsung lebih dari 6 hari dan sembuh total pada hari ke-14. Membran PVA/gelatin/antibiotika topikal dinilai telah mampu mempercepat proses penyembuhan luka. Pada luka kronis, luka banyak mengeluarkan cairan berupa albumin dan enzim elastase yang merusak protein dan menyebabkan peradangan dan kerusakan jaringan sel. Gelatin diketahui dapat mendorong pertumbuhan jaringan baru dan mengurangi peradangan.³⁶ Hal ini kemungkinan tidak terlepas dari kinerja antibiotika topikal yang digunakan. Antibiotika topikal Bacitracin dan Neomycin berperan dalam mencegah berkembangnya infeksi pada reseptor kelinci melalui mekanisme yang serupa seperti pada uji aktivitas antibakteri secara *in vitro*. Pada kasus dimana punggung kanan reseptor kelinci yang diinfeksi oleh *S. aureus* menunjukkan kesembuhan yang lebih cepat, hal ini kemungkinan oleh aktivitas yang dimiliki Bacitracin dan Neomycin terhadap bakteri jenis gram positif *S. aureus*, sedangkan untuk bakteri jenis gram negatif *E. coli* hanya Neomycin yang memiliki aktivitas antibakteri, sehingga dapat dipahami bahwa membran serat nano ini lebih efektif bekerja pada bagian punggung reseptor kelinci yang diinfeksi bakteri *S. aureus*.

Luka yang dialami oleh reseptor kelinci adalah jenis luka terbuka yang terinfeksi oleh mikroorganisme. Proses penyembuhan luka jenis ini membutuhkan waktu dan keseimbangan aktivitas antara peradangan, jaringan ikat, sel epitel dan mediatornya. Oleh karena itu, sangat penting untuk menciptakan lingkungan yang kondusif bagi penyembuhan luka, merawat penyebab luka dan memperbaiki kelainan-kelainan yang timbul kemudian.³⁵ Penggunaan serat nano untuk pembalut luka dapat membantu dalam menghantarkan berbagai obat atau zat biologi ke dalam jaringan luka. Selain memberikan perlindungan fisik terhadap luka, serat nano ini memiliki kapasitas untuk diisi oleh obat dalam jumlah yang cukup besar (hingga mencapai 40%).⁴ Penggunaan pembalut luka dari jenis membran serat nano PVA/gelatin/antibiotika topikal ini didasari oleh kebutuhan terhadap

pembalut luka modern, yang tidak hanya berfungsi sebagai pelindung luka, namun juga menciptakan kondisi lingkungan yang tetap lembab agar luka lebih cepat sembuh dan juga dapat merangsang penyembuhan luka. Luka terbuka yang rentan terekspos udara, akan mengalami dehidrasi dan menjadi borok atau jaringan parut. Borok/parut yang terbentuk akan menciptakan suatu penghalang mekanik untuk sel-sel epidermis yang bermigrasi, sehingga sel-sel tersebut dipaksa pindah ke jaringan yang lebih dalam, hal ini kemudian akan memperpanjang proses penyembuhan. PVA/gelatin secara alami bersifat hidrofilik yang dapat menciptakan lingkungan lembab sehingga borok dapat dicegah karena pembalut luka dapat menyerap eksudat/cairan yang dikeluarkan oleh luka.^{1,37}

KESIMPULAN

Penilaian aktivitas antibakteri dan uji efikasi secara *in vivo* pada membran serat nano PVA/gelatin/antibiotika topikal telah berhasil dilakukan. Membran serat nano memiliki aktivitas antibakteri yang baik terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dengan memberikan zona hambat >20 mm pada uji aktivitas antibakteri secara *parallel streak*. Membran serat nano juga terbukti dapat mempercepat proses penyembuhan luka reseptor kelinci albino jantan yang diinfeksi menggunakan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Bagian punggung reseptor kelinci albino yang diberi perlakuan dengan membran serat nano berhasil sembuh total dalam jangka waktu 6 hari sedangkan yang tidak diberi perlakuan menunjukkan kesembuhan total setelah 14 hari. Selain itu, jaringan parut bekas luka infeksi pada punggung reseptor kelinci yang diobati lebih minim jika dibandingkan dengan yang tidak diobati. Aplikasi membran serat nano pada punggung reseptor kelinci pun tidak mengakibatkan iritasi pada kulit. Dengan demikian, membran serat nano PVA/gelatin/antibiotika topikal ini berpotensi untuk dikembangkan menjadi pembalut untuk luka terinfeksi dan sebagai media penyampaian obat topikal yang cukup efektif.

PUSTAKA

1. Ahlawat, J., Kumar, V. & Gopinath, P. Carica papaya loaded poly (vinyl alcohol)-gelatin nanofibrous scaffold for potential application in wound dressing. *Materials Science and Engineering. C* **103**, 109834 (2019).
2. Bakhsheshi-Rad, H. R. *et al.* Antibacterial activity and *in vivo* wound healing evaluation of polycaprolactone-gelatin methacryloyl-cephalexin electrospun nanofibrous. *Materials Letters*. **256**, 126618 (2019).
3. Gu, S. Y., Wang, Z. M., Ren, J. & Zhang, C. Y. Electrospinning of gelatin and gelatin/poly(l-lactide) blend and its characteristics for wound

- dressings. *Materials Science and Engineering. C* **29**, 1822–1828 (2009).

4. Gizaw, M. *et al.* Electrospun fibers as a dressing material for drug and biological agent delivery in wound healing applications. *Bioengineering* **5**, 1–28 (2018).

5. Sidgwick, G. P., McGeorge, D. & Bayat, A. A comprehensive evidence-based review on the role of topicals and dressings in the management of skin scarring. *Archives of Dermatology Research*. **307**, 461–477 (2015).

6. Amler, E. *et al.* Functionalized nanofibers as drug-delivery systems for osteochondral regeneration. *Nanomedicine* **9**, 1083–1094 (2014).

7. İnal2019-Production and characterization of bactericidal wound dressing material based on gelatin nanofiber.pdf.

8. Chong, E. J. *et al.* Evaluation of electrospun PCL/gelatin nanofibrous scaffold for wound healing and layered dermal reconstitution. *Acta Biomaterial*. **3**, 321–330 (2007).

9. Liu, Y., Zhou, S., Gao, Y. & Zhai, Y. Electrospun nanofibers as a wound dressing for treating diabetic foot ulcer. *Asian Journal Pharmaceutical Science*. **14**, 130–143 (2019).

10. Kamoun, E. A., Kenawy, E. R. S. & Chen, X. A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings. *Journal of Advanced Research*. **8**, 217–233 (2017).

11. Mir, M. *et al.* Synthetic polymeric biomaterials for wound healing: a review. *Progress of Biomaterials*. **7**, 1–21 (2018).

12. Gaspar-Pintiliescu, A., Stanciuc, A. M. & Craciunescu, O. Natural composite dressings based on collagen, gelatin and plant bioactive compounds for wound healing: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. **138**, 854–865 (2019).

13. Mutia, T., Novarini, E. & Gustiani, Srie, R. Preparasi dan Karakterisasi Membran Serat Nano Polivinil Alkohol/Gelatin Dengan Antibiotika Topikal Menggunakan Metode Electrospinning. *Arena Tekstil*. (2020).

14. Huang, C. Y., Hu, K. H. & Wei, Z. H. Comparison of cell behavior on pva/pva-gelatin electrospun nanofibers with random and aligned configuration. *Scientific Reports*. **6**, (2016).

15. Dias, J. R. *et al.* In situ crosslinked electrospun gelatin nanofibers for skin regeneration. *European Polymer Journal*. **95**, 161–173 (2017).

(2017).

16. Legnoverde, M. S. & Basaldella, E. I. Influence of particle size on the adsorption and release of cephalexin encapsulated in mesoporous silica SBA-15. *Materials Letters*. **181**, 331–334 (2016).

17. Talebian, A. & Mansourian, A. Release of Vancomycin from electrospun gelatin/chitosan nanofibers. *Materials Today: Proceedings*. **4**, 7065–7069 (2017).

18. Huang, C. H. *et al.* Evaluation of proanthocyanidin-crosslinked electrospun gelatin nanofibers for drug delivering system. *Materials Science and Engineering. C* **32**, 2476–2483 (2012).

19. Morsy, R., Hosny, M., Reicha, F. & Elnimr, T. Developing a potential antibacterial long-term degradable electrospun gelatin-based composites mats for wound dressing applications. *Reactive Functional Polymer*. **114**, 8–12 (2017).

20. Nitanan, T., Akkaramongkolporn, P., Rojanarata, T., Ngawhirunpat, T. & Opanasopit, P. Neomycin-loaded poly(styrene sulfonic acid-co-maleic acid) (PSSA-MA)/polyvinyl alcohol (PVA) ion exchange nanofibers for wound dressing materials. *International Journal of Pharmaceutics*. **448**, 71–78 (2013).

21. Boateng, J. & Catanzano, O. Advanced Therapeutic Dressings for Effective Wound Healing - A Review. *Journal of Pharmaceutical Science*. **104**, 3653–3680 (2015).

22. Bommarito, L., Mietta, S. & Cadario, G. Anaphylaxis after application of topical bacitracin-neomycin powder. *Ann. Allergy, Asthma Immunology*. **115**, 74–75 (2015).

23. O'Donnell, J. A., Gelone, S. P. & Safdar, A. *Topical Antibacterials. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases* vol. 1 (Elsevier Inc., 2014).

24. Chemistry, B. Neomycin. 1–5 (2007).

25. BPOM. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014. *Tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara Vivo* 66–68 (2014).

26. AATCC. AATCC Test Method 147-2004 Antibacterial Activity Assessment of Textile Materials: Parallel Streak Method. (2004).

27. Jawelz, M. *Mikrobiologi Kedokteran*. (EGC, 1995).

28. Anonymous. Informasi Spesialite Obat

- Indonesia. (2008).
29. Hayes, A. *Principles and Method of Toxicology*. (Raven Press Ltd, 1989).
 30. Organization for Economic Cooperation and Development, O. OECD 404 Guidelines for Testing of Chemicals – Acute Dermal Irritation/Corrosion. (2002).
 31. *Mikrobiologi Kedokteran*. (McGraw Hill, 2004).
 32. Hong, W., Gao, X. & Qiu, P. Corrigendum: Synthesis, construction, and evaluation of self-assembled nano-bacitracin a as an efficient antibacterial agent in vitro and in vivo (Int J Nanomedicine. 2017, 12, 4691-4708.). *Int. J. Nanomedicine* **15**, 4753 (2020).
 33. PDR. Prescriber Digital Reference. *Neomycin Sulfate - Drug Summary*.
 34. Blanchard, C. *et al*. Neomycin sulfate improves the antimicrobial activity of mupirocin-based antibacterial ointments. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **60**, 862–872 (2016).
 35. Rajendran, S. *Advanced textiles for wound care. Advanced Textiles for Wound Care* (2009). doi:10.1533/9781845696306.
 36. Mutia, T., Eriningsih, R. & Safitri, R. Serat Nano Gelatin/Polivinil Alkohol Untuk Keperluan Medis. *Jurnal Riset Industri*. Vol 7, 3, 191-203 (2013).
 37. Paul, W. & Sharma, C. P. *Advances in Wound Healing Materials : Science and Skin Engineering. A Smithers Group Company Shawbury*, (2015).
-