

Uji Penyembuhan Luka Bakar Gel Enzim Bromelin Menggunakan Carbopol 940 Secara *In Vivo*

Nur Ain Thomas¹, Muhammad Taupik², Endah Nurrohwiata Djuwarno³,
Ramadani Putri Papeo⁴, Nabila Novreini Djunaidi⁵

^{1,2,3,4,5} Jurusan Farmasi Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo,
Jl. Jenderal Sudirman No. 06 Kota Gorontalo 96128, Indonesia

* Penulis Korespondensi. Email: nurain.thomas@gmail.com

ABSTRAK

Bromelain adalah enzim proteolitik atau protease (proteolitik alami) yang ditemukan dalam jaringan termasuk batang, buah dan daun nanas (*Ananas comosus* var. *comosus*) dan spesies tumbuhan lain dari famili Bromeliaceae. Bromelain dikenal sebagai agen deb ridding yang efisien karena bermanfaat dalam perawatan luka bakar dan regenerasi jaringan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektifitas enzim bromelin untuk luka bakar pada kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). Penelitian ini diawali dengan optimasi sediaan basis carbopol 940 dengan variasi konsentrasi Formula 1 (F1) 0,5%, Formula 2 (F2) 1% dan Formula 3 (F3) 1,5%. Evaluasi sediaan gel meliputi uji organoleptik, uji homogenitas, uji pH, uji viskositas, uji daya lekat dan uji daya sebar. Hasil evaluasi menunjukkan bahwa konsentrasi basis pada Formula 1 (F1) 0,5% memenuhi syarat sediaan gel. Formula 1 (F1) 0,5% kemudian dikombinasikan dengan variasi konsentrasi bromelin yaitu Formula 1A (0,1%), Formula 1B (0,5%) dan Formula 1C (1%). Sediaan gel di evaluasi kembali meliputi uji organoleptik, uji homogenitas, uji pH, uji viskositas, uji daya lekat, uji daya sebar, uji iritasi dan uji *in vivo*. Pengujian efektivitas secara *in vivo* dan uji iritasi dilakukan pada 5 kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol positif (Bioplacenton®), Formula 1A (0,1%), Formula 1B (0,5%), Formula 1C (1%) dan kelompok tanpa perlakuan kemudian diamati selama 15 hari. Data pengamatan diolah menggunakan uji *One Way* ANOVA. Berdasarkan hasil penelitian, pada uji iritasi Formula 1A (0,1%), Formula 1B (0,5%) dan Formula 1C (1%) tidak menimbulkan iritasi pada kulit. Pada uji *in vivo* Formula 1C (1%) menunjukkan pemulihan yang paling cepat dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya, hal ini terlihat dari penurunan diameter luka dan pengamatan visual dimana luka sudah mulai tertutup sempurna pada pengamatan hari ke-15.

Kata Kunci:

Enzim Bromelin; Gel; Luka Bakar

Diterima:
16-02-2023

Disetujui:
17-04-2023

Online:
01-05-2023

ABSTRACT

Bromelain is a proteolytic enzyme or natural protease found in tissues, including the stem, fruit, and leaves of pineapple (*Ananas comosus* var. *comosus*) and other plant species of the Bromeliaceae family. Bromelain is known as an efficient deb ridding agent because it is beneficial in burn healing and tissue regeneration. This research aims to determine the effectiveness of bromelain enzyme for burns wounds in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). This research began with the optimization of carbopol 940 base preparations with variations in concentration, namely Formula 1 (F1) for 0,5%, Formula 2 (F2) for 1%, and Formula 3 (F3) for 1,5%. The evaluation of the gel formulation includes an organoleptic test, homogeneity test, pH test, viscosity test, adhesive force test, and spreadability test. The evaluation result indicates the base concentration in Formula 1 (F1) at 0,5% has met the requirements for a gel

preparation. Formula 1 (F1) for 0,5, then combined with varying concentration of bromelain, namely Formula 1A (0,1%), Formula 1B (0,5%), and Formula 1C (1%). The gel formulation wa re-evaluated, including an organoleptic test, homogeneity test, pH test, viscosity test, adhesion test, spreadability test, irritation test, and in vivo test. In vivo effectiveness testing and irritation testing were conducted on five treatment groups, namely a positive control group (Bioplacenton®), Formula 1A (0,1%), Formula 1B (0,5%), Formula 1C (1%), and a group without treatment, then observed for 15 days. The observation data were processed using the One Way ANOVA test. Based on the results of the irritation test, Formula 1A (0,1%). Formula 1B (0,5%) and Formula 1C (1%) did not cause skin irritation. In the in vivo test, Formula 1C (1%) indicated the fastest recovery compared to other treatment groups, as evidenced by the decrease in wound diameter and visual observation, where the wound had started to close completely on day 15 of observation.

Copyright © 2023 Jsscr. All rights reserved.

Keywords:

Enzyme Bromelain; Gel; Burn Wounds

Received:
2023-02-16

Accepted:
2023-04-17

Online:
2023-05-01

1. Pendahuluan

Luka bakar merupakan suatu kerusakan yang terjadi pada jaringan yang disebabkan oleh kontak seseorang dengan sumber yang panas, seperti air, api, bahan kimia, listrik dan radiasi yang disengaja ataupun tidak disengaja. Kerusakan jaringan akibat luka bakar dapat menyebabkan terjadinya berbagai macam perubahan secara molekuler, salah satunya adalah munculnya berbagai radikal bebas yang akan berpengaruh dalam proses penyembuhan. Perbedaan tingkat kerusakan jaringan yang terjadi akan memungkinkan munculnya bekas luka (*scar*) bahkan kecacatan, yang dapat mengganggu baik fungsi maupun dari segi kosmetik dan pada akhirnya dapat menurunkan kualitas hidup seseorang[1].

Tujuan pengobatan luka bakar adalah meningkatkan proses penyembuhan luka bakar termasuk proliferasi, granulasi, epitelisasi, dan kolagenasi. Salah satu penanganan luka bakar yang umum dilakukan adalah pengaplikasian sediaan topikal berupa gel. Gel merupakan sediaan dengan sistem semi padat yang terdiri dari suatu dispersi yang tersusun baik dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar dan saling diserapi cairan (Allen, 2002)[2]. Gel sangat ideal digunakan sebagai penutup luka karena terasa dingin di permukaan luka, menurunkan rasa sakit, dan meningkatkan penerimaan konsumen (Boateng *et al.*, 2008) [3].

Carbopol merupakan basis gel yang sering digunakan dalam sediaan gel, carbopol juga termasuk kedalam basis gel hidrofilik. Keuntungan gel hidrofilik adalah daya sebarinya pada kulit baik, efek dingin yang ditimbulkan akibat lambatnya penguapan air pada kulit, tidak menyumbat pori-pori kulit, mudah dicuci dengan air, dan memungkinkan pemakaian pada bagian tubuh yang berambut dan pelepasan obatnya baik (Voight, 1995) [4]. Selain itu, bahan carbopol 940 dipilih karena menurut Dirjen POM (1983) [5], tidak ditemui iritasi primer, sensitivitas, ataupun reaksi alergi pada pemakaian luar.

Pada penyembuhan luka bakar, bromelin dikenal sebagai agen debriding yang efisien dalam perawatan luka bakar dan regenerasi jaringan. Bromelin mengandung campuran berbagai endopeptidase tiol dan komponen lain seperti fosfatase, glukosidase, peroksidase, selulase, eskarase, dan beberapa penghambat

protease. Studi *in vitro* dan *in vivo* menunjukkan bahwa bromelin menunjukkan berbagai aktivitas fibrinolitik, antiedematous, antitrombotik, dan anti-inflamasi (Kwatra & Labs, 2019; Pavan *et al.*, 2012) [6][7].

Bromelain merupakan ekstrak herbal mentah nanas yang kaya akan papain dan sistein protease dengan aktivitas proteolitik tinggi dan stabilitas yang baik pada suhu tinggi. Bromelain digunakan dalam banyak aplikasi terapeutik, termasuk penghambatan agregasi trombosit, trauma bedah, meningkatkan penyerapan pengiriman obat, fibrinolitik, anti-inflamasi, antikanker, dan debridement penyembuhan luka (Bayat, 2021) [8].

Berdasarkan uraian di atas, diketahui bahwa enzim bromelin bermanfaat dalam membantu proses penyembuhan luka bakar. Maka dari itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas penyembuhan luka bakar menggunakan sediaan gel bromelin dengan carbopol 940 secara *in vivo* untuk mengetahui apakah terdapat efek penyembuhan luka bakar menggunakan zat aktif enzim bromelin dengan basis gel carbopol 940.

2. Metode

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni laboratorium untuk menguji efektivitas gel carbopol 940 untuk penyembuhan luka bakar pada kelinci (*Oryctolagus cuniculus*).

Bahan

Carbopol 940, DMDM Hydantoin (Buana Chem), Bromelin (Xi'an Pincredit Bio-Tech Co., Ltd), gliserin (Buana Chem), gel Bioplacenton®, propilenglikol (The Dow Chemical Company), triethanolamine (TEA) dan *Veet*®.

Alat

Batang pengaduk, gelas ukur (*pyrex*), gelas kimia (*pyrex*), kaca preparat, mortir dan stemper, pipet tetes, spatula, pH meter, *stopwatch*, timbangan analitik (*Chyo*) dan wadah gel..

Optimasi Basis Gel

Penelitian ini diawali dengan optimasi basis carbopol 940 dengan beberapa variasi konsentrasi carbopol 940 yang berbeda yaitu Formula 1 (0,5%), Formula 2 (1%), dan Formula 3 (1,5%). Optimasi basis gel carbopol 940 dilakukan dengan menimbang carbopol 940 kemudian didiamkan dalam aquadest selama 1x24 jam. Selanjutnya dimasukkan TEA kemudian digerus hingga berbentuk massa gel. Setelah itu ditambahkan propilenglikol, gliserin dan DMDM hydantoin kemudian dilakukan evaluasi terhadap basis berupa uji organoleptik, uji viskositas, uji pH, uji daya lekat, uji daya sebar dan homogenitas.

Formulasi Gel Enzim Bromelin

Dalam penelitian ini dibuat 3 formula untuk sediaan gel dengan beberapa variasi konsentrasi enzim bromelin yaitu Formula 1 (0,1%), Formula 2 (0,5%), dan Formula 3 (1%). Masing-masing formula ditambahkan enzim bromelin sebagai zat

aktif utama dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Hal ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas enzim bromelin berdasarkan perbedaan konsentrasi

Evaluasi Sediaan

Uji Organoleptis

Uji organoleptis gel dilakukan dengan cara mengamati tekstur, warna, dan bau secara visual (Ulviani dkk, 2016) [9].

Uji Viskositas

Persyaratan viskositas untuk sediaan gel menurut SNI 16-4399-1996, nilai standar viskositas untuk sediaan gel adalah 6000-50000 cP atau 6-50 Pa.S. (Hidayanti dkk, 2015) [10].

Uji pH

Uji pH dilakukan dengan melarutkan 1 gram sampel gel carbopol 940 ke dalam beaker glass dengan 10 ml aquades. Sediaan gel yang telah larut kemudian diukur pH dengan cara memasukan pH meter kedalam sediaan gel, kemudian membandingkan hasil dari pH stik dengan indikator pH. Nilai pH suatu sediaan harus sesuai dengan pH normal kulit manusia yaitu 4,5- 6,5 (Draelos & Thaman 2006). [11]

Uji Daya Sebar

Uji daya sebar dilakukan dengan menimbang gel carbopol 940 0,5 gram. Meletakkan gel diatas kaca transparan, lalu kemudian menutup dengan kaca tranparan yang lain dan memberikan beban secara bertahap (50, 100, 150, dan 200) gram, setiap penambahan beban diberikan waktu 1 menit dan diukur diameternya. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pada tiap formula. Syarat daya sebar sediaan gel adalah 5-7 cm (Garg *et al.* 2002) [12].

Uji Daya Lekat

Uji daya lekat dilakukan dengan menimbang gel 0,5 gram. Meletakkan gel diatas kaca obyek yang telah ditentukan luasnya. Meletakkan gelas obyek yang lain di atas gel dan memberikan beban 1 kg selama 5 menit, setelah itu beban diangkat dan tarik tuas sambil stopwatch dinyalakan. Waktu dihitung saat tuas ditarik dan dihentikan ketika kaca obyek terlepas. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pada tiap formula. Syarat daya lekat sediaan gel yaitu lebih dari 1 detik (Garg *et al.* 2002). [12]

Uji Homogenitas

Salah satu syarat sediaan gel adalah homogen. Syarat homogenitas tidak boleh mengandung bahan kasar yang bisa diraba (Syamsuni, 2006). [13]

Uji Iritasi

Uji iritasi kulit dilakukan menggunakan kelinci. Rambut pada punggung kelinci diberikan krim *Veet® Hair Removal* untuk merontokkan bulu kelinci kemudian kulit kelinci dibersihkan menggunakan kapas yang dibasahi aquades. Kasa di oleskan sediaan (0.5 gram), kemudian ditempelkan pada punggung kelinci dan ditutup dengan plastik tipis dan plester selama 24 jam. Setelah itu hewan uji dikembalikan kekandangannya. Hari selanjutnya pada jam yang sama, plester

dibuka dan kulit hewan uji dibersihkan dengan akuades dari sisa sediaan uji yang menempel. Gejala yang timbul yang diamati yaitu iritasi primer yang berupa eritema dan edema selama 24 jam, 48 jam, dan 72 jam [14].

Uji Efektivitas Secara In Vivo

Pengujian ini menggunakan sebanyak 5 ekor kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) dengan bobot 1,5-2,5 kg yang dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok perlakuan formula F1A (0,1%), F1B (0,5%), F1C (1%), kelompok kontrol positif gel Bioplacenton® dan kelompok negatif tanpa perlakuan. Hewan uji diadaptasikan dalam lingkungan untuk menyeragamkan cara hidup dan diberikan pakan standar.

Tahap awal yaitu bulu pada punggung kelinci yang akan dibuat luka bakar dicukur, kemudian bagian yang menjadi target pembuatan luka bakar dibersihkan dengan kapas yang telah direndamkan dengan alkohol 70%. Setelah itu, dilakukan pembuatan luka bakar pada kulit punggung setiap kelinci menggunakan logam berdiameter 1 cm yang telah dipanaskan dalam api bunsen selama 5 menit dan kemudian ditempelkan selama 7 detik pada kulit punggung kelinci sampai terbentuk luka bakar yang ditandai dengan terjadi pelupuhan dan kulit terkelupas. Luka bakar pada kelinci yang sudah dilukai pada bagian punggungnya, masing-masing diberi perawatan berdasarkan kelompok kontrol yang telah ditentukan. Untuk kelompok I sebagai kontrol negatif (basis tanpa zat aktif), pada 3 kelompok perlakuan dengan 3 konsentrasi dosis bromelin yang berbeda yaitu Formula 1A (0,1%), Formula 1B (0,5%) dan Formula 1C (1%). Kelompok V sebagai kontrol positif (diberikan terapi Bioplacenton®). Pengamatan luka dimulai sejak hari ke-1 dengan menggunakan penggaris. Perawatan luka dilakukan dengan cara pengolesan sediaan dua kali, jumlah yang dioleskan masing-masing 0,1 gram secara topikal, Pengolesan dilakukan setiap hari 2x sehari selama 15 hari.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengujian dianalisis secara statistik menggunakan One Way ANOVA dengan taraf kepercayaan 95%. Metode One Way ANOVA digunakan untuk mengetahui adanya pengaruh variasi konsentrasi enzim bromelin terhadap penyembuhan luka bakar.

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil Uji Organoleptik

Gel bromelin yang sudah di formulasi dilakukan uji organoleptis dan homogenitas. Uji organoleptis gel dilakukan dengan cara mengamati tekstur, warna, dan bau secara visual [9]. Uji homogenitas bertujuan untuk melihat ketercampuran bahan-bahan dalam sediaan gel yang menunjukkan susunan yang homogen.

Tabel 1. Hasil uji organoleptik

Formula	Warna	Bau	Homogenitas
F ₁	Agak keruh	Khas	Homogen
F ₂	Keruh	Khas	Homogen
F ₃	Sangat keruh	Khas	Homogen

Tabel 1 menunjukkan hasil uji organoleptik dari tiga gel bromelin meliputi warna, bau dan homogenitas. Hasil pengamatan ketiga formula tersebut menghasilkan warna keruh, berbau khas dan homogen.

Pengujian pH dilakukan untuk mengetahui pH sediaan gel bromelin masuk dalam rentang pH fisiologis kulit yaitu 4,5-6,5.

Tabel 2. Hasil uji pH

Formula	pH
F ₁	6,5
F ₂	6,2
F ₃	6,0

Tabel 2 menunjukkan nilai pH dari gel bromelin. Uji pH dilakukan dengan melarutkan 1 gram sampel gel ke dalam beaker glass dengan 10 ml aquades. Sediaan gel yang telah larut kemudian diukur pH dengan cara memasukan pH meter kedalam sediaan gel. Nilai pH suatu sediaan harus sesuai dengan pH normal kulit manusia yaitu 4,5- 6,5 [11]. Hasil pengukuran pH gel bromelin menggunakan pH meter di dapatkan nilai pH yang termasuk dalam rentang pH sediaan topikal yaitu 4,5-6,5.

Daya sebar gel dimaksudkan untuk mengetahui kemampuan gel menyebar saat dioleskan pada kulit. Uji daya sebar bertujuan untuk mengetahui kemampuan penyebaran gel mudah atau tidaknya diaplikasikan pada kulit [14].

Tabel 3. Hasil uji daya sebar

Beban	Luas daya sebar (cm ²)		
	Formula 1	Formula 2	Formula 3
50	4	4,05	5,25
100	4,3	4,4	5,5
150	4,7	4,8	5,9
200	5	5,05	6,2

Tabel 3 menunjukkan hasil daya sebar gel bromelin. Uji daya sebar dilakukan dengan menimbang gel sebanyak 0,5 gram. Meletakkan gel diatas kaca transparan, lalu kemudian menutup dengan kaca tranparan yang lain dan memberikan beban secara bertahap (50, 100, 150, dan 200) gram, setiap penambahan beban diberikan waktu 1 menit dan diukur diameternya. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pada tiap formula. Syarat daya sebar sediaan gel adalah 5-7 cm [12].

Uji daya lekat bertujuan untuk melihat waktu yang diperlukan sediaan untuk menempel terhadap kulit. Hal ini dikaitkan dengan proses kerja obat atau

zat aktif, semakin lama daya lekat maka semakin lama zat aktif bertahan pada permukaan kulit.

Tabel 4. Hasil uji daya lekat

Formula	Daya Lekat (detik)
F1	>60
F2	>60
F3	>60

Tabel 4 menunjukkan hasil uji daya lekat gel bromelin. Uji daya lekat dilakukan dengan menimbang gel 0,5 gram. Meletakkan gel diatas kaca obyek yang telah ditentukan luasnya. Meletakkan gelas obyek yang lain di atas gel dan memberikan beban 1 kg selama 5 menit, setelah itu beban diangkat dan tarik tuas sambil stopwatch dinyalakan. Waktu dihitung saat tuas ditarik dan dihentikan ketika kaca obyek terlepas. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pada tiap formula. Syarat daya lekat sediaan gel yaitu lebih dari 1 detik [12].

Viskositas merupakan tahanan untuk mengalir, dimana semakin besar viskositasnya maka sediaan tersebut semakin kental, demikian juga sebaliknya. Uji viskositas bertujuan untuk mengetahui konsistensi suatu sediaan yang berpengaruh pada penggunaan secara topikal [15].

Tabel 5. Hasil uji viskositas

Viskositas (rpm)	Centi poise		
	Formula 1	Formula 2	Formula 3
12	46850	33628	25218
30	27692	16846	13816
60	14950	10362	8566

Tabel 5 hasil uji viskositas menggunakan menggunakan viskometer Brookfield (Spindel nomor 6). Berdasarkan hasil diatas ketiga formula tersebut masih memenuhi range viskositas sediaan gel. Uji viskositas bertujuan untuk mengetahui konsistensi suatu sediaan yang berpengaruh pada penggunaan secara topikal [15]. Persyaratan viskositas untuk sediaan gel menurut SNI 16-4399-1996, nilai standar viskositas untuk sediaan gel adalah 6000-50000 cP atau 6-50 Pa.S [10].

Uji Sebelum dilakukan pengujian secara *in vivo* untuk melihat reaksi iritasi pada kulit hewan uji terhadap gel bromelin.

Tabel 6. Hasil uji iritasi gel

Formula	Eritema					Edema				
	H ₀	H ₁₂	H ₂₄	H ₃₆	H ₇₂	H ₀	H ₁₂	H ₂₄	H ₃₆	H ₇₂
F1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

H₀: Jam ke-0; H₁₂: Jam ke-12; H₂₄: Jam ke-24; H₃₆: Jam ke-36; H₇₂: Jam ke-72

Skala eritema = 0: tidak ada kemerahan; 1: bercak merah; 2: merah merata; 3: merah, kulit menebal

Skala edema = 0: tidak bengkak; 1: 2 mm; 2: 4 mm; 3: 6 mm; 4: 8 mm

Tabel 6 menunjukkan hasil uji iritasi yang dilakukan dengan cara mengoleskan sediaan gel pada kulit kelinci dan dilihat setelah 24 jam kemudian apakah terdapat iritasi atau tidak. Pada pengamatan akhir tidak terlihat adanya tanda-tanda iritasi berupa eritema atau edema selama penggunaan sediaan gel bromelin.

Gel bromelin selanjutnya diaplikasikan pada hewan uji untuk pengujian secara *in vivo*. Penelitian ini dilakukan dalam jangka waktu 15 hari untuk melihat efek enzim bromelin terhadap penyembuhan luka bakar derajat 2.

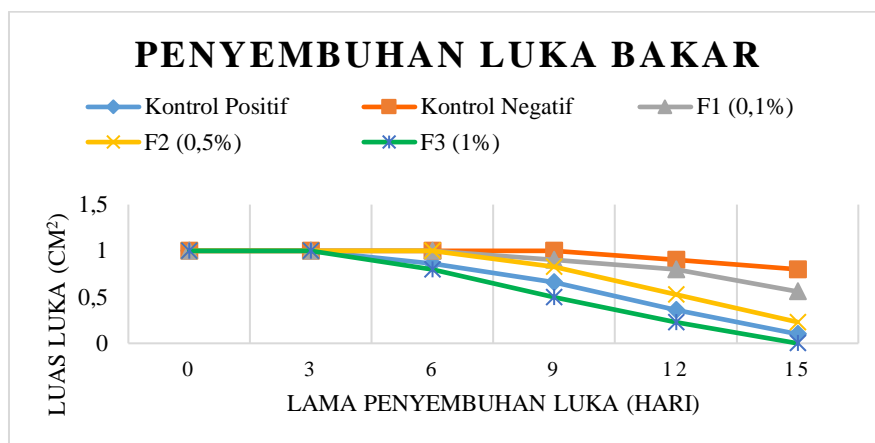
Tabel 7 Hasil pengukuran luas luka pada kelinci

No.	Kelompok	Replikasi	Pengamatan hari ke-					
			1 (cm ²)	3 (cm ²)	6 (cm ²)	9 (cm ²)	12 (cm ²)	15 (cm ²)
1	Kontrol	1	1	1	0,9	0,7	0,4	0,1
		2	1	1	0,8	0,6	0,3	0,1
	Positif	3	1	1	0,9	0,7	0,4	0,1
		Rata-rata	1,00	1,00	0,86	0,66	0,36	0,1
2	Kontrol	1	1	1	1	1	0,9	0,8
		2	1	1	1	1	0,8	0,7
	Negatif	3	1	1	1	1	1	0,9
		Rata-rata	1,00	1,00	1,00	1,00	0,90	0,80
3	F1 (0,1%)	1	1	1	1	0,9	0,8	0,6
		2	1	1	1	0,8	0,7	0,4
	Rata-rata	3	1	1	1	1	0,9	0,7
		Rata-rata	1,00	1,00	1,00	0,90	0,80	0,56
4	F2 (0,5%)	1	1	1	1	0,8	0,5	0,2
		2	1	1	1	0,9	0,6	0,3
	Rata-rata	3	1	1	1	0,8	0,5	0,2
		Rata-rata	1,00	1,00	1,00	0,83	0,53	0,23
5	F3 (1%)	1	1	1	0,8	0,5	0,2	0,0
		2	1	1	0,9	0,6	0,3	0,0
	Rata-rata	3	1	1	0,7	0,4	0,2	0,0
		Rata-rata	1,00	1,00	0,80	0,50	0,23	0,0

Tabel 7 menunjukkan hasil pengukuran diameter luka bakar kelinci selama 15 hari pengamatan. Pengukuran ini dilakukan dengan interval 3 hari selama 15 hari dengan memantau perkembangan luka yang diukur menggunakan parameter diameter luka dan pengamatan visual.

Uji efektivitas penyembuhan luka dilakukan pada hewan uji kelinci untuk mengetahui waktu penyembuhan luka pada tiap kelompok perlakuan. Hewan uji digunakan sebanyak 5 ekor dan dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan diantaranya kelompok kontrol positif (Bioplacenton®), kelompok F1A 0,1%, kelompok F1B 0,5%, kelompok F1C 1% dan kelompok kontrol negatif (basis gel).

Masing-masing kelompok diuji dengan replikasi 3x. Luka bakar dibuat dengan menginduksikan logam berukuran 1x1 cm yang dipanaskan selama 7 menit, lalu ditempelkan ke punggung kelinci, hingga memperoleh luka bakar derajat 2. Hasil penyembuhan luka bakar bisa dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Kurva penyembuhan luka

Pada kelompok kontrol positif diberikan sediaan gel bioplacenton. Penggunaan gel bioplacenton didasarkan oleh kemampuan bioplacenton dalam menyembuhkan luka bakar selain itu bioplacenton juga memiliki bentuk sediaan yang sama dengan sediaan yang akan diujikan yaitu gel. Pada pengujian aktivitas penyembuhan luka bakar derajat II digunakan pembanding gel bioplacenton yang berisi Placenta extract 10% dan Neomycin sulfate 0,5%. Ekstrak plasenta dalam obat ini bekerja memicu pembentukan jaringan baru dan untuk mempercepat penyembuhan luka sedangkan neomycin sulfate berperan sebagai bakteriosid [16]. Hal ini sejalan dengan hasil perlakuan pada kontrol positif, dimana luka menutup dan mengering pada hari ke-3, dan mulai mengelupas pada hari ke-6, sehingga pada hari ke-9 diameter luka semakin mengecil dan pada hari ke-15 luka menutup dengan baik.

Kelompok kontrol negatif hanya menggunakan basis gel tanpa zat aktif. Kelompok ini merupakan kelompok acuan untuk melihat penyembuhan luka secara alami. Menurut Dirjen POM, carbopol 940 digunakan sebagai *gelling agent* karena tidak ditemui iritasi primer, sensitivitas, ataupun reaksi alergi pada pemakaian luar hal ini sangat cocok untuk menjaga luka bakar agar tidak iritasi selama pengobatan [5]. Berdasarkan pengamatan pada kelompok kontrol negatif, pada hari ke-6 luka baru mulai mengering, hari ke-9 luka mulai mengelupas, dan pada hari ke-12 luka masih berukuran lebih besar dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya. Pengamatan pada hari ke-15, luka mulai mengecil namun tidak memberikan efek yang signifikan seperti kelompok perlakuan lainnya. Hal ini terjadi karena pada kontrol negatif hanya digunakan basis gel carbopol tanpa kandungan zat aktif apapun.

Pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi formula yang berbeda menghasilkan penyembuhan luka dengan rata-rata luas luka yang berbeda. Berdasarkan data pada tabel 7 pada kelompok F1 dengan konsentrasi zat aktif

sebesar 0,1% terjadi penurunan luka berturut-turut dari hari ke-6 luka mulai mengering, hari ke-9 luka mulai mengelupas dan berdiameter 0,9 cm², hari ke-12 luka berdiameter 0,8 cm² dan hari ke-15 luka hampir dinyatakan sembuh dengan diameter luka 0,56 cm².

Pada kelompok F2 dengan konsentrasi zat aktif sebesar 0,5% memberikan efek yang berbeda terhadap penyembuhan luka sengan kelompok F1, dimana terjadi penurunan luka berturut-turut dari hari ke-6 luka sudah kering, hari ke-9 luka mulai mengelupas dengan diameter 0,83 cm², hari ke-12 luka berdiameter 0,53 cm² dan hari ke-15 ukuran luka mengecil dengan diameter 0,23 cm² hasil ini menunjukkan bahwa formula F2 lebih baik dari F1.

Pada kelompok F3 dengan konsentrasi zat aktif sebesar 1% memberikan efek yang signifikan terhadap penyembuhan luka. Menurut Jeschke dkk, terjadi hemostasis segera setelah cedera dan melibatkan vasokonstriksi, hal ini terjadi sekitar 24-48 jam setelah luka bakar. Penyembuhan alami dari luka-luka ini melibatkan proses yang dinamis dan saling tumpang tindih yang mencakup fase inflamasi, yang dilakukan oleh neutrofil dan monosit yang menuju ke bagian yang cedera melalui vasodilatasi lokal. Fase peradangan ini secara alami berfungsi untuk menurunkan jaringan nekrotik dan memulai rangkaian sinyal diperlukan untuk perbaikan luka [20].

Pengamatan pada hari ke-3 yaitu luka sudah mulai mengering dan pada hari ke-6 luka sudah terkelupas dengan diameter 0,2 cm². Pembentukan keropeng menunjukkan proses penyembuhan luka memasuki fase proliferasi tahap awal. Waktu pelepasan keropeng (*scab*) menandakan bahwa sudah terjadi pertumbuhan sel-sel baru pada kulit sehingga membantu mempercepat lepasnya keropeng dan merapatnya tepi luka. Keropeng (*scab*) terlepas karena jaringan dibawahnya sudah kering dan tepi-tepi luka mulai tertarik ketengah [18].

Pada hari ke-9 luka mulai mengalami fase remodeling dengan diameter luka 0,5 cm², Akhir fase penyembuhan melibatkan remodeling luka, di mana kolagen dan elastin disimpan dan terus menerus mengubah fibroblas menjadi miofibroblas. Seiring waktu, myofibroblast dan re-epitelisasi menentukan kualitas dan elastisitas luka yang diperbaiki, dan menentukan luasnya pembentukan bekas luka yang ditandai dengan pertumbuhan jaringan fibrosa yang tidak beraturan oleh serat-serat kolagen. Secara umum, respon penyembuhan yang kompleks ditargetkan untuk regenerasi bagian dermal dan epidermal dengan tujuan memulihkan penutupan *skin barrier* serta elastisitas dan fungsi kulit. Namun, luka dapat sembuh biasanya dengan bekas luka abnormal yang khas aktif, merah, gatal, nyeri dan cacat atau disebut bekas luka hipertrofik atau keloid [17]. Fase *remodeling* biasanya merupakan fase terlama dari proses penyembuhan luka. Proses ini dimulai sekitar hari ke-21 hingga satu tahun. Namun, pada F3 luka telah mengalami fase maturasi pada hari ke-12 dan luka hampir menutup sempurna pada hari ke-15.

Hasil yang diperoleh, dapat dibandingkan efektivitas penyembuhan luka yang tercepat terjadi pada kelompok F3 (konsentrasi 1%), urutan kedua kelompok kontrol positif (Bioplacenton), urutan ketiga kelompok F2 (konsentrasi 0,5%), urutan keempat kelompok F1 (konsentrasi 0,1%), dan urutan terakhir kelompok kontrol negatif (basis gel carbopol 940).

Bromelain merupakan campuran enzim proteolitik yang terdapat pada semua jaringan nanas (*Ananas comosus*) yang dikenal sebagai agen debriding yang efisien dalam perawatan luka bakar dan regenerasi jaringan. Mekanisme penyembuhan luka bakar oleh bromelin diawali dengan penyembuhan luka di mana protease dari bromelain menghidrolisis bekuan fibrin yang menempel pada luka. Bromelin juga memperbaiki komponen matriks ekstraseluler yang rusak seperti kolagen, elastin dan laminin melalui efek proteolisis. Hal ini menginduksi pelepasan faktor pertumbuhan dan angiogenik dalam matriks, serta aktivasi kemokin dan sitokin bioaktif, dan memproses sel ke sel dan matriks ke molekul adhesi sel. Selain protease, bromelain mengandung enzim non-proteolitik, yang disebut Escharase, yang tidak memiliki aktivitas analitis terhadap protein normal dan memotong substrat glikosaminoglikan dan secara efisien menghilangkan eschar [19].

Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Sehirli dkk, bromelin juga memberikan efek penyembuhan pada luka bakar akibat korosif. Dalam penelitian ini, bromelain terbukti memiliki efek antioksidan dan efek perlindungan. Bromelain sebelumnya belum pernah diuji untuk luka bakar kimia, hal ini bisa menjadi agen baru yang menjanjikan untuk mengurangi mortalitas dan morbiditas terkait radikal bebas [20].

Dalam penelitian ini, hasil F3 yang mengandung bromelin 1% yang tidak berbeda signifikan dibandingkan kontrol positif Bioplacenton®. Pemilihan Bioplacenton® sebagai bahan pembanding adalah karena Bioplacenton® merupakan salah satu sediaan yang umum digunakan sebagai pengobatan pada penderita luka bakar. Bioplacenton® mengandung ekstrak plasenta dari sapi 10%, neomycin sulfate 0,5% dan *Jelly base* q.s. ekstrak plasenta mengandung stimulator biogenik yang mempunyai aksi stimulasi pada proses metabolik didalam sel. Efek stimulasi ini telah ditunjukkan dalam studi *in vitro* dan *in vivo* seperti peningkatan konsumsi oksigen didalam sel hati, peningkatan regenerasi sel, dan penyembuhan luka. *Neomycin sulfate* merupakan antibiotik banyak strain gram negatif [21]. Sedangkan menurut penelitian Bayat dkk, penggunaan bromelin pada luka bakar menyebabkan laju re-epitelisasi yang lebih cepat, degradasi jaringan nekrotik, pencegahan infeksi, dan pengurangan oksidasi pada jaringan yang terkena [19]. Berdasarkan hal ini dapat disimpulkan bahwa efektivitas penyembuhan dari gel bromelin tidak berbeda signifikan dengan hasil kontrol positif yaitu gel bioplacenton untuk penyembuhan luka bakar.

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa terdapat efektivitas penyembuhan luka bakar dari ketiga konsentrasi bromelin yaitu Formula 1A (0,1%), Formula 1B (0,5%), dan Formula 1C (1%). Formula 1C (1%) menunjukkan pemulihan yang paling cepat dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya, hal ini terlihat dari penurunan diameter luka dan pengamatan visual dimana luka sudah tertutup sempurna pada pengamatan hari ke-15.

Referensi

- [1] Moenadjat, Yefta. Luka Bakar: Pengetahuan untuk awam. Departemen Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2017.

- [2] Allen Jr., V. Loyd. *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding*, Second Edition. American Pharmaceutical Association, USA. 2002.
- [3] Boateng, Joshua C., dkk. Wound Healing Dressing and Drug Delivery System. *Journal Of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 97, No. 8 (2008): 2892-2893.
- [4] Voight. *Buku Ajar Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh Soendani Noeroto S., Yogyakarta: UGM Press, 1995.
- [5] Dirjen POM. *Tanaman Obat Keluarga (TOGA)*. Jakarta: Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, DepKes RI, 1983.
- [6] Kwatra, B., & Labs, I. a Review on Potential Properties and Therapeutic. 8(11), (2019): 488-500. <https://doi.org/10.20959/wjpps201911-14941>
- [7] Pavan R, Sapha J, Shraddha, Kumar A. Properties and Therapeutic Application of Bromelain: A Review. *Biotechnology Research International*. (2012):1-6.
- [8] Bayat Samaneh, dkk. Evaluation of debridement effects of bromelain-loaded sodium alginate nanoparticles incorporated into chitosan hydrogel in animal models. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. Vol. 24, No. 10. (2021).
- [9] Ulviani, Fina, Yusriadi, dan Khildah. Pengaruh Gel Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Galenika Journal of Pharmacy*. 2016;3(1):49-56.
- [10] Hidayanti, U.W., Jaka F., Arsyik I., Formulasi Dan Optimasi Basis Gel Carbopol 940 Dengan Berbagai Variasi Konsentrasi. *Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian Ke-1*. (2015): 65-75.
- [11] Draelos ZD, Thaman LA, editors. *Cosmetic Formulation of Skin Care Products*. Vol. 91. New York: Taylor and Francis Group; 2006.
- [12] Garg, A., Deepika, A., Sanjay, G., & Anil, K.S. Spreading of Semisolid Formulations: An Update, 178-180, *Pharmaceutical Technology*, USA; 2002.
- [13] Syamsuni, *Farmasetika Dasar Dan Hitungan Farmasi*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta; 2006.
- [14] Sidiq, H. B. H. F., & Apriliyanti, I. P. Evaluasi Sifat Fisik Dan Uji Iritasi Gel Ekstrak Kulit Buah Pisang (*Musa acuminata* colla). *JCPS (Journal of Current Pharmaceutical Sciences)*, 2(1) (2018): 131-135.
- [15] Wiyono, Anang Setyo dan Dian Mustofani. Efektivitas Gel Ekstrak Kasar Bromelin Kulit Nanas (*Ananus comosus* L. Merr) Hasil Optimasi Formula Pada Tikus yang Dibuat Luka Memar. *As-Syifaa Jurnal Farmasi*. 11,2, (2019):112-123
- [16] Silalahi, J. dan C. Surbakti. Burn Wound Healing Activity of Hydrolyzed Virgin Coconut Oil. *International Journal of PharmTech Research*. Vol. 8, No. 1 (2015): 67-73.
- [17] Jeschke, Marc G. dkk., Burn Injury. *Natura Review* 6,11 (2020).
- [18] Aponno J.V., Paulina V.Y.Y, dan Hamidah S.S. 2014. Uji Efektivitas Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* Linn) Terhadap Penyembuhan Luka Yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*. Manado: Program Studi Farmasi FMIPA UNSRA.

- [19] Bayat, Samaneh, dkk. Bromelain-loaded Chitosan Nanofibers Prepared by Electrospinning Method for Burn Wound Healing in Animal Models. *Life Sciences*. 229 (2019): 57-66.
- [20] Sehirli, Ahmet Ozer dkk. Protective effect of bromelain on corrosive burn in rats. *Elsevier*. (2020):1-7.
- [21] Muthmaina, Ina dkk., Aktivitas Penyembuhan Luka Bakar Fraksi Dari Ekstrak Etanol 70% Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Pada Tikus. *Farmasains*. Vol. 4 No. 2 (2017): 39-46.