



**PENGARUH PEMBERIAN GEL DOKSISIKLIN TERHADAP
JUMLAH FIBROBLAS PADA PROSES PENYEMBUHAN
DERMATITIS PAEDERUS AKIBAT RACUN TOMCAT
(*Paederus* sp.) PADA MENCIT (*Mus musculus*)**

SKRIPSI

oleh :
Silvi Ahmada Chasya
122010101095

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**



**PENGARUH PEMBERIAN GEL DOKSISIKLIN TERHADAP
JUMLAH FIBROBLAS PADA PROSES PENYEMBUHAN
DERMATITIS PAEDERUS AKIBAT RACUN TOMCAT
(*Paederus sp.*) PADA MENCIT (*Mus musculus*)**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Ilmu Kedokteran (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

oleh :
Silvi Ahmada Chasya
122010101095

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT dengan seluruh rahmat serta kasih sayang-Nya yang membuat saya tidak bisa berhenti mengucap syukur, atas ridho dan amanah-Nya sehingga saya berkesempatan untuk belajar ilmu yang luar biasa ini;
2. Kedua orang tuaku tercinta, Ayahanda Taufiq dan Ibunda Siti Sumarmi, serta kakak dan adik saya tercinta yang tak pernah lelah memberikan doa, bimbingan, dukungan, kasih sayang, serta pengorbanan yang tiada terhingga sehingga saya sampai pada tahap ini;
3. Guru-guruku yang telah memberikan ilmu dan mendidiku dengan penuh kesabaran untuk menjadikanku sebagai manusia yang berilmu, bertakwa, dan bermanfaat;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas seluruh kesempatan menimba ilmu yang berharga ini.

MOTO

Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila telah selesai dalam suatu urusan, tetaplah bekerja keras untuk urusan yang lain.*)

*)Surat Al-Insyirah ayat 6-7. Al-Qur'anul Karim

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Silvi Ahmada Chasya

NIM : 122010101095

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Gel Doksisisiklin Terhadap Jumlah Fibroblas pada Proses Penyembuhan Dermatitis Paederus Akibat Racun Tomcat (*Paederus* Sp.) pada Mencit (*Mus Musculus*)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali dalam pengutipan substansi yang sudah disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 02 Desember 2015

Yang menyatakan,

Silvi Ahmada Chasya

NIM 122010101095

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN GEL DOKSISIKLIN TERHADAP JUMLAH
FIBROBLAS PADA PROSES PENYEMBUHAN DERMATITIS
PAEDERUS AKIBAT RACUN TOMCAT (*Paederus* sp.)
PADA MENCIT (*Mus musculus*)**

Oleh

Silvi Ahmada Chasya

NIM 122010101095

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : dr. Al Munawir, M.Kes, Ph.D

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. rer. biol. hum. dr. Erma Sulistyaningsih, M.Si

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Pemberian Gel Doksisisiklin Terhadap Jumlah Fibroblas pada Proses Penyembuhan Dermatitis Paederus Akibat Racun Tomcat (*Paederus* Sp.) pada Mencit (*Mus Musculus*)” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Rabu, 02 Desember 2015

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Penguji I,

Penguji II,

dr. Sugiyanta, M.Ked

NIP 19790207 200501 1 001

dr. Cicih Komariah, Sp.M

NIP 19740928 200501 2 001

Penguji III,

Penguji IV,

dr. Al Munawir, M.Kes, Ph.D

NIP 19690901 199903 1 003

Dr. rer. biol. hum. dr. Erma Sulistyaningsih, M.Si

NIP 19770222 200212 2 001

Mengesahkan

Dekan,

dr. Enny Suswati, M.Kes

NIP 19700214 199903 2 001

RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Gel Doksisisiklin Terhadap Jumlah Fibroblas pada Proses Penyembuhan Dermatitis Paederus Akibat Racun Tomcat (*Paederus Sp.*) pada Mencit (*Mus Musculus*); Silvi Ahmada Chasya; 122010101095; 2015; 44 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Kumbang Tomcat (*Paederus sp.*) merupakan salah satu serangga yang dapat menyebabkan kerusakan bahkan kematian jaringan kulit atau dermonekrosis karena racun yang dikandungnya. Racun itu disebut dengan racun pederin. Penelitian terbaru membuktikan bahwa racun pederin berasal dari hasil simbiosis antara kumbang tomcat dengan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang mengandung enzim matriks metalloproteinase (MMP). MMP inilah yang mampu mendegradasi matriks ekstraseluler kulit. Penyakit akibat iritasi racun pederin disebut dengan dermatitis paederus yang mempunyai gejala berupa eritema, rasa gatal, dan melepuh pada kulit yang terkena racun. Dermatitis paederus akan mengalami proses penyembuhan seperti luka pada umumnya yang terdiri dari tiga fase, yakni fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodeling. Sel yang khas pada fase proliferasi adalah sel fibroblas yang mampu memproduksi matriks ekstraseluler. Adanya MMP yang mampu mendegradasi matriks ekstraseluler menyebabkan proses penyembuhan menjadi terganggu.

Doksisisiklin merupakan salah satu obat yang bersifat MMP inhibitor selain fungsinya sebagai antibiotik. Di pasaran, obat ini tersedia dalam sediaan kapsul 100 mg. Karena pengobatan penyakit kulit umumnya menggunakan obat topikal sehingga peneliti tercetus ide untuk membuat doksisisiklin dalam sediaan topikal yakni dalam bentuk gel. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan adanya pengaruh gel doksisisiklin terhadap proses penyembuhan dermatitis paederus dengan melihat perubahan jumlah fibroblas sebagai salah satu indikator penyembuhan luka.

Penelitian ini dilakukan secara *quasi experimental laboratories* dengan rancangan *post test only control group*. Hewan coba yang digunakan berupa mencit sebanyak 40 ekor, dibagi menjadi 4 kelompok yakni kelompok kontrol normal, kontrol negatif, kelompok perlakuan A yang diberikan gel doksisisiklin dengan konsentrasi 1%, dan kelompok perlakuan B yang diberi gel doksisisiklin dengan konsentrasi 5%. Kelompok dibagi lagi menjadi 5 sub kelompok berdasarkan lama pemberian gel doksisisiklin dan hari pengamatan, yakni pengamatan hari ke-1, ke-3, ke-5, ke-7, dan ke-15 setelah proses induksi racun. Induksi racun dilakukan dengan meneteskan ekstrak racun pederin sebanyak 500 ul kemudian dioleskan secara merata pada daerah cukuran. Proses ekstraksi racun menggunakan metode maserasi dengan pelarut aquades. Data diperoleh melalui penghitungan sel fibroblas pada sediaan histopatologi kulit menggunakan pewarnaan *Haematoxylin-eosin* dan dilanjutkan menggunakan software imageJ.

Pada penelitian ini didapatkan rerata jumlah fibroblas per lapang pandang pada hari ke-1 sebanyak 8,42 pada kelompok kontrol normal; 4,67; 6,67; 8,00 berturut-turut pada kelompok kontrol negatif, perlakuan A, dan perlakuan B. Sebanyak 8,83; 6,33; 7,33; 7,50 pada pengamatan hari ke-3, 7,92; 9,17; 14,58; 22,67 pada pengamatan hari ke-5, 8,00; 15,67; 20,92; 22,58 pada pengamatan hari ke-7, dan 8,00; 10,25; 15,17; 11,33 pada pengamatan hari ke-15. Hasil uji normalitas dan homogenitas didapatkan nilai $p > 0,05$ pada semua hari pengamatan kecuali hari ke-3. Data dengan distribusi normal dan homogen kemudian dianalisis menggunakan uji anova dan didapatkan nilai p lebih besar dari 0,05 yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan.

Penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian gel doksisisiklin terhadap jumlah fibroblas pada proses penyembuhan dermatitis paederus akibat racun kumbang tomcat pada mencit. Konsentrasi gel doksisisiklin yang menunjukkan hasil lebih baik adalah 5%.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT, atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Gel Doksisisiklin Terhadap Jumlah Fibroblas pada Proses Penyembuhan Dermatitis Paederus Akibat Racun Tomcat (*Paederus Sp.*) pada Mencit (*Mus Musculus*)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. dr. Enny Suswati, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Al Munawir, M.Kes, Ph.D selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dr. rer. biol. hum. dr. Erma Sulistyarningsih, M.Si selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah banyak membantu membimbing pengerjaan dan penulisan skripsi ini sejak awal hingga akhir;
3. dr. Sugiyanta, M.Ked selaku dosen penguji I dan dr. Cicih Komariah, Sp.M selaku dosen penguji II atas bimbingan dan masukannya;
4. Ayahanda Taufiq dan Ibunda Siti Sumarmi, terima kasih atas segala kasih sayang, pengorbanan, semangat, nasehat, dan doa restu yang selalu tercurah untuk ananda;
5. Kakakku Erwin Haqiqi dan Adikku Anindita Salasa Ahmada, terima kasih semangat dan doa untukku;
6. Teman-teman seperjuangan skripsi (Bagus Indra Kusuma, Brenda Desy Romadhon, Putri Erlinda Kusumaningarum), terima kasih atas bantuan, semangat, doa, dan kerjasamanya dari awal sampai akhir;
7. Sahabat-sahabatku (Laily Rahmawati, Shinta Riski Julia, Ardi Perkasa, Dimes Atika, Yulia Puspitasari), terima kasih atas segala bantun, dukungan, semangat, dan doanya selama ini;

8. Teman-teman seangkatan *Panacea*, terima kasih atas segala bantuannya;
9. Teman-teman *TNCBT*, terima kasih atas semangat dan doanya;
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 02 Desember 2015

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN BIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Dermatitis Paederus	4
2.1.1 Etiologi.....	4
2.1.2 Patogenesis.....	5
2.1.3 Manifestasi Klinis.....	5
2.2 Proses Penyembuhan Dermatitis Paederus	5
2.3 Matriks Metalloproteinase (MMP)	7
2.4 Doksisisiklin	8

2.4.1 Cara Kerja	8
2.4.2 Farmakokinetik	8
2.4.3 Doksisisiklin sebagai MMP Inhibitor	8
2.5 Kerangka Konseptual	9
2.6 Hipotesis Penelitian	10
BAB 3. METODE PENELITIAN	11
3.1 Jenis Penelitian	11
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	11
3.3 Populasi dan Sampel	11
3.3.1 Populasi	11
3.3.2 Sampel	11
3.3.3 Besar Sampel	11
3.4 Definisi Operasional	12
3.5 Rancangan Penelitian	13
3.6 Variabel Penelitian	14
3.6.1 Variabel Bebas	14
3.6.2 Variabel Terikat	14
3.6.3 Variabel Terkendali	14
3.7 Bahan dan Alat Uji yang Digunakan	14
3.7.1 Bahan	14
3.7.2 Alat	15
3.8 Prosedur Penelitian	15
3.8.1 Pemilihan Sampel Mencit	15
3.8.2 Persiapan Sampel Mencit	15
3.8.3 Pembuatan Gel Doksisisiklin	15
3.8.4 Ekstraksi Racun Pederin	16
3.8.5 Tahap Perlakuan	16
3.8.6 Pengambilan Jaringan Kulit	17
3.8.7 Pembuatan Preparat Histopatologi	17
3.8.8 Pengamatan Histopatologi	17
3.9 Analisis Data	18

3.10 Alur Penelitian	18
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Hasil Penelitian	20
4.2 Analisis Data	24
4.3 Pembahasan	28
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	32
5.1 Kesimpulan	32
5.2 Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	36

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Nilai Rata-Rata Jumlah Sel Fibroblas (per lapang pandang)..	23
Tabel 4.2 Analisis Normalitas dan Homogenitas	25
Tabel 4.3 Hasil Homogenitas Data Transform	26
Tabel 4.4 Hasil Uji One Way Anova	26
Tabel 4.5 Analisis Hasil Uji LSD Pengamatan Hari ke-1	26
Tabel 4.6 Analisis Hasil Uji LSD Pengamatan Hari ke-5	27
Tabel 4.7 Analisis Hasil Uji LSD Pengamatan Hari ke-7	27
Tabel 4.8 Analisis Hasil Uji LSD Pengamatan Hari ke-15	27
Tabel 4.9 Hasil Uji Kruskal Wallis	28

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Fase, waktu, dan sel yang dominan pada proses penyembuhan luka ...	6
2.2 Fibroblas (panah) dengan cabang sitoplasma halus (mata panah).....	7
2.3 Skema kerangka konseptual penelitian	9
3.1 Skema rancangan penelitian	13
3.2 Lapangan pandang yang digunakan untuk menghitung	17
3.3 Skema Alur Penelitian	18
4.1 Pengamatan histologi hari ke-1 menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400x, kontrol normal (a), kontrol negatif (b), perlakuan A (c), dan perlakuan B (d)	21
4.2 Pengamatan histologi hari ke-3 menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400x, kontrol normal (a), kontrol negatif (b), perlakuan A (c), dan perlakuan B (d)	21
4.3 Pengamatan histologi hari ke-5 menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400x, kontrol normal (a), kontrol negatif (b), perlakuan A (c), dan perlakuan B (d)	22
4.4 Pengamatan histologi hari ke-7 menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400x, kontrol normal (a), kontrol negatif (b), perlakuan A (c), dan perlakuan B (d)	22
4.5 Pengamatan histologi hari ke-15 menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400x, kontrol normal (a), kontrol negatif (b), perlakuan A (c), dan perlakuan B (d)	23
4.6 Grafik Perubahan Rata-Rata Jumlah Sel Fibroblas	24

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Data Pengamatan Sel Fibroblas Mencit	35
B. Hasil Uji Analisis Data	37
C. Gambar Penelitian.....	39
D. Langkah Penghitungan Sel dengan Software ImageJ	40
E. Perijinan Komisi Etik	43

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kerusakan jaringan kulit, atau yang disebut dengan dermonekrosis, akibat kontak dengan racun kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) menyebabkan dermatitis paederus. Racun kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) disebut dengan racun pederin. Racun ini mengiritasi kulit ketika kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) tergencet pada permukaan kulit sehingga racun keluar. Hasil kontak dengan racun pederin menimbulkan gejala berupa rasa gatal, merah, dan melepuh seperti terbakar pada kulit.

Kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) pertama kali menyerang tahun 1915 di Afrika (Mbonile, 2011). Sejak itu, serangan Tomcat (*Paederus* sp.) terjadi di berbagai belahan dunia termasuk Indonesia. Pada tahun 2008 sampai 2012, tercatat sebanyak 260 warga di Tulungagung, 50 warga Gresik, dan 160 warga Surabaya mengalami gejala dermatitis paederus (Kompas, 2012). Laporan lainnya tidak menyebutkan secara konkret jumlah penderita, tetapi diduga penderita yang terserang namun tidak tercatat jauh lebih banyak.

Awalnya, racun pederin diduga berasal dari tubuh kumbang Tomcat (*Paederus* sp.). Namun, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Piel (2002), pederin berasal dari hasil simbiosis antara kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) dan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang mampu mensekresikan enzim matriks metaloprotease (MMP) (Asoodeh & Musaabadi, 2012). Enzim matriks metaloprotease (MMP) merupakan enzim proteolitik yang memiliki kemampuan mendegradasi matriks ekstraseluler, misalnya MMP-2 dan MMP-9 yang mampu mendegradasi komponen matriks ekstraseluler kulit seperti kolagen, gelatin, dan elastin.

Dermatitis paederus termasuk jenis Dermatitis Kontak Iritan (DKI) yang proses penyembuhannya seperti luka pada umumnya (Qadir *et al.*, 2006). Penyembuhan luka merupakan proses yang kompleks dengan terdiri dari tiga fase,

yaitu fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodeling. Pembentukan pembuluh darah baru dan jaringan granulasi merupakan tanda penting pada proses proliferasi. Jaringan granulasi terutama tersusun atas fibroblas. Fibroblas merupakan salah satu sel yang mampu memproduksi matriks ekstraseluler saat terjadinya luka. Selain itu, fibroblas juga menghasilkan MMP, dalam jumlah tertentu, yang berfungsi untuk menyeimbangkan integritas jaringan. Berdasarkan penelitian sebelumnya, telah terbukti bahwa MMP berperan dalam proses dermonekrosis akibat racun kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) terutama MMP-2 dan MMP-9 yang memungkinkan terjadinya gangguan proses penyembuhan luka dan berpengaruh pada jumlah fibroblas (Romadhon *et al.*, 2014).

Salah satu cara memperbaiki proses penyembuhan pada dermatitis paederus adalah dengan menghambat aktifitas MMP. Doksisisiklin merupakan salah satu jenis antibiotik yang mempunyai sifat sebagai MMP inhibitor (Kristanti, 2012). Penelitian lain menyebutkan bahwa penggunaan terapi tambahan pada dermatitis paederus berupa antibiotik menghasilkan waktu penyembuhan yang lebih singkat daripada hanya menggunakan kortikosteroid dan antihistamin (Qadir *et al.*, 2006). Antibiotik doksisisiklin dalam dosis 100 mM terbukti mampu menghambat aktifitas MMP-2 dan MMP-9 secara *in vitro* (Romadhon *et al.*, 2014). Sediaan obat ini berupa kapsul. Untuk terapi penyakit kulit biasanya digunakan sediaan topikal sehingga penulis berinisiatif untuk membuat doksisisiklin dalam bentuk gel. Bentuk sediaan ini dipilih karena lebih sesuai dengan jenis luka pada dermatitis paederus. Pada penelitian ini, efek terapi sediaan gel doksisisiklin pada dermatitis paederus akan dilihat secara *in vivo* dengan menghitung jumlah sel fibroblas sebagai salah satu indikator proses penyembuhan luka.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan masalah yang telah diuraikan, dapat dirumuskan permasalahan yakni bagaimana pengaruh pemberian gel doksisisiklin terhadap jumlah sel fibroblas pada proses penyembuhan dermatitis paederus akibat racun kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) pada mencit?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini ialah untuk membuktikan adanya pengaruh pemberian gel doksisisiklin terhadap jumlah fibroblas pada proses penyembuhan dermatitis paederus akibat racun kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) pada mencit.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Menambah pengetahuan peneliti mengenai efek gel doksisisiklin terhadap proses penyembuhan dermatitis paederus secara *in vivo*.
- b. Memberikan sumbangan terhadap ilmu pengetahuan dan teknologi kedokteran bahwa gel doksisisiklin dapat digunakan sebagai salah satu bahan untuk pengobatan terhadap dermatitis paederus.
- c. Dapat memberikan sumbangan pengetahuan bagi perkembangan penelitian dalam bidang penyembuhan luka.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Dermatitis Paederus

Dermatitis Paederus adalah iritasi kulit akut yang disebabkan adanya kontak kulit dengan racun yang ada pada kumbang tomcat, yaitu racun pederin. Racun pederin dikeluarkan dari tubuh kumbang tomcat bukan melalui sengatan ataupun gigitan, melainkan karena tubuh kumbang tomcat tergecet atau tidak sengaja ditekan (Singh dan Ali, 2007).

2.1.1 Etiologi

Menurut Hadi (2012), etiologi terbanyak dermatitis paederus di Indonesia adalah *Paederus fuscipes* dan disusul oleh *Paederus tamulus*. Sedangkan menurut Singh dan Ali (2007), etiologi terbanyak dermatitis paederus di Indonesia adalah *Paederus peregrinus*. Tubuh kumbang *Paederus* sp. berbentuk memanjang, terbagi menjadi tiga yaitu kepala, toraks, dan abdomen. Bagian kepala, perut bagian bawah, dan elitera (struktur sayap pelindung) berwarna hitam, dan bagian dada serta perut atas berwarna merah oranye. Kakinya terdiri atas tiga pasang dengan jumlah ruas tarsi kaki depan, tengah, dan belakang adalah 5-5-5, serta tidak berkuku. Sayapnya dua pasang, tetapi tidak menutupi seluruh abdomen, hanya menutupi ruas abdomen kesatu sampai dengan ketiga. Sayap depan mengeras disebut elitera, dan berfungsi sebagai perisai, sedangkan sayap yang kedua membranous atau bening digunakan untuk terbang. Kumbang ini akan mengeluarkan racun pederin ketika tergecet.

Racun pederin merupakan cairan hemolimfe yang berisi pederin (C₂₅H₄₅O₉N), zat kimia iritan kuat (Singh dan Ali, 2007). Oleh karenanya, serangga yang infeksiif membawa bakteri tersebut hemolimfanya mengandung pederin yang bersifat racun yang dapat menyebabkan gejala radang dan melepuh pada kulit manusia. Lepuh akan pecah dan mengering atau dapat bernanah, dalam waktu kurang lebih 2 minggu baru akan pulih kembali (Zargari *et al.*, 2003).

2.1.2 Patogenesis

Kelainan kulit timbul akibat kerusakan sel yang disebabkan oleh bahan iritan melalui kerja kimiawi atau fisis. Namun, mekanisme dermatitis paederus yang terjadi pada reaksi terhadap kulit masih belum dipahami secara menyeluruh (Ahmed *et al.*, 2013). Hal yang telah diketahui bahwa racun pederin dapat mengiritasi kulit karena sifat keasamannya yang tinggi dan kandungan MMP di dalamnya sehingga menyebabkan kematian jaringan kulit atau dermonekrosis. Mekanisme dermatitis paederus diduga terjadi menyerupai Dermatitis Kontak Iritan (DKI). Empat mekanisme yang umum terjadi pada DKI adalah hilangnya membran lemak, kerusakan sel lemak, denaturasi keratin epidermal, dan efek sitotoksik secara langsung.

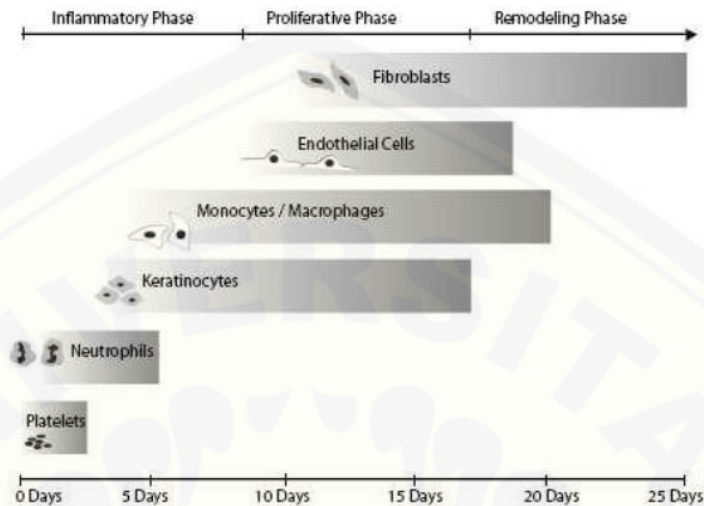
2.1.3 Manifestasi Klinis

Dermatitis paederus menimbulkan reaksi gatal-gatal, rasa terbakar, dan eritema. Reaksi pada kulit tersebut berlangsung antara 12-48 jam setelah kontak. Lesi-lesi kulit biasanya linear, dan kulit melepuh (vesiko-vitiliginous), bisa juga terjadi konjungtivitis pada mata atau bungkul-bungkul kemerahan. Selain itu, tanda khas lain dari dermatitis paederus adalah adanya *kissing lesion* (Singh dan Ali, 2007).

2.2 Proses Penyembuhan Dermatitis Paederus

Proses penyembuhan dermatitis paederus serupa dengan proses penyembuhan luka pada umumnya. Proses penyembuhan luka terdiri dari tiga fase, yaitu fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodeling. Pada setiap fase penyembuhan tersebut terdapat satu jenis sel khusus yang mendominasi (Gambar 2.1). Fase awal yakni fase inflamasi, segera setelah terjadinya suatu cedera dengan tujuan untuk menyingkirkan jaringan mati dan mencegah infeksi. Fase proliferasi berlangsung kemudian, di mana akan terjadi keseimbangan antara pembentukan jaringan parut dan regenerasi jaringan. Fase yang paling akhir yakni fase remodeling, merupakan fase terpanjang dan hingga saat ini merupakan fase yang

paling sedikit dipahami. Fase ini bertujuan untuk memaksimalkan kekuatan dan integritas struktural dari luka.

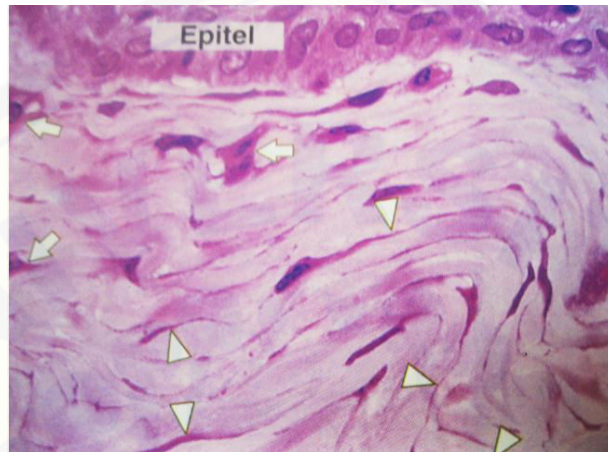


Gambar 2.1 Fase, waktu, dan sel yang dominan pada proses penyembuhan luka (Sumber: Hidayat, 2013)

Pembentukan pembuluh darah baru dan jaringan granulasi merupakan tanda penting pada proses proliferasi. Jaringan granulasi terutama tersusun atas fibroblas. Fibroblas merupakan sel yang paling banyak di jaringan ikat dan bertugas menyintesis komponen matriks ekstraseluler seperti kolagen, elastin, glikosaminoglikan, proteoglikan, dan glikoprotein multiadhesif. Sel ini memiliki dua tahap aktivitas yaitu bentuk aktif dan bentuk tenang. Sel-sel dengan aktivitas sintesis yang tinggi memiliki morfologi yang berbeda dengan fibroblas yang tenang. Beberapa ahli memakai istilah fibroblas untuk sel aktif dan fibrosit untuk sel tenang (Junqueira & Carneiro, 2007). Selain menghasilkan matriks ekstraseluler, fibroblas juga menghasilkan enzim yang bertugas mendegradasi matriks ekstraseluler yang disebut dengan Matriks Metalloproteinase (MMP). Adanya keseimbangan antara produksi matriks ekstraseluler dan MMP membuat integritas yang baik pada jaringan (Lindner, 2012).

Fibroblas aktif memiliki cabang sitoplasma. Intinya lonjong, besar, terpulas pucat dengan kromatin halus, dan anak inti yang nyata (Gambar 2.2). Sitoplasmanya banyak mengandung retikulum endoplasma kasar dan kompleks

golgi yang berkembang baik. Sedangkan fibroblas tenang atau fibrosit memiliki ukuran yang lebih kecil dari fibroblas aktif dan cenderung berbentuk kumparan, inti lebih kecil, gelap, dan panjang, sitoplasma asidofilik, dan sedikit retikulum endoplasma kasar.



Gambar 2.2 Fibroblas (panah) dengan cabang sitoplasma halus (mata panah) (Sumber: Junqueira & Carneiro, 2007)

Bila terdapat rangsangan yang cukup, seperti selama proses penyembuhan luka, fibrosit akan kembali menjadi fibroblas dengan kemampuannya untuk menghasilkan matriks ekstraseluler. Dalam hal ini, bentuk dan tampilannya akan kembali seperti fibroblas (Junqueira & Carneiro, 2007).

2.3 Matriks Metalloproteinase (MMP)

MMP merupakan enzim protease yang mampu mendegradasi matriks ekstraseluler seperti kolagen, elastin, gelatin, dll. MMP diekskresikan dalam bentuk zimogen dan akan diaktifkan oleh ion kalsium dan zink. Enzim ini diekskresikan dari berbagai sel proinflamasi seperti fibroblas, sel endotel, makrofag, dll. Selain itu, MMP juga dihasilkan oleh beberapa bakteri patogen seperti *Pseudomonas aeruginosa* (Baehaki, 2008). Produksi MMP diatur oleh hormon, *growth factor*, sitokin, inhibitor MMP endogen (MMPIs) dan inhibitor jaringan MMPs (TIMPs). Kelebihan ekspresi MMP akan menghasilkan ketidakseimbangan antara aktivitas MMP dan TIMPs yang dapat menyebabkan timbulnya berbagai kondisi patologis. Manusia memiliki 26 jenis MMP, salah

satunya ialah MMP-2 dan MMP-9 yang masuk dalam golongan gelatinase. Enzim ini mendegradasi kolagen tipe IV pada membrana basalis dan gelatin pada kulit (Verma dan Hansch, 2007). Oleh karena itu, enzim ini diduga memiliki andil dalam proses dermonekrosis pada dermatitis paederus.

2.4 Doksisisiklin

2.4.1 Cara Kerja

Doksisisiklin adalah salah satu jenis tetrasiklin yang bersifat bakteriostatik berspektrum luas baik pada bakteri gram-positif maupun gram-negatif, termasuk bakteri anaerob. Fokus kerja obat ini adalah dengan menghambat sintesis protein bakteri pada ribosomnya (Katzung, 2012). Resistensi doksisisiklin sebagai antibiotik masih rendah sehingga memungkinkan untuk diberikan pada pasien dermatitis paederus. Dosis untuk mendapatkan efek sebagai MMP inhibitor adalah 20 mg, sedangkan dosis untuk efek sebagai antibiotik bakteriostatik adalah 100 mg. Sifat kelarutan doksisisiklin yakni basa dan larut di dalam air (European Pharmacopoeia, 2005).

2.4.2 Farmakokinetik

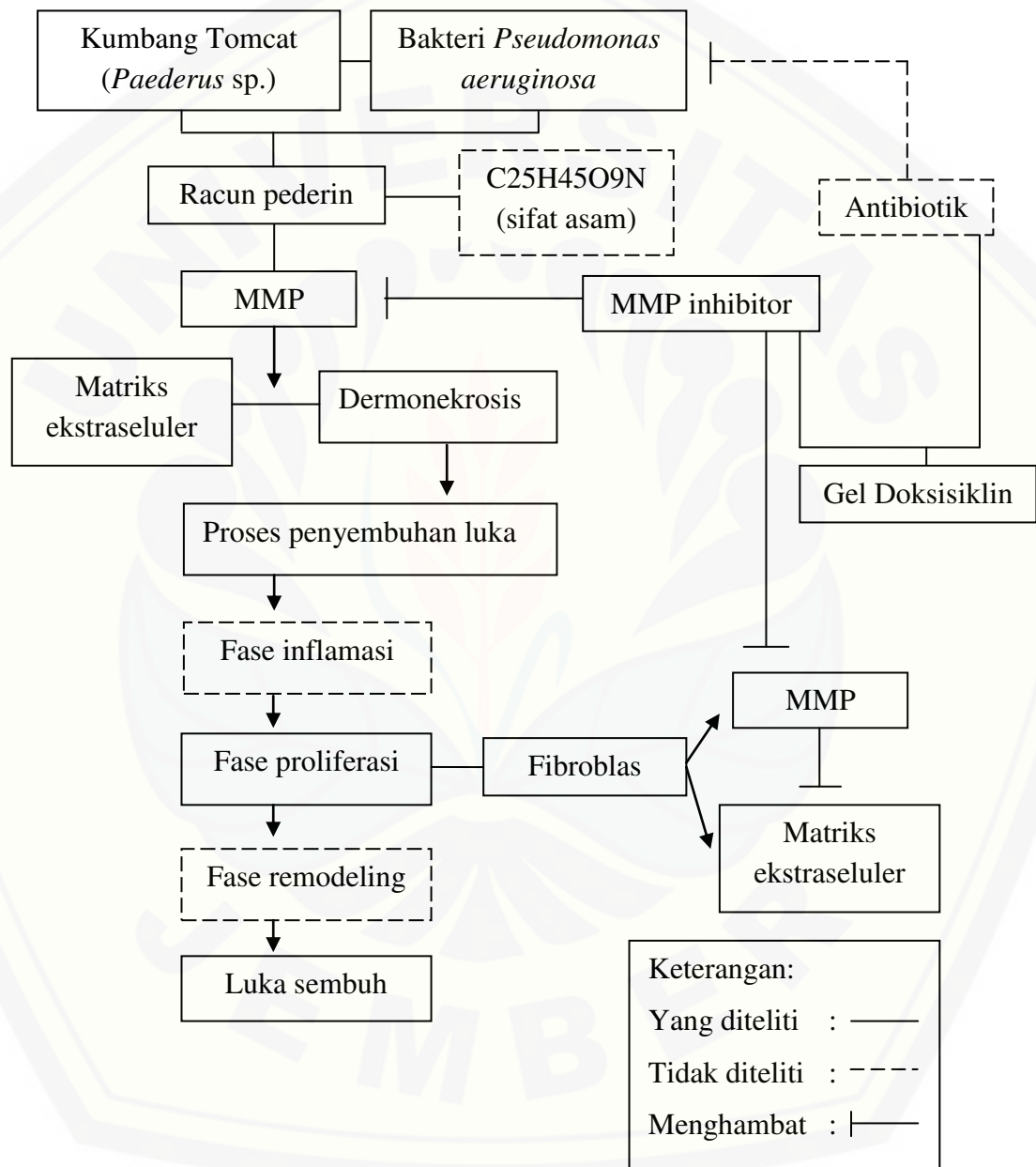
Kelebihan doksisisiklin dari golongan tetrasiklin lain adalah kemampuannya untuk diabsorpsi lebih dari 90% dan penyerapannya tidak dipengaruhi oleh makanan serta tidak memiliki kontraindikasi pada pasien dengan gangguan ginjal karena mengalami metabolisme di hati (Gunawan, 2012). Sebagai salah satu golongan tetrasiklin, doksisisiklin termasuk dalam antibiotik kerja-lama yakni 16-18 jam. Doksisisiklin tersedia dalam bentuk kapsul 100 mg.

2.4.3 Doksisisiklin sebagai MMP Inhibitor

Doksisisiklin dalam dosis 20 mg dua kali per hari dapat memberikan efek penekanan aktivitas kolagenase. Doksisisiklin menghambat aktivitas MMP dengan melakukan ikatan pada ion Ca^{2+} sehingga menyebabkan enzim tidak berfungsi. Obat ini mampu menghambat MMP yang berasal dari berbagai macam sel seperti : neutrofil, makrofag, fibroblas, dan limfosit-T, maupun yang berasal

dari bakteri patogen seperti *Pseudomonas aeruginosa*. Dengan kemampuannya sebagai inhibitor MMP, doksisisiklin memberikan efek positif terhadap waktu penyembuhan luka (Katzung, 2012; Kristanti, 2012).

2.5 Kerangka konseptual



Gambar 2.3 Skema kerangka konseptual penelitian

Kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) akan bersimbiosis dengan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang menghasilkan racun pederin. Selain kandungan asamnya yang sangat tinggi, racun pederin juga mengandung MMP yang disekresikan oleh bakteri. MMP merupakan enzim yang dapat mendegradasi matriks ekstraseluler. Akibat degradasi pada matriks ekstraseluler ini menyebabkan timbulnya kematian jaringan kulit atau dermonekrosis. Dermonekrosis terbentuk menyerupai luka iritan pada kulit yang akan mengalami proses penyembuhan luka seperti luka pada umumnya. Namun, proses penyembuhan luka ini dapat terganggu akibat aktifitas MMP yang terlalu tinggi. Proses penyembuhan luka terjadi dalam tiga fase, yakni fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodeling. Salah satu tanda fase proliferasi adalah timbulnya jaringan granulasi, antara lain fibroblas.

Doksisiklin merupakan salah satu obat yang bersifat basa dan memiliki aktifitas MMP inhibitor. Dengan sifat tersebut, doksisiklin dianggap dapat menghambat reaksi dermonekrosis akibat racun pederin dan mempercepat penyembuhan luka.

2.6 Hipotesis penelitian

Gel doksisiklin memiliki pengaruh terhadap peningkatan jumlah fibroblas dalam proses penyembuhan dermatitis paederus.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *quasi experimental laboratories* dengan rancangan *post test only control group*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di beberapa tempat. Pembuatan ekstrak racun kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Pembuatan sediaan gel dilakukan di Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember. Pembuatan sediaan histopatologi di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Pengamatan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Pelaksanaan penelitian ini dimulai pada bulan April hingga bulan Oktober 2015.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) albino jantan.

3.3.2 Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah mencit albino jantan berumur 2-3 bulan dengan berat badan 16-20 gram yang sehat dan memiliki kulit yang normal.

3.3.3 Besar sampel

Besar sampel hewan coba untuk masing-masing sampel (n) diperoleh dari rumus Federer sebagai berikut:

$$(r-1)(t-1) \geq 15$$

Dimana r adalah replikasi dan t adalah jumlah intervensi, sehingga:

$$(r-1)(20-1) \geq 15$$

$$(r-1)19 \geq 15$$

$$r-1 \geq 0,79$$

$$r \geq 1,79$$

Dari perhitungan di atas, penulis mengambil jumlah replikasi sebanyak dua ekor per kelompok per hari pengamatan. Nilai 20 diambil dari 4 kelompok pada pengamatan hari ke-1, 4 kelompok pengamatan hari ke-3, 4 kelompok pengamatan hari ke-5, 4 kelompok pengamatan hari ke-7, dan 4 kelompok pengamatan pada hari ke-15. Jadi, terdapat 8 ekor tikus yang diterminasi per hari pengamatan sehingga total mencit yang digunakan adalah 40 ekor.

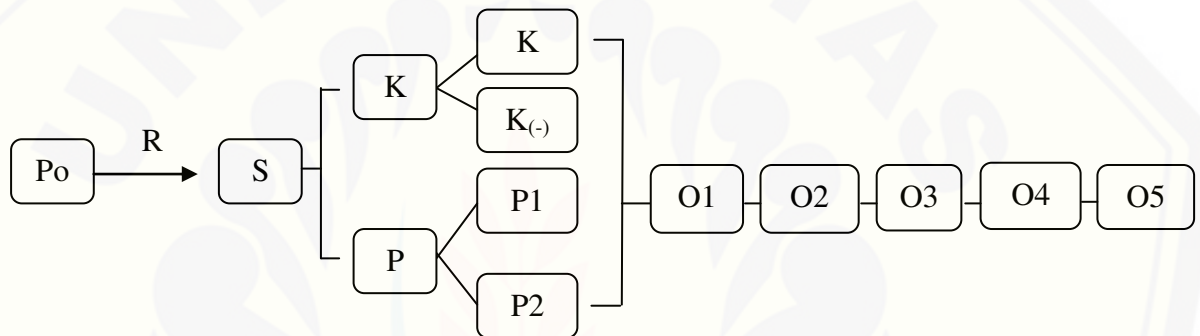
3.4 Definisi Operasional

- a. Ekstraksi racun pederin adalah proses homogenisasi makros kumbang *Paederus* sp. untuk mendapatkan kandungan racun pederin yang dilakukan dengan teknik maserasi dengan menggunakan pelarut aquades.
- b. Gel doksisisiklin adalah sediaan hidrokoloid atau hidrofilik berupa suspensi yang dibuat dengan doksisisiklin dan HPMC sebagai basis gel.
- c. Dermatitis paederus adalah iritasi kulit akut yang disebabkan adanya kontak kulit dengan racun pederin dengan tanda adanya eritema yang muncul 12 jam setelah induksi pada daerah kontak.
- d. Sediaan histopatologi yang diamati diambil dari jaringan kulit yang terkena dermatitis hingga lapisan subkutan. Cara ini digunakan untuk memudahkan pengambilan kulit dan untuk memudahkan peneliti untuk menentukan lapisan-lapisan yang terdapat dalam kulit. Bagian luka yang diambil terutama adalah bagian tengah luka.
- e. Fibroblas adalah sel dari jaringan ikat yang bersifat eosinofilik dengan pewarnaan H&E. Sel ini berbentuk gelendong, berinti lonjong, besar, dan terpulas pucat dengan kromatin halus dan anak inti yang nyata. Fibroblas dilihat dengan bantuan mikroskop cahaya Olympus CX21 dengan pembesaran 400 kali. Pengamatan dilakukan oleh peneliti yang

didampingi oleh ahli yang kompeten. Hasil pengamatan akan dianalisis dengan software imageJ untuk mendapatkan jumlah sel fibroblas per lapang pandang secara lebih objektif. Hasil dari perhitungan ini kemudian akan dirata-rata.

3.5 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Post Test Only Control Group Design* (Pratiknyo, 2000). Rancangan penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan :

Po : Populasi mencit (*Mus musculus*) albino jantan

R : Randomisasi sampel

S : Sampel

K : Kelompok kontrol

K(-) : Kelompok kontrol negatif dengan pemberian racun pederin 500 μ l

P1 : Kelompok perlakuan 1/perlakuan A dengan pemberian racun pederin 500 μ l dan gel doksisisiklin 1% 12 jam setelah induksi racun

P2 : Kelompok perlakuan 2/perlakuan B dengan pemberian racun pederin 500 μ l dan gel doksisisiklin 5% 12 jam setelah induksi racun

O1 : Observasi gambaran histologis mencit pada hari ke-1 (24 jam setelah induksi), diambil 2 ekor mencit tiap kelompok

- O2 : Observasi gambaran histologis mencit pada hari ke-3, diambil 2 ekor mencit tiap kelompok
- O3 : Observasi gambaran histologis mencit pada hari ke-5, diambil 2 ekor mencit tiap kelompok
- O4 : Observasi gambaran histologis mencit pada hari ke-7, diambil 2 ekor mencit tiap kelompok
- O5 : Observasi gambaran histologis mencit pada hari ke-15, diambil 2 ekor mencit tiap kelompok

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah gel doksisisiklin dengan konsentrasi 1% dan 5%.

3.6.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah fibroblas per lapang pandang pada sediaan histopatologi kulit yang diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Sel fibroblas diamati setelah pembedahan pada hari ke-1, 3, 5, 7, dan 15.

3.6.3 Variabel Terkendali

- a. Jenis dan pemeliharaan binatang coba.
- b. Pembuatan dan jumlah gel doksisisiklin.
- c. Induksi racun pada kulit punggung binatang coba.
- d. Lama perlakuan.
- e. Cara pengamatan.

3.7 Bahan dan Alat Uji yang Digunakan

3.7.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam proses ekstraksi racun tomcat adalah kumbang tomcat dan aquades. Untuk membuat gel, diperlukan doksisisiklin,

HPMC, propilen glikol, dan aquades ad. Untuk uji *in vivo*, dibutuhkan gel doksisisiklin 1% dan 5%. Pembuatan sampel kulit pemeriksaan histopatologis dibutuhkan normal saline dan formalin 10%.

3.7.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari mortar, sentrifuge, pisau cukur, dan penggaris untuk proses ekstraksi dan induksi racun pederin. Pembuatan gel membutuhkan alat beaker glass 50 mL, gelas ukur 10 mL, lumpang, dan alu, timbangan analitik, dan lemari pendingin untuk menyimpan gel. Pemberian doksisisiklin membutuhkan alat kapas dan *hand scoon*.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Pemilihan Sampel Mencit

Hewan coba berupa mencit albino jantan berusia 2-3 bulan dengan berat badan 16-20 gram, sebanyak 40 ekor yang terbagi dalam empat kelompok. Mencit yang dipilih harus mempunyai kulit yang sehat dan normal.

3.8.2 Persiapan Sampel Mencit

Mencit diadaptasikan selama tujuh hari sebelum diberi perlakuan. Satu kelompok dibagi menjadi dua kandang dengan ukuran kandang 38x30x12 sentimeter. Suhu ruangan pemeliharaan sebesar 20⁰ C (\pm 3⁰ C). Pencahayaan ruangan diberikan secara artifisial dengan 12 jam terang dan 12 jam gelap. Mencit diberi pakan standar dan diberikan air minum secara *ad libitum*.

3.8.3 Pembuatan Gel Doksisisiklin

HPMC dikembangkan dengan cara ditaburkan diatas aquades. Kemudian didiamkan semalam (24 jam) sampai terbentuk gel (sediaan jernih). Campuran ini kemudian diaduk hingga homogen. Doksisisiklin yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam lumpang, kemudian ditambahkan propilen glikol, dan diaduk dengan mortar hingga homogen. Setelah itu, basis gel yang telah terbentuk dituang ke dalam lumpang dan diaduk kembali.

Formula gel doksisisiklin 1% yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

R/	Doksisisiklin	1 gr
	HPMC	3 gr
	Propilen glikol	5 mL
	Aquades	100 mL

Formula gel doksisisiklin 5% yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

R/	Doksisisiklin	5 gr
	HPMC	3 gr
	Propilen glikol	5 mL
	Aquades	100 mL

3.8.4 Ekstraksi Racun Pederin

Kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) dihancurkan menggunakan mortar. Lima ekor kumbang Tomcat dilarutkan dengan 1 mL aquades, kemudian dilakukan homogenisasi menggunakan mortar. Suspensi tersebut kemudian di sentrifuge 5000 rpm selama 5 menit dan diambil bagian supernatan.

3.8.5 Tahap perlakuan

a. Induksi Racun Pederin

Ekstrak racun pederin sebanyak 500 μ l diteteskan pelan-pelan pada daerah cukuran dorsum mencit. Tetesan itu kemudian dioleskan sampai merata ke semua bagian cukuran. Sebelum diinduksi, mencit diadaptasikan selama 24 jam setelah pencukuran.

b. Perawatan Luka

Setelah mencit diberi racun pederin, mencit diperlakukan sesuai kelompok perlakuannya. Kelompok P1 luka dioles gel doksisisiklin 1% 12 jam setelah induksi, dan P2 diberi perlakuan gel doksisisiklin 5% pada waktu yang sama

dengan kelompok P1. Gel dioleskan sebanyak $\pm 0,5$ gr dua kali sehari sampai mencit diterminasi.

3.8.6 Pengambilan Jaringan Kulit

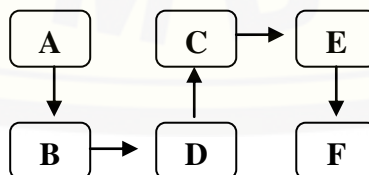
Hewan coba diterminasi pada hari ke-1, 3, 5, 7, dan 15 dengan jumlah dua ekor mencit per kelompok tiap kali terminasi. Setelah itu, jaringan kulit yang diberi perlakuan kemudian diambil dan dibuat sediaan histopatologi. Jaringan kulit yang telah diambil kemudian disimpan dalam formalin 10%. Sediaan kulit diambil terutama pada bagian tengah luka karena proses dermonekrosis bpusat pada tengah luka.

3.8.7 Pembuatan Preparat Histopatologi

Pembuatan preparat histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Sediaan ini menggunakan pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E).

3.8.8 Pengamatan Histopatologi

Pengamatan dilakukan untuk mengamati jumlah fibroblas per lapang pandang pada sediaan histopatologi yang telah dibuat. Sel fibroblas diamati dengan pembesaran 400 kali. Pengamatan dilakukan oleh peneliti dan didampingi oleh ahli yang kompeten dengan metode *blinding* pada enam lapang pandang. Lapang pandang dipilih dengan metode zig-zag sesuai dengan Gambar 3.2. Hasil pengamatan dianalisis menggunakan software imageJ untuk menghitung jumlah sel fibroblas per lapang pandang secara lebih objektif. Hasil dari perhitungan ini kemudian akan dirata-rata (Saputra, 2012).



Gambar 3.2 Lapang pandang yang digunakan untuk menghitung

3.9 Analisis Data

Dari hasil pengamatan yang diperoleh, data dianalisis terlebih dahulu dengan uji normalitas untuk menentukan apakah distribusi kelompok sampel adalah normal, kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas varian untuk menguji variasi populasi. Data yang berdistribusi normal dan homogen akan dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* dengan tingkat kepercayaan 95% yang dilanjutkan dengan uji *LSD (Least Significant Difference)* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Apabila terdapat data yang distribusinya tidak normal atau tidak homogen, maka dilakukan uji Kruskal Wallis.

