

THE COMPARISON OF TETRACYCLINE AND DOXYCYCLINE TREATMENT ON CORNEAL EPITHELIAL WOUND HEALING IN THE RABBIT ACID-BURN MODEL

Dwi Ahmad Yani, Gatut Suhendro
Department of Ophthalmology, Airlangga University/Dr. Soetomo Hospital Surabaya

ABSTRACT

Objective: To demonstrate the comparison of tetracycline and doxycycline in the treatment of corneal epithelial wound healing following acid burning. Material and Methods: Thirteen New Zealand white rabbits (2.5-3 kg) were divided in to three groups and received bilateral acid burns (1N sulfuric acid applied to 5.5 mm diameter circular disc of Whatman 41 filter paper for two minutes). In group 1, four rabbits (eight eyes) served as untreated control. In group 2, four rabbits (eight eyes) received tetracycline (50 mg/kg) orally daily for 14 days. In group 3, five rabbits (ten eyes) received doxycycline (5mg/kg) orally daily for 14 days. The reepithelization was monitored by means of fluorescein staining and slitlamp. Statistical analysis used were one-way annova and chi-square test with significancy of 0.05. Results: After 14 days, the mean diameters of corneal epithelial defect were 3.30 mm, 2.00, and 2.62 mm, respectively. The results of one-way annova test indicated that between the 5th until 10th day of observation, the mean diameters of corneal reepithelization in group 2 and 3 were found to be statistically significant (p<0.05). Our findings indicated that the percentage of corneal epithelial wound healing results in group 1, group 2 and group 3 were 25.0, 50.0, and 50.0%. Using chi-square test, the differences between group 2 and 3 were found to be statistically not significant (p=1.0000). Conclusion: Our experimental study indicated that tetracycline promotes corneal reepithelization in the rabbit acid-burn model compares with doxycycline on the day 5th until 10th. And there is no difference between tetracycline and doxycycline in the treatment of corneal epithelial wound healing after acid burning.

Keywords: corneal epithelial wound healing, doxycycline, rabbit acid-burn model, tetracycline.

Correspondence: Dwi Ahmad Yani, c/q: Departemen/SMF Ilmu Kesehatan Mata, Jl. Mayjend. Prof. Dr.

PENDAHULUAN

Trauma kimia asam adalah trauma pada kornea dan konjungtiva yang disebabkan karena adanya kontak dengan bahan kimia asam yang dapat menyebabkan kerusakan permukaan epitel bola mata, kornea dan segmen anterior yang cukup parah serta kerusakan visus permanen baik unilateral maupun bilateral. Sebagian besar bahan asam hanya akan mengadakan penetrasi terbatas pada permukaan mata, namun bila penetrasi lebih dalam dapat membahayakan visus.

Asam sulfat merupakan penyebab paling sering

dari seluruh trauma kimia asam. Asam sulfat misalnya terdapat pada bahan pembersih yang digunakan dalam industri dan juga baterai. Asam sulfat bereaksi dengan air mata yang melapisi kornea dan mengakibatkan temperatur meningkat (panas) dan terbakarnya epitel kornea dan konjungtiva.

Trauma bahan kimia pada mata merupakan kejadian gawat darurat dan harus diterapi sebagai kegawatdaruratan mata. Sebagian besar penderita adalah kaum muda serta mereka yang berisiko terhadap terjadinya kecelakaan di pabrik, di rumah dan oleh karena kriminalitas. Oleh karena itu

penelitian secara klinis dan laboratoris yang lebih mendalam terhadap trauma kimia pada mata telah dilakukan secara komprehensif.

Semua asam cenderung untuk mengkoagulasi dan mengendapkan protein. Sel-sel terkoagulasi pada permukaan berfungsi sebagai penghalang relatif pada penetrasi asam lebih parah. Protein jaringan juga memiliki efek buffer pada asam, yang berkontribusi pada sifat terlokalisir luka bakar asam.

Terapi segera yang bisa dilakukan adalah dengan memberikan irigasi secara langsung dan menghilangkan sisa bahan-bahan kimia yang masih kontak dengan mata. Terapi medis awal bertujuan agar permukaan bola mata segera mengadakan reepitelisasi dan transdiferensiasi, mempercepat penyembuhan kornea dengan membantu produksi keratosit dan kolagen dan memperkecil terjadinya ulserasi terkait dengan aktivitas kolagen dan

mengendalikan inflamasi. Berbagai macam pengobatan telah dikemukakan untuk menghalangi aktivitas kolagenase. Penelitian yang dilakukan akhir-akhir ini menunjukkan efek antikolagenolitik yang patut dipertimbangkan dari tetrasiklin pada tikus, kelinci, dan manusia in vivo and in vitro, efek yang tidak tergantung pada obat antimikrobal. Doksisisiklin mengikat zinc lebih efektif dibandingkan derivat tetrasiklin lain, juga merupakan penghambat kolagenase yang lebih potensial dibandingkan tetrasiklin atau monosiklin.

BAHAN DAN CARA

Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat eksperimental dengan menggunakan hewan coba kelinci dan hasilnya dianalisis dengan uji anova satu arah dan uji chi square. Penelitian dilakukan selama bulan Juni hingga September 2006 di

Tabel 1. Rerata dan Standar Deviasi diameter horisontal penyembuhan luka kornea berdasarkan uji Anova satu arah

VARIABEL	KELOMPOK						
Diameter	KONTROL		TETRASIKLIN		DOKSISIKLIN		Nilai p
hari ke-	rerata (mm)	SD (mm)	rerata (mm)	SD (mm)	rerata (mm)	SD (mm)	
0.	7.80	1.30	8.10	0.67	7.60	0.83	0.554
1.	7.58	1.14	7.04	0.97	7.08	0.58	0.278
2.	7.05	1.01	6.52	1.50	6.76	0.57	0.481
3.	6.65	0.98	5.96	1.42	6.68	0.63	0.109
4.	6.53 *	1.03	5.58 *	1.20	6.36	0.67	0.031
5.	6.33 *	1.00	4.73 **	1.30	6.20 *	0.65	0.005
6.	6.18 *	1.11	4.00 **	1.77	6.06 *	0.82	0.003
7.	5.48 *	1.84	3.68 **	1.64	5.90 *	0.90	0.011
8.	5.35 *	1.80	3.40 **	1.69	5.56 *	1.27	0.018
9.	5.25 *	1.78	3.25 **	1.78	5.30 *	1.45	0.029
10.	5.05 *	1.75	2.93 **	1.69	4.98 *	1.48	0.022
11.	4.90	1.86	2.65	1.96	4.62	1.60	0.037
12.	4.63	1.20	2.50	2.12	4.14	1.74	0.088
13.	4.10	1.78	2.10	2.27	3.66	1.88	0.128
14.	3.30	2.44	2.00	2.15	2.62	2.31	0.563

Ket: p < 0,05 = Bermakna p ≥ 0,05 = Tidak bermakna

+ Menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok I (kontrol) dan kelompok II (tetrasiklin) pada hari ke-4 hingga hari ke-10

* Menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok II (tetrasiklin) dan kelompok III (doksisisiklin) pada hari ke-5 hingga hari ke-10

Laboratorium Biomedik Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya.

Subyek penelitian adalah hewan coba kelinci dengan berat badan 2,5 hingga 3 kilogram, yang mendapat perlakuan sesuai dengan klasifikasi Thoft derajat 3, dan tidak mengalami kelainan baik pada mata maupun pada kondisi kesehatan secara umum.

Penelitian dilakukan terhadap 30 mata dari 15 hewan coba kelinci. Seluruh subyek penelitian dibagi ke dalam tiga kelompok, yaitu kelompok kontrol, tetrasiklin dan doksisisiklin, masing-masing sebanyak 10 mata. Dalam perjalanan penelitian satu kelinci dari kelompok kontrol mati pada hari ke-1 dan satu kelinci dari kelompok tetrasiklin mati pada hari ke-5. Hingga hari ke-14 penelitian diperoleh jumlah total subyek penelitian sebanyak 26 mata, kelompok kontrol (kelompok I) sebanyak 8 mata, kelompok yang mendapat terapi tetrasiklin 4 x 250 mg/hari (kelompok II) sebanyak 8 mata, dan kelompok yang mendapat terapi doksisisiklin 2 x 50 mg/hari (kelompok III) sebanyak 10 mata.

Variabel penelitian yang diukur adalah diameter horisontal penyembuhan luka kornea dan kesembuhan luka kornea. Pengamatan dilakukan setiap hari hingga hari keempat belas atau hingga hasil tes fluoresin hilang. Luka kornea diperiksa dengan menggunakan fluoresin dan dilihat dengan pemeriksaan lampu celah biomikroskop. Kemudian dilakukan penilaian terhadap perubahan diameter horisontal luka kornea.

HASIL PENELITIAN

Pada tabel 1 dapat dilihat rerata diameter horisontal luka kornea sejak hari ke-0 hingga hari ke-14. Pada kelompok I (kontrol) didapatkan rerata hari ke-0 = 7,80 mm hingga hari ke-14 = 3,30 mm; kelompok II (tetrasiklin) didapatkan rerata hari ke-0 = 8,10 mm hingga hari ke-14 = 2,00 mm; dan kelompok III (doksisisiklin) didapatkan rerata hari ke-0 = 7,60 mm hingga hari ke-14 = 2,62 mm. Hasil rerata dan standar deviasi diameter luka kornea berdasarkan uji Anova satu arah. Tanda (*) menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok I (kontrol) dan kelompok II (tetrasiklin) pada hari ke-4 hingga hari ke-10, dimana kelompok tetrasiklin memiliki rerata diameter luka kornea lebih kecil dibandingkan dengan kelompok kontrol. Tanda (*)

menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok II (tetrasiklin) dan kelompok III (doksisisiklin) pada hari ke-5 hingga hari ke-10, dimana rerata diameter luka kornea pada kelompok tetrasiklin lebih kecil dibandingkan dengan kelompok doksisisiklin.

Pada tabel 2, dari hasil perbandingan kesembuhan luka kornea antara kelompok tetrasiklin dan doksisklin dengan uji chi square didapatkan nilai $p=1.000$ ($p \geq 0.05$), yang berarti terdapat perbedaan yang tidak bermakna pada kesembuhan luka kornea antara kelompok terapi tetrasiklin dengan doksisisiklin.

Tabel 2. Perbandingan kesembuhan luka kornea antara kelompok tetrasiklin dan kelompok doksisisiklin berdasarkan uji Chi Square.

	Sembuh		Tak Sembuh		Total	
	Mata	%	Mata	%	Mata	%
TETRASIKLIN	4	50	4	50	8	100
DOKSISIKLIN	4	40	6	60	10	100

Uji Chi Square $p = 1,000$

Tabel 3. Perbandingan kesembuhan luka kornea antara kelompok kontrol dan kelompok tetrasiklin berdasarkan uji Chi Square

	Sembuh		Tak Sembuh		Total	
	Mata	%	Mata	%	Mata	%
KONTROL	2	25	6	75	8	100
TETRASIKLIN	4	50	4	50	8	100

Uji Chi Square $p = 0,608$ (TB)

Tabel 4. Perbandingan kesembuhan luka kornea antara Kelompok Kontrol dan Kelompok Doksisisiklin berdasarkan uji Chi Square

	Sembuh		Tak Sembuh		Total	
	Mata	%	Mata	%	Mata	%
KONTROL	2	25	6	75	8	100
DOKSISIKLIN	4	40	6	60	10	100

Uji Chi Square $p = 0,638$

Pada tabel 3, dari uji Chi Square yang dilakukan terhadap perbandingan kesembuhan luka kornea antara kelompok kontrol dengan tetrasiklin dimana nilai $p = 0,608$ ($p \geq 0,05$), menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang tidak bermakna pada kesembuhan luka kornea antara kelompok kontrol dan tetrasiklin.

Pada tabel 4, dari hasil perbandingan kesembuhan luka kornea antara kelompok kontrol dan doksisklin, dengan uji chi square didapatkan nilai $p = 0,638$ ($p \geq 0,05$), menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang tidak bermakna pada kesembuhan luka kornea antara kelompok kontrol dan doksisisiklin.

DISKUSI

Pada tabel 1 diambil rerata hasil pengukuran diameter horisontal luka kornea masing-masing kelompok dari hari ke-0 hingga hari ke-14. Rerata diameter horisontal luka kornea di hari terakhir penelitian pada kelompok tetrasiklin (2,00 mm) dan doksisisiklin (2,62 mm) menunjukkan rerata diameter horisontal yang lebih kecil dibandingkan dengan kelompok kontrol (3,30 mm). Nip dan kawan-kawan menunjukkan bahwa tetrasiklin adalah penghambat gelatinase yang signifikan sehingga mengarahkan efek protektif terhadap pencernaan dari membran dasar dan jaringan konektif subepitel yang dimediasi oleh sel-sel epitel.⁷

Pada tabel 2, hasil uji chi square terhadap kesembuhan luka kornea antara kelompok. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilaporkan oleh Burns dan kawan-kawan, bahwa hingga saat ini tetrasiklin, minosiklin dan doksisisiklin telah diuji dan terbukti efektif sebagai penghambat kolagenase. Derivat tetrasiklin terbukti efikasinya dalam mengurangi aktivitas kolagenase, dan ulserasi kornea pada trauma kimia eksperimental. Efeknya tidak bergantung pada sifat antimikrobia dan mungkin terkait dengan ikatan zinc pada sisi aktif enzim antara kelompok tetrasiklin dan doksisisiklin.² Tetrasiklin yang diberikan secara sistemik menghambat kolagenase neutrofil yang berkontribusi pada perlukaan stroma kornea setelah trauma kimia terjadi.⁷ Pada tetrasiklin dan doksisisiklin didapatkan perbedaan yang tidak bermakna.

Kesembuhan pada kelompok tetrasiklin sebesar 50% yaitu 4 dari 8 mata, sedangkan kelompok doksisisiklin sebesar 40% yaitu 4 dari 10 mata. Hal ini tidak sesuai dengan pengamatan akhir-akhir ini yang telah dikonfirmasi oleh Burns dan kawan-kawan, melaporkan bahwa doksisisiklin lebih kuat untuk menghambat enzim kolagenase daripada tetrasiklin atau minosiklin. Penelitian yang dilakukan oleh Burns dan kawan-kawan, melaporkan bahwa doksisisiklin merupakan penghambat kolagenase yang lebih potensial dibandingkan tetrasiklin atau minosiklin. Pada penelitian ini konsentrasi yang dibutuhkan untuk mensupresi aktivitas kolagenase sebanyak 50% ialah sebesar 15 μM untuk doksisisiklin, 190 μM untuk minosiklin, dan 350 μM untuk tetrasiklin. Sehingga doksisisiklin bisa dipakai dalam dosis yang lebih rendah untuk meminimalisasi terjadinya efek samping obat.⁷

Pada tabel 3, kesembuhan pada kelompok tetrasiklin sebesar 50% yaitu 4 dari 8 mata, sementara kelompok kontrol 25% yaitu 2 dari 8 mata. Namun dari uji chi square terhadap kesembuhan luka kornea antara kelompok kontrol dan tetrasiklin, tidak terdapat perbedaan bermakna.

Demikian pula pada uji chi square tabel 4 terhadap kesembuhan luka kornea antara kelompok kontrol dan doksisklin, tidak terdapat perbedaan bermakna. Kesembuhan pada kelompok doksisisiklin sebesar 40% yaitu 4 dari 10 mata, sementara kelompok kontrol 25% yaitu 2 dari 8 mata.

Tidak terdapatnya perbedaan yang bermakna pada hasil pengobatan antara tetrasiklin dengan doksisisiklin terhadap tingkat kesembuhan luka kornea akibat trauma kimia asam juga dipengaruhi oleh karakteristik kimia asam yang dapat menyebabkan presipitasi dan denaturasi protein pada epitel kornea dan permukaan kornea, sehingga sel-sel yang terkoagulasi berfungsi sebagai penghalang relatif pada penetrasi asam yang lebih lanjut. Protein jaringan juga memiliki efek buffer pada asam yang bersifat melokalisasi luka kornea akibat trauma kimia asam.^{2,8}

Pada trauma kimia asam, pemberian irigasi

THE COMPARISON OF TETRACYCLINE



dilakukan secepat mungkin dan intensif, dimana makin cepat bahan-bahan asam dihilangkan dari permukaan mata makin kecil komplikasi yang terjadi. Demikian pula dalam penelitian ini dimana hingga hari terakhir penelitian yaitu hari ke-14, tingkat kesembuhan di antara ketiga kelompok (kontrol, tetrasiklin, dan doksisisiklin) tidak didapatkan perbedaan.

Kelemahan pada penelitian ini adalah keterbatasan dana, fasilitas penelitian, dan sulitnya perlakuan terhadap hewan coba. Yang kedua, akurasi pengukuran diameter horisontal luka kornea, dimana pada penelitian ini digunakan lampu celah biomikroskop saja tanpa didukung oleh pengukuran menggunakan foto digital yang terkomputerisasi. Kedua hal tersebut dikarenakan keterbatasan alat dan kemampuan peneliti dalam melakukan pengukuran.

Untuk itu masih perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan meminimalkan kelemahan pada penelitian ini, yaitu dengan pengukuran diameter luka kornea secara digital dengan software yang mendukung.

KESIMPULAN

Dari penelitian terhadap hewan coba kelinci selama 14 hari, dapat kami simpulkan bahwa terdapat perbedaan antara pengobatan tetrasiklin dengan doksisisiklin dalam hal perkembangan rerata diameter horisontal penyembuhan luka kornea dari hari ke-5 hingga hari ke-10. Pada kelompok yang mendapat terapi tetrasiklin, rerata diameter horisontal penyembuhan luka kornea pada hari ke-5 hingga hari ke-10 lebih kecil dibandingkan kelompok

doksisisiklin.

Pada penelitian ini didapatkan pula bahwa tidak terdapat perbedaan pada hasil pengobatan dalam hal kesembuhan luka kornea akibat trauma kimia asam antara tetrasiklin dengan doksisisiklin, dimana pada penelitian ini dilihat pada hari ke-14.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cassin B, Solomon SA, 1997. Dictionary of Eye Terminology, 3th ed. Florida. 25.
2. Wagoner Michael D, MD. 1997. Major Review: Chemical Injuries of the Eye: Current Concepts in Pathophysiology and Therapy. Elsevier Science Inc. Survey of Ophthalmology, 41(4): 277-316.
3. Ilyas S., 1998: Penuntun Ilmu Penyakit Mata. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 120-122.
4. Vaughan D, et al, 2004. General Ophthalmology. 16th ed, Appleton Lange, London-Sydney. 377.
5. McCulley JP, Moore TE, 1984. Chemical Injuries of the Eye. Corneal Disorder: Clinical Diagnosis and Management. WB Saunders Company. 471-496.
6. Perry HD, Hodes LW, Seedor JA et al, 1993. Effect of Doxycycline Hyclate on Corneal Epithelial Wound Healing in the Rabbit Alkali-Burn Model. Cornea. 19(3): 379-382.
7. Ralph RA, MD, 2000. Tetracyclines and the Treatment of Corneal Stromal Ulceration: A Review. Lippincott Williams & Wilkins, Inc., Philadelphia. 19(3): 274-277.
8. Smith VA, SD Cook, 2004. Doxycycline a Role in Ocular Surface Repair. Br. J. Ophthalmol. 88;619-625.