

Karakterisasi *In Vitro* Dan *In Vivo* Komposit Alginat - Poli Vinil

Alkohol – ZnO Nano Sebagai *Wound Dressing* Antibakteri

Perwitasari F. L. R¹, Aminatun², S. Sumarsih³

¹ Program Studi Teknobiomedik Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga

² Program Studi Fisika Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga

³ Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga

Email : perwitasariflr@gmail.com

Abstract

Tendency of wound healing at present is moist wound healing, which means that the environment moisture around the wound is maintained to accelerate the healing process. In this study, alginate-poly vinyl alcohol-nano ZnO hydrogel was made and characterized by *in vitro* and *in vivo* as wound dressing. The preparation of hydrogel was performed using a conventional method by mixing all of materials which afterwards was molded on a plain glass plate. Alginate-poly vinyl alcohol hydrogel was made by adding various compositions of nano ZnO (0.25, 0.5, and 0.75%). The formed hydrogel was characterized by using FT-IR, anti-bacterial activity, and *in vivo* assay. The FT-IR spectrum showed the interaction between alginate and poly vinyl alcohol which was indicated by the formation of carbonyl and hydroxyl groups at the wavenumber of 1639 cm^{-1} and 3423 cm^{-1} . The hydrogel containing nano ZnO had anti-bacterial activity toward *Staphylococcus aureus*. The increasing composition of nano ZnO, increased inhibition of the *Staphylococcus aureus* growth that shown by inhibition wide. The MIC value was obtained in the hydrogel containing 0.25% nano ZnO, whereas the MBC value was obtained in the hydrogel containing 0.75% nano ZnO. Alginate-poly vinyl alcohol-nano ZnO hydrogel could accelerate the wound healing. It was shown by the *in vivo* assay on mice, of which the wound was healed in the range of the third until the fifth day, compared with the control which was still unhealed even until the seventh day.

Keywords : hydrogel, alginate, poly vinyl alcohol, nano ZnO, wound dressing, anti-bacterial

Abstrak

Kecenderungan penyembuhan luka pada saat ini adalah *moist wound healing* yang berarti kelembaban lingkungan di sekitar luka dijaga sehingga dapat mempercepat penyembuhan. Pada penelitian ini telah dibuat hidrogel alginat-poli vinil alkohol-ZnO nano sebagai *wound dressing* dan dikarakterisasi secara *in vitro* dan *in vivo*. Pembuatan hidrogel dilakukan dengan cara konvensional mencampurkan semua bahan dalam bentuk larutan dan dicetak pada plat kaca. Hidrogel alginat dan poli vinil alkohol dibuat dengan menambahkan konsentrasi ZnO nano yang berbeda (0,25; 0,5; dan 0,75%). Hidrogel alginat-poli vinil alkohol-ZnO nano yang terbentuk dikarakterisasi menggunakan uji FT-IR, uji antibakteri, dan uji *in vivo*. Hasil uji FTIR menunjukkan terbentuknya ikatan antara alginat dan poli vinil alkohol yang dapat ditunjukkan oleh terbentuknya gugus karbonil dan hidroksil pada bilangan gelombang 1639 cm^{-1} dan 3423 cm^{-1} . Hasil uji antibakteri menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ZnO nano yang digunakan, semakin luas zona inhibisi pada kultur mikroba uji *Staphylococcus aureus*. Nilai MIC didapatkan pada hidrogel dengan konsentrasi ZnO nano 0,25%, sedangkan nilai MBC didapatkan pada hidrogel dengan konsentrasi ZnO nano 0,75%. Hidrogel alginat-poli vinil alkohol-ZnO nano dapat mempercepat penyembuhan luka yang ditunjukkan dari hasil uji *in vivo* pada mencit yaitu luka sembuh pada kisaran hari ke-3 hingga hari ke-5 dibandingkan dengan kontrol yang masih belum sembuh hingga hari ke-7.

Kata kunci : hidrogel, alginat, poli vinil alkohol, ZnO nano, *wound dressing*, antibakteri

Pendahuluan

Kulit mempunyai beberapa fungsi utama yang penting untuk tubuh, yaitu sebagai termoregulasi, sintesis metabolik, dan pelindung. Adanya suatu trauma baik itu secara mekanik, kimia, radiasi, dan lainnya akan menyebabkan struktur kulit rusak dan menimbulkan suatu keadaan yang disebut sebagai luka (Carville, 2008). Penanganan luka harus diperhatikan dengan baik. Luka sebaiknya tidak dibiarkan kering atau basah, suasana di sekitar luka seharusnya dikondisikan lembab karena sejatinya kulit normal manusia adalah dalam suasana *moist* atau lembab.

Apabila luka dibiarkan terbuka, maka luka akan terpapar langsung dengan udara, akibatnya bakteri dapat dengan mudah menginfiltrasi luka dan menyebabkan infeksi sekunder. Selain itu, cairan luka dapat dengan mudah mengering dan sel epitel tidak dapat tertata dengan baik seperti semestinya. Cairan luka yang mengering akan menjadi keropeng dan mengakibatkan terbentuknya jaringan parut saat luka mulai sembuh. Maka dari itu penutup luka sangat dibutuhkan untuk membuat suasana di sekitar luka menjadi *moist* atau lembab. Penutup luka yang ideal juga harus dapat memungkinkan pertukaran gas, bertindak sebagai penghalang mikroba, tidak toksik, tidak menyebabkan alergi, terbuat dari biomaterial yang melimpah ketersediaan bahannya, serta memiliki efek penyembuhan luka (Jayakumar *et al.*, 2011).

Beberapa tahun terakhir, tekstil medis banyak dikembangkan dan diproduksi dari berbagai macam bahan, salah satunya adalah berasal dari alginat. Alginat merupakan suatu polisakarida yang terdiri atas residu β -(1-4)-D-asam manuronat (M) dan α -(1-4)-L-asam guluronat (G), yang tersusun dalam blok-blok homopolimer dari masing masing tipe (MM,GG) dan dalam blok-blok heteropolimer (MG). Alginat bersifat non toksik, non alergik, dan dapat terurai dalam tubuh (*biodegradable*). Penelitian terdahulu membuktikan membran alginat memiliki daya serap tinggi, bersifat antibakteri, dan dapat mempercepat penyembuhan luka (Haryanto dan Sumarsih, 2008).

Sifat kaku dan rapuh merupakan kelemahan dari alginat dan untuk memperbaiki sifat tersebut, alginat dapat dicampurkan dengan polimer vinil

yang biokompatibel seperti poli vinil alkohol (PVA) dan poli etilen oksida (PEO) (Shalumon *et al.*, 2010). PVA merupakan salah satu polimer yang larut dalam air, memiliki kemampuan membentuk serat yang baik, biokompatibel, memiliki ketahanan kimia, dan biodegradabel. Pada penelitian Shalumon *et al.* (2010), PVA dapat berinteraksi dengan natrium alginat melalui metode *electrospinning* membentuk komposit.

Salah satu karakteristik yang dibutuhkan dalam pembuatan penutup luka dan tidak boleh diabaikan adalah memiliki sifat antimikroba, diantara material alam yang memiliki sifat tersebut salah satunya adalah seng oksida. Seng oksida (ZnO) terdaftar sebagai bahan yang aman digunakan oleh *US Food and Drug Administration* (FDA). Partikel ZnO berukuran nano memiliki aktivitas antimikroba lebih baik dari partikel besar, karena ukuran kecil (kurang dari 100 nm) dan luas permukaan nanopartikel memungkinkan interaksi yang lebih baik dengan bakteri. Studi terbaru menunjukkan bahwa nanopartikel memiliki toksisitas selektif untuk bakteri dan dapat mengurangi lama proses inflamasi (Walton dan Torabinejad, 1998).

Pada penelitian Shalumon *et al.* (2010), penutup luka dibuat menggunakan metode *electrospinning*, akan tetapi metode tersebut masih sulit diaplikasikan di Indonesia karena keterbatasan alat. Berdasarkan permasalahan tersebut, pada penelitian ini penulis hendak memadukan alginat–poli vinil alkohol–ZnO nano dengan metode pencampuran yang lebih sederhana yaitu menggunakan metode hidrogel. Penambahan ZnO maksimal sebatas 5% memberikan efek antibakteri paling baik diantara variasi yang dilakukan akan tetapi dosis tersebut memiliki tingkat biokompatibilitas rendah (Shalumon *et al.*, 2010), sehingga dalam penelitian ini digunakan komposisi ZnO nano yang paling rendah berdasarkan saran penelitian tersebut. Penelitian Shalumon *et al.* (2010) masih berlangsung pada tahap *in vitro*, sedangkan pada penelitian ini, dilanjutkan dengan karakterisasi secara *in vivo* menggunakan hewan coba untuk mengetahui efek pada proses penyembuhan luka. Harapan dari penelitian ini adalah penulis dapat mensintesis penutup luka yang memiliki karakteristik antara lain : sifat-sifat biokompatibilitas, memiliki aktivitas antibakteri dibuktikan melalui uji

antibakteri pada mikroba uji *Staphylococcus aureus*, dapat menyerap eksudat berlebih yang diamati melalui kondisi hewan coba secara makroskopis, dan dapat mempercepat penyembuhan luka yang diamati dari hari penyembuhan.

Bahan Dan Metode

1. Bahan

Alginat, poli vinil alkohol (PVA), ZnO nano, aquades, asam sitrat, bakteri *Staphylococcus aureus*, MSA (*Manitol Salt Agar*), MHA (*Mueller-Hinton Agar*), MHB (*Mueller-Hinton Broth*), mencit.

2. Metode

Paduan 16 gram PVA dan 2 gram alginat dibuat dalam 200 ml larutan, lalu dibagi menjadi sampel K, A, B, dan C dengan ditambahkan variasi komposisi ZnO nano 0%, 0,25%, 0,5%, dan 0,75%. Masing-masing sampel diaduk secara homogen menggunakan magnetic stirrer pada suhu 70°C selama 1 jam. Hidrogel yang terbentuk, dituang lalu diratakan pada plat kaca yang sudah dilapisi kasa steril sebelumnya. Hasil yang didapat dibiarkan pada suhu kamar sampai mengering.

3. Karakterisasi

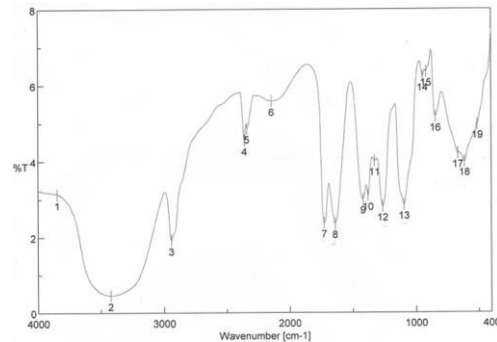
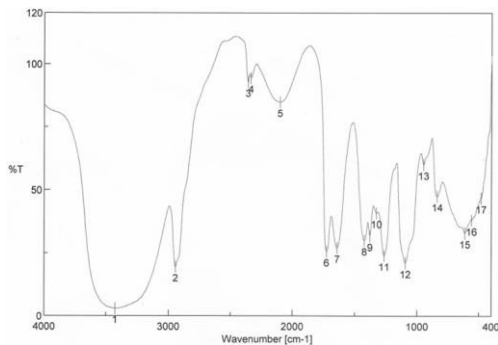
Beberapa uji dilakukan, antara lain uji FT-IR, uji antibakteri, dan uji in vivo. Hasil dari masing-masing uji kemudian dianalisa.

Hasil Dan Pembahasan

1. Hasil Uji FT-IR

Interaksi antara alginat dan PVA dalam paduan dapat ditunjukkan dari ikatan hidrogen yang terdapat pada hasil FT-IR pada Gambar 1. Gugus karbonil (C=O) alginat ditunjukkan pada bilangan gelombang 1635 cm⁻¹ dan gugus hidroksil (-OH) pada bilangan gelombang 3457 cm⁻¹. Gugus karbonil (C=O) PVA ditunjukkan pada bilangan gelombang 1635 cm⁻¹ dan gugus hidroksil (-OH) pada bilangan gelombang 3444 cm⁻¹ (Shalumon *et al.*, 2011). Spektrum FT-IR pada Gambar 1 merupakan spektrum paduan alginat dan PVA.

Gugus karbonil (C=O) alginat-PVA ditunjukkan pada bilangan gelombang 1640 cm^{-1} dan gugus hidroksil (-OH) pada bilangan gelombang 3426 cm^{-1} . Gugus hidroksil yang dihasilkan relatif luas dimungkinkan akibat beberapa ikatan antarmolekul hidrogen alginat dan PVA. Sedangkan spektrum FT-IR hidrogel alginat-PVA-ZnO nano ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 1. Spektrum FT-IR alginat-PVA Gambar 2. Spektrum FT-IR alginat-PVA-ZnO 0,75%

Gambar 2 merupakan spektrum FT-IR hidrogel alginat-PVA-ZnO nano 0,75% yang dipilih untuk mewakili uji FT-IR hidrogel dengan berbagai variasi komposisi ZnO nano yang dibuat. Gugus karbonil (C=O) alginat-PVA ditunjukkan pada bilangan gelombang 1639 cm^{-1} dan gugus hidroksil (-OH) pada bilangan gelombang 3423 cm^{-1} . Sedangkan ZnO ditunjukkan pada bilangan gelombang 560 cm^{-1} (Shalumon *et al.*, 2010), pada Gambar 2 ditunjukkan keberadaan ZnO pada bilangan gelombang 613 cm^{-1} . Terdapat sedikit pergeseran bilangan gelombang yang menunjukkan bahwa ZnO telah berikatan dengan senyawa lain dalam hidrogel.

2. Hasil Uji Antibakteri

Metode Cakram Kertas

Hasil uji cakram kertas menunjukkan bahwa hidrogel alginat-PVA tanpa ZnO nano sebagai kontrol tidak menunjukkan sifat antibakteri karena tidak terbentuk *halo* atau zona inhibisi. Sedangkan uji antibakteri hidrogel alginat-PVA-ZnO nano pada mikroba uji *Staphylococcus aureus* menggunakan metode

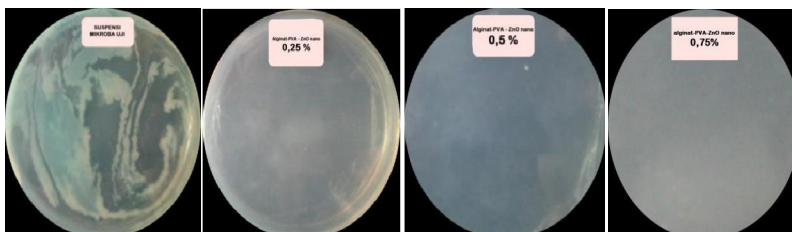
cakram kertas menunjukkan hasil positif yang berarti terdapat aktivitas penghambatan pada pertumbuhan mikroba uji. Aktivitas penghambatan ditunjukkan dengan terbentuknya zona inhibisi di sekitar cakram kertas (*paper disc*) yang telah diinjeksi hidrogel dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Rata-rata diameter zona inhibisi hidrogel alginat-PVA-ZnO nano 0,25% sebesar (7,95 1,95) mm, rata-rata diameter zona inhibisi hidrogel alginat-PVA-ZnO nano 0,5% sebesar (9,93 4,26) mm, rata-rata diameter zona inhibisi hidrogel alginat-PVA-ZnO nano 0,75% sebesar (11,87 2,89) mm. Hasil pengamatan zona inhibisi secara pengukuran pada uji cakram kertas diperkuat menggunakan uji statistik *One-Way ANOVA* dengan taraf kemaknaan $\alpha = 0.05$. Sebelum dilakukan uji statistik seluruh kelompok, sebelumnya dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas untuk menentukan kenormalan dan keseragaman hasil penelitian pada setiap kelompok. Nilai p yang didapat dari uji normalitas adalah sebesar >0.150 , karena nilai $p > 0.05$ artinya data berdistribusi normal. Nilai p yang didapat dari uji homogenitas adalah sebesar 0.623, karena nilai $p > 0.05$ artinya data bervariasi homogen. Berdasarkan uji *One-Way ANOVA* didapatkan nilai p sebesar 0.004 yang berarti $p < 0.05$ sehingga hipotesis dapat diterima, artinya ada pengaruh yang signifikan dari variabel perlakuan yang diberikan.

Metode Pengenceran dalam Tabung

Beberapa variasi konsentrasi ZnO nano yang digunakan dalam penelitian menunjukkan hasil yang berbeda pada jumlah koloni yang terbentuk pada kultur uji *S. aureus*. Penurunan jumlah koloni dibandingkan dengan kontrol menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan oleh hidrogel alginat-PVA yang mengandung ZnO nano terhadap mikroba uji. Peningkatan konsentrasi ZnO nano menyebabkan penurunan jumlah koloni yang terbentuk.

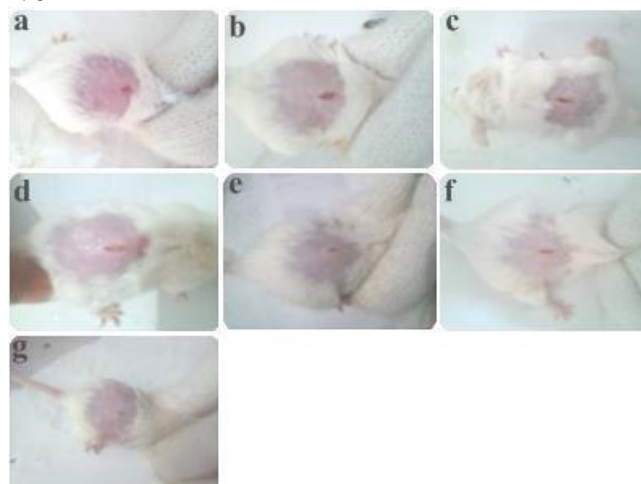
Jumlah koloni mulai menurun dari keadaan menyebar (tidak dapat dihitung) menjadi 10 koloni pada sampel alginat-PVA-ZnO nano 0,25% dan menurun dari 10 koloni menjadi 1 koloni pada sampel alginat-PVA-ZnO nano 0,5%. Sehingga pada konsentrasi tersebut dinyatakan sebagai nilai MIC hidrogel alginat-PVA-ZnO nano terhadap *S. aureus*. Koloni bakteri mulai tidak nampak pada sampel alginat-PVA-ZnO nano 0,75%. Sehingga pada konsentrasi tersebut

dinyatakan sebagai nilai MBC hidrogel alginat-PVA-ZnO nano terhadap *S. aureus*. Hidrogel alginat-PVA-ZnO nano mampu menghambat pertumbuhan mikroba uji pada nilai MIC 0,25% dan 0,5%, artinya *S. aureus* merupakan bakteri Gram-positif yang rentan terhadap hidrogel alginat-PVA-ZnO nano. Hal tersebut didukung oleh Shalumon, *et al.* (2010), yang menyatakan bahwa ZnO nano menunjukkan sifat toksisitas untuk beberapa bakteri Gram-positif dan Gram-negatif. Mekanisme antibakteri dapat dilihat dari interaksi ZnO nano dengan gugus fosfor dalam DNA, mengakibatkan inaktivasi DNA replikasi, bereaksi dengan sulfur yang mengandung protein, sehingga menyebabkan penghambatan fungsi enzim pada bakteri (Fanny dan Silvia, 2012).



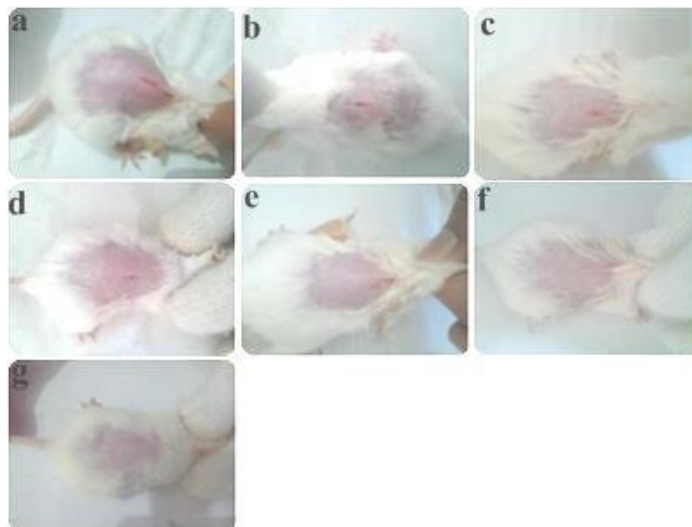
Gambar 3. Koloni Bakteri pada Cawan Petri Hasil Kultur Uji Dilusi *Staphylococcus aureus* dengan Penambahan Hidrogel Berbagai Variasi Konsentrasi dan Inkubasi Selama 24 jam

3. Hasil Uji In Vivo



Gambar 4. Kondisi luka mencit kelompok kontrol. (a) hari ke-1, (b) hari ke-2, (c) hari ke-3, (d) hari ke-4, (e) hari ke-5, (f) hari ke-6, dan (g) hari ke-7

Gambar 4 menunjukkan proses penyembuhan luka pada kelompok kontrol negatif pada hari ke-1 sampai hari ke-7. Gambar 4 (c) menunjukkan kondisi luka pada hari ke-3, pada tepi luka masih terdapat kemerahan, tidak terjadi edema di sekeliling luka, terdapat cairan pada luka, jaringan granulasi tidak terlihat pada luka, dan luka masih terbuka. Kondisi luka pada hari ke-5 ditunjukkan pada Gambar 4 (e), kondisi luka tidak menunjukkan penyembuhan yang signifikan karena masih terdapat kemerahan, tidak terjadi edema di sekeliling luka, masih terdapat cairan pada luka, jaringan granulasi tidak terlihat pada luka, dan luka masih terbuka. Kondisi luka pada hari ke-7 pada Gambar 4 (g) mulai menunjukkan tanda awal penyembuhan ditandai dengan sudah tidak ada kemerahan pada tepi luka, tidak terdapat edema di sekeliling luka, sudah tidak terdapat cairan pada luka, terdapat sedikit jaringan granulasi pada sebagian luka, dan tepi luka menyatu sebagian (masih terbuka sebagian).



Gambar 5. Kondisi luka mencit kelompok P3 (Luka Insisi Diberi Hidrogel Alginat – PVA – Zno Nano 0,75%). (a) hari ke-1, (b) hari ke-2, (c) hari ke-3, (d) hari ke-4, (e) hari ke-5, (f) hari ke-6, dan (g) hari ke-7

Gambar 5 menunjukkan proses penyembuhan luka pada kelompok P3 pada hari ke-1 sampai hari ke-7. Gambar 5 (c) menunjukkan kondisi luka pada hari ke-3, pada tepi luka masih terdapat sedikit kemerahan, tidak terjadi edema di sekeliling luka, tidak terdapat cairan pada luka, jaringan granulasi terlihat pada sebagian besar bagian luka, dan sebagian luka sudah tertutup.

Gambar 5 (e) dan (g) menunjukkan kondisi luka pada hari ke-5 dan ke-7, nampak bahwa luka pada mencit telah sembuh ditandai dengan tidak terdapat kemerahan pada tepi luka, tidak terjadi edema di sekeliling luka, tidak terdapat cairan pada luka, jaringan granulasi terlihat pada seluruh bagian luka, dan luka sudah tertutup sempurna. Penyembuhan luka pada kelompok P3 merupakan penyembuhan terlama diantara kelompok perlakuan. Penyembuhan sempurna kelompok P3 terjadi pada hari ke-5, pada hari ke-7 sebagian kecil kulit mencit yang dicukur untuk perlukaan sudah mulai tumbuh bulu.

Fase inflamasi pada proses penyembuhan luka ditandai dengan adanya kemerahan pada tepi luka, edema dan cairan luka. Sedangkan pada fase proliferasi ditandai dengan adanya granulasi dan penyatuan tepi luka. Data yang diperoleh dari tanda fase inflamasi dan tanda fase proliferasi setiap kelompok pada hari ke-3, ke-5, dan ke-7 setelah diberi luka insisi dicatat pada lembar observasi. Hasil pengamatan patologi anatomi diperkuat dengan uji statistik *Two-Way ANOVA* dengan taraf kemaknaan $\alpha = 0.05$. Sumber keragaman (*source of variability*) pada analisis *One-Way ANOVA* hanya ada satu dalam variabel terikat (dependen variabel), yakni kelompok dalam populasi yang sedang dikaji. Terkadang identifikasi adanya dua faktor yang menyebabkan perbedaan dalam variabel terikat juga diperlukan. Pada uji *Two-Way ANOVA* terdapat dua atau lebih variabel independen, sedangkan pada penelitian ini variabelnya adalah perlakuan dan hari.

Tabel 1. Hasil Uji Statistik *Two-Way ANOVA* untuk Pengamatan Patologi Anatomi

Fase	Tanda	<i>p value</i>			
		normalitas	homogenitas	variabel perlakuan	hari
Inflamasi	Kemerahan	> 0.150	0.638	0.000	0.002
	Cairan luka	> 0.150	0.964	0.000	0.007
Proliferasi	Granulasi	> 0.150	0.966	0.000	0.013
	Tepi Luka	> 0.150	0.964	0.000	0.007

Sebelum dilakukan uji statistik seluruh kelompok, sebelumnya dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas untuk menentukan kenormalan dan keseragaman hasil penelitian pada setiap kelompok dan hasilnya tertera pada Tabel 1. Nilai p yang didapat dari uji normalitas seluruh kelompok adalah sebesar > 0.150 , karena nilai $p > 0.05$ artinya data berdistribusi normal. Nilai p yang didapat dari uji homogenitas bervariasi akan tetapi masih > 0.05 , nilai $p > 0.05$ artinya data bervariasi homogen. Berdasarkan uji *Two Way ANOVA* didapatkan nilai p untuk perlakuan pada seluruh kelompok sebesar 0.000 dan p untuk hari pada seluruh kelompok bervariasi akan tetapi masih < 0.05 , nilai $p < 0.05$ sehingga hipotesis dapat diterima, artinya ada pengaruh yang signifikan dari variabel perlakuan dan hari yang diberikan.

Pada penelitian ini tidak dapat dilakukan uji statistik untuk respon edema karena mulai hari ke-3, ke-5, sampai hari ke-7 tidak terjadi edema sehingga tidak ada nilai yang dimunculkan. Penyebab edema adalah meningkatnya permeabilitas pembuluh darah pada daerah peradangan dan mengakibatkan kebocoran protein (Price dan Wilson, 2006). Berdasarkan penelitian, tidak ada edema pada semua kelompok.

Pembahasan

Pertimbangan dalam menutup dan membalut luka sangat tergantung pada penilaian kondisi luka. Penutup luka selain berfungsi untuk melindungi jaringan baru, juga diharapkan dapat mempercepat proses penyembuhan luka. Berdasarkan cara pembuatan, penutup luka dibagi menjadi produk tenun (kasa perban) dan produk *non-woven* (lembaran, membran, dan komposit), sedangkan berdasarkan cara penggunaan dibagi menjadi *primary dressing* (kontak dengan luka) dan *secondary dressing* (digunakan setelah pembalut utama). *Primary dressing* harus memiliki kemampuan menyerap cairan luka, menjaga suhu sekitar luka, mampu mengatur uap air dan gas yang keluar dari luka, sehingga luka menjadi lembab dan penyembuhan menjadi lebih cepat (Edward *et al.*, 2006).

Pembalut luka primer umumnya merupakan produk komposit yang dilapisi oleh lapisan tipis yang berfungsi sebagai pelindung luka agar mudah

dilepaskan sehingga tidak merusak jaringan baru. Produk yang sesuai dengan persyaratan tersebut salah satunya adalah alginat karena mempunyai daya absorpsi yang tinggi, dapat menjaga keseimbangan lembab di sekitar luka, elastis, non-toksik, non-alergenik, non-karsinogenik, biodegradabel dan biokompatibel (Heenan, 2007).

Membran alginat akan membentuk suatu gel apabila kontak dengan luka yang basah, karena terjadinya pertukaran ion kalsium dari dalam bahan tersebut dengan ion natrium dari cairan luka (Mury *et al.*, 2005). Pada tahun 1998, Shogren *et al.* menambahkan PVA untuk meningkatkan kekuatan, fleksibilitas, dan ketahanan *foam* berbasis pati. Hal itu dilakukan karena *foam* berbasis pati memiliki sifat yang rapuh dan sensitif terhadap air sehingga membutuhkan perlakuan lebih lanjut. Penambahan PVA tidak mempengaruhi biodegradabilitas *foam* karena PVA adalah bahan plastik yang mampu terurai di alam (Lee *et al.*, 2008).

Alginat merupakan salah satu kelompok polisakarida yang juga memiliki sifat yang rapuh dan sensitif terhadap air sehingga pada penelitian ini alginat dipadukan dengan PVA agar suasana di sekitar luka tetap lembab saat alginat mengabsorpsi cairan luka, serta sifat mekanik tetap terjaga oleh adanya PVA meskipun produk akhir yang dihasilkan nantinya akan digunakan sebagai penutup luka yang relatif tidak memerlukan kekuatan tarik yang tinggi.

Dari penelitian terdahulu diketahui membran alginat bersifat antibakteri, tetapi tidak anti jamur dan bukan merupakan antibiotik (Theresia, 2009). Dalam upaya memperbaiki kualitas produk, maka ditambahkan ZnO berupa antibiotik yang diharapkan dapat mengobati luka yang terinfeksi, baik oleh bakteri Gram-positif maupun negatif. Sifat resistensi terhadap bakteri dibuktikan dengan metode cakram kertas dan metode dilusi menggunakan bakteri patogen, yaitu *S. aureus*. Pemilihan terhadap bakteri tersebut antara lain adalah karena banyak terdapat di sekeliling kita dan menyebabkan berbagai penyakit, antara lain infeksi pada jaringan kulit (Schlegel dan Hans, 1994). Hasil uji cakram kertas menunjukkan bahwa bakteri tidak dapat tumbuh ditandai dengan adanya zona inhibisi di sekitar cakram hidrogel alginat- PVA yang mengandung ZnO nano. Hidrogel dengan

persen konsentrasi ZnO yang berbeda menunjukkan aktivitas antibakteri yang berbeda pula. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ZnO yang diberikan, semakin besar diameter zona inhibisi.

Sifat antibakteri dari hidrogel berasal dari adanya ZnO nano. Zona inhibisi yang terbentuk pada uji cakram kertas diakibatkan oleh kemampuan ZnO berukuran nano yang mudah berdifusi dari cakram kertas menuju media agar yang berpori, metode ini juga dikenal dengan *disc diffusion method*. Hal tersebut berbeda dengan alginat dan PVA yang berukuran besar karena merupakan polimer (rantai panjang), maka dari itu keduanya tidak dapat berdifusi. Besar zona inhibisi dipengaruhi oleh konsentrasi ZnO nano, semakin banyak ZnO yang terdapat pada cakram kertas, maka semakin banyak pula ZnO nano yang berdifusi sehingga menghasilkan diameter zona inhibisi yang semakin besar. Bentuk dari zona inhibisi yang dihasilkan tergantung dari bentuk cakram yang digunakan, karena pada penelitian ini cakram yang digunakan berbentuk lingkaran, maka zona inhibisi yang dihasilkan juga berbentuk lingkaran karena ZnO dalam hidrogel berdifusi secara merata pada segala arah. Pada penelitian ini terdapat kesalahan saat mencampurkan media dengan suspensi bakteri, akibatnya pertumbuhan bakteri tidak homogen meskipun zona inhibisi (*halo*) dapat diamati. Salah satu cara untuk mengetahui pengaruh aktivitas antibakteri ZnO nano terhadap *S. aureus* adalah dengan cara uji dilusi (*test tube serial dilution method*). Penelitian menggunakan metode dilusi dilakukan untuk menentukan nilai MIC dan MBC. Pengamatan dilakukan dengan melihat perubahan kekeruhan pada tabung uji yang telah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Konsentrasi ZnO terkecil yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dari hasil pengamatan adalah 0,25 %, akan tetapi perbedaan antar hidrogel dengan beberapa variasi konsentrasi ZnO susah dibedakan.

Dilusi merupakan suatu proses mengurangi densitas (kekentalan) suatu bahan. Pada uji dilusi, OD bakteri dalam campuran seharusnya dihitung pada saat sebelum dan setelah inkubasi, sehingga didapatkan nilai penurunan densitasnya. Pada penelitian ini penulis melewati prosedur tersebut, maka dari itu penurunan densitas bakteri sebelum dan setelah

inkubasi tidak diketahui, sehingga pengamatan sebatas perhitungan penurunan jumlah koloni bakteri setelah dicawakan. Peningkatan konsentrasi ZnO nano menyebabkan penurunan jumlah koloni yang terbentuk. Jumlah koloni mulai menurun dari keadaan menyebar (tidak dapat dihitung) menjadi 10 koloni pada sampel alginat-PVA-ZnO nano 0,25%, sehingga pada konsentrasi tersebut dinyatakan sebagai nilai MIC hidrogel alginat-PVA-ZnO nano, artinya dosis tersebut sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Koloni bakteri mulai tidak nampak pada sampel alginat-PVA-ZnO nano 0,75%, artinya tidak ada bakteri yang tumbuh atau dosis tersebut sudah dapat membunuh bakteri, sehingga pada konsentrasi tersebut dinyatakan sebagai nilai MBC hidrogel alginat-PVA-ZnO nano.

ZnO nano merupakan salah satu logam berat, kebanyakan logam berat mempunyai efek yang merugikan terhadap mikroorganisme. Logam mempunyai aktivitas antibakteri apabila bereaksi menjadi garam yang tidak larut dan terionisasi. Garam dari logam berat dan senyawanya bereaksi sebagai antimikroba dengan cara berkombinasi dengan protein sel dan enzim kemudian menginaktivasi bakteri tersebut (Michel *and* Peltzer, 1986). Hal tersebut didukung oleh pernyataan Fanny dan Silvia (2012) bahwa mekanisme antibakteri dapat dilihat dari interaksi ZnO nano dengan gugus fosfor dalam DNA, mengakibatkan inaktivasi DNA, bereaksi dengan sulfur yang mengandung protein, sehingga menyebabkan penghambatan fungsi enzim pada bakteri.

Kulit manusia dewasa merupakan sekitar 10% dari berat badan normal. Fungsi kulit adalah sebagai pengatur suhu tubuh, mengatur hilangnya air tubuh melalui keringat, tempat penyimpanan nutrisi untuk sementara, tempat sintesis vitamin, dan fungsi utamanya adalah untuk proteksi. Infeksi kulit dapat disebabkan oleh bakteri Gram-positif, bakteri Gram-negatif, jamur, atau virus. Pada infeksi kulit dapat terjadi kemerahan, bengkak, dan terbentuk nanah. Oleh karena itu pada uji antimikroba untuk pengobatan kulit, reduksi kemerahan, bengkak, dan terbentuknya nanah dapat digunakan sebagai parameter kesembuhan luka pada kulit (Hayes, 1989).

Pengujian terhadap hewan coba mencit menunjukkan hasil yang positif,

hidrogel alginat-PVA-ZnO nano dengan berbagai variasi konsentrasi memberikan respon penyembuhan lebih cepat dibandingkan dengan kelompok kontrol yang hingga hari ke-7 pengamatan, luka masih belum sembuh. Jika dibandingkan dengan pemakaian obat komersial povidine iodine yang memberikan respon penyembuhan luka pada hari ke-13 (Zulaehah, 2010), hidrogel alginat-PVA-ZnO nano masih lebih unggul dalam mempercepat penyembuhan luka. Alginat, PVA, dan ZnO nano memiliki peran masing-masing dalam mempercepat proses penyembuhan luka. ZnO nano dengan sifat antibakteri yang dimiliki berfungsi menghambat bahkan membunuh bakteri sehingga bakteri tidak dapat penetrasi masuk ke dalam luka dan menimbulkan infeksi. Alginat dan PVA tidak memiliki sifat menyembuhkan luka secara langsung, akan tetapi secara tidak langsung keduanya membantu percepatan penyembuhan luka dikarenakan sifat-sifat yang dimiliki.

Alginat memiliki kemampuan absorpsi cairan luka yang tinggi, sehingga suasana di sekitar luka tidak basah dan dipertahankan lembab. Antisipasi agar saat alginat berubah menjadi gel, suasana di sekitar luka tidak kembali basah diperankan oleh PVA dengan mempertahankan elastisitas dan fleksibilitas (sifat mekanik) hidrogel. Struktur alginat dan PVA yang berpori berfungsi untuk meneruskan gas (oksigen, dan lainnya) dari udara atau dari luka. Selain itu, apabila ukuran porinya sekitar 1 μm , maka membran cukup untuk melindungi luka dari penetrasi bakteri dan sangat efisien untuk penyerapan cairan luka (Heenan, 2007).

Pada penelitian ini terdapat perbedaan kecenderungan dari hasil aktivitas antibakteri dan percepatan penyembuhan luka yang diakibatkan oleh adanya penambahan ZnO dalam hidrogel alginat-PVA. Semakin tinggi konsentrasi ZnO nano, semakin tinggi aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan semakin besar diameter *halo* (zona inhibisi) dan pada hidrogel alginat-PVA dengan penambahan ZnO nano 0,75% menunjukkan nilai MBC yang berarti pada dosis tersebut sudah dapat membunuh bakteri. Hasil yang didapat dari uji

antibakteri berkebalikan dengan percepatan penyembuhan luka, semakin tinggi konsentrasi ZnO nano justru menyebabkan proses penyembuhan luka pada mencit menjadi sedikit lebih lama.

Perbedaan kecenderungan ini dimungkinkan karena semakin tinggi konsentrasi ZnO nano yang diberikan, menyebabkan semakin menurun tingkat biokompatibilitas hidrogel yang ditunjukkan dari penurunan nilai OD (*optical density*) sel yang hidup pada uji toksisitas (Shalumon *et al.*, 2011). Meskipun hidrogel alginat-PVA-ZnO nano 0,75% memberikan respon penyembuhan yang paling lama dibandingkan dengan variasi konsentrasi dibawahnya (luka sembuh pada hari ke-5), akan tetapi jauh lebih cepat dibandingkan dengan kelompok kontrol dan pemakaian obat komersial povidine iodine.

Penelitian selanjutnya dapat dilakukan untuk melengkapi dan memperbaiki kekurangan yang ada pada penelitian ini, pengujian tahap *in vitro* untuk menguji sifat mekanik dan memperkaya uji resistensi terhadap bakteri lain selain *S. aureus* dapat menjadi pertimbangan. Perbaikan metode sintesis juga dapat dilakukan untuk menciptakan *wound dressing* yang siap diuji dan diaplikasikan secara klinis. Pengujian *in vivo* pada luka selain luka akut juga perlu dilakukan agar tepat guna saat diaplikasikan.

Kesimpulan

1. Konsentrasi hidrogel alginat-poli vinil alkohol dengan konsentrasi ZnO nano yang berbeda mempengaruhi diameter zona inhibisi. Semakin tinggi konsentrasi ZnO nano yang digunakan, semakin besar pula diameter zona inhibisi terhadap mikroba uji. Rata-rata diameter zona inhibisi hidrogel alginat-poli vinil alkohol-ZnO nano 0,25% sebesar (7,95 ± 1,95) mm, rata-rata diameter zona inhibisi hidrogel alginat-poli vinil alkohol-ZnO nano 0,5% sebesar (9,93 ± 4,26) mm, dan rata-rata diameter zona inhibisi terbesar adalah hidrogel alginat-poli vinil alkohol-ZnO nano 0,75% sebesar (11,87 ± 2,89) mm. Nilai MIC didapatkan pada hidrogel alginat-poli vinil alkohol dengan konsentrasi ZnO nano 0,25%. Sedangkan nilai MBC

didapatkan pada hidrogel alginat-poli vinil alkohol dengan konsentrasi ZnO nano 0,75%.

2. Hidrogel alginat-poli vinil alkohol-ZnO nano dapat mempercepat penyembuhan luka. Hidrogel alginat-poli vinil alkohol-ZnO nano 0,25% menyembuhkan luka pada hari ke-3, hidrogel alginat-poli vinil alkohol-ZnO nano 0,5% menyembuhkan luka pada hari ke-4, dan hidrogel alginat-poli vinil alkohol-ZnO nano 0,75% menyembuhkan luka pada hari ke-5. Sedangkan pada kelompok kontrol (kasa steril + NaCl 0,9%), luka masih belum sembuh hingga pengamatan dihentikan pada hari ke-7.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih disampaikan kepada Ibu Ami, Ibu Marsih, Nurul Istiqomah, Tri Deviasari, Dewi Ary Nirmawati, Ima Kurniastuti, Riant Adzandy, dan semua pihak yang telah membantu terselesaikannya *fullpaper* ini.

Daftar Pustaka

- Carville, K. 1998. **Wound Care: Manual**, 3rd Edition. St.Osborn Park. Australia
- Edward, J.V. 2006. **The Future of Modified Fibers**. Southern Regional Research Center.New Orleans
- Fanny dan Silvia. 2012. **Zeolit Nano Partikel untuk Pencegahan Penyebaran Virus Flu Burung**.
<http://www.scribd.com/doc/89968408/K3>. Diakses tanggal 20 Juli 2012 pukul 14.35 WIB
- Haryanto dan Sumarsih. 2008. **Penggunaan Topikal Alternatif: Adrenalin atau Calsium Alginat**.
<http://gibyantowoundostomicontinent.blogspot.com>. Diakses tanggal 10 Desember 2011 pukul 08.17 WIB
- Hayes, A.W. 1989. **Principles and Methods of Toxicology**, 2nd ed. Raven Press Ltd. New York
- Heenan, A. 2007. **Alginates: an Effective Primary Dressing for Exuding Wounds**. Nursing Standard

- Jayakumar, R.. *et al.* 2011. **Novel Chitin and Chitosan Materials in Wound Dressing**, Biomedical Engineering, Trends in Materials Science,
- Anthony N. Laskovski (Ed.), ISBN: 978-953-307-513-6, InTech Lee *et al.* 2008. **Enhanced Conductivity of Aligned Pani/PEO/MWNT Nanofibers by Electrospinning**. Sens. Actuators B: Chem., 134: 122-126
- Michel, J., Peltzer, J. R. 1986. **Microbiology**, 5th ed. Mc Graw Hill Book Company. p448-490
- Mury, J.M. , *et.al.* 2005. **Alginate Fibers, Biodegradable and Sustainable Fibers**, edited by R.S. Black Burn. Woodhead, Manchester
- Schlegel, Hans.G.1994. **Mikrobiologi Umum Edisi Keenam**, Diterjemahkan oleh TedjoBaskoro. Gadjah Mada University Press: Yogyakarta
- Shalumon, K.T. *et al.* 2010. **Sodium Alginate / Poly (Vinyl Alcohol) / Nano ZnO Composite Nanofibers for Antibacterial Wound Dressings**. Elsevier: International Journal of Biological Macromolecules 49 (2011) 247–254
- Theresia, Mutia. 2009. **Pemanfaatan Rumput Laut Coklat untuk Tekstil Kesehatan**. Kegiatan Penelitian Tahun 2009. Balai Besar Tekstil: Bandung
- Walton, R.E. dan Torabinejad M. 1998. **Prinsip dan Praktik Ilmu Endodonsi**, Ed:2. Alih Bahasa : Narlan Sumawinata dkk. “Principle and Practice of Endodontics”. Jakarata: EGC
- Zulaehah, Siti. 2010. **Perbedaan Kecepatan Penyembuhan Luka Sayat Antara Penggunaan Lendir Bekicot (Achatina Fulica) Dengan Povidone Iodine 10% Dalam Perawatan Luka Sayat Pada Mencit (Mus Musculus)**. [Vol 6, No 6 \(2010\)](#)