

**Efek Penambahan *Glycosaminoglycan* dari Lendir Bekicot (*Achatina fulica*)
pada Paduan Alginat – *Carboxymethyl Cellulose* (CMC) sebagai
*Accelerator Wound Healing***

Fatkhunisa Rahmawati¹, Prihartini Widiyanti², Jan Ady³
^{1,2,3}Departemen Fisika, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga
¹nisanisa.room@gmail.com

ABSTRAK

Glycosaminoglycan yang terkandung dalam lendir bekicot mampu merangsang proses angiogenesis pada luka. Telah dilakukan pembuatan dan karakterisasi membran *accelerator wound healing*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek lendir bekicot terhadap percepatan penyembuhan luka mencit dan gambaran topografi membran penutup luka dengan metode mencampurkan membran alginat dan *carboxymethyl cellulose* (CMC) dengan lendir *Achatina fulica*. Lendir bekicot mengandung *acharan sulfate*, yaitu *glycosaminoglycan*. Pada fase proliferasi, kolagen dan *glycosaminoglycan* membentuk senyawa kompleks yang berkontribusi dalam penyembuhan luka. Membran *accelerator wound healing* dibuat dengan cara melarutkan bubuk natrium alginat dan *carboxymethyl cellulose* (CMC) dalam aquades kemudian dicampurkan lendir *Achatina fulica* dengan empat variasi (4:1:0; 4:1:1; 4:1:1,5; 4:1:2) menggunakan *magnetic stirrer* dan dicetak di loyang. Uji taksonomi menunjukkan bahwa spesies bekicot adalah *Achatina fulica*. Uji *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) menunjukkan bahwa lendir mengandung senyawa *glycosaminoglycan*. Hal ini ditandai dengan munculnya puncak antara 14-16 menit dan area 165,47688. Variasi komposisi yang paling optimal adalah 4:1:2. Pada perbandingan komposisi ini terjadi penyerapan cairan luka dan membran sangat optimal mempercepat penyembuhan luka berdasarkan uji histopatologi anatomi (HPA) yang ditunjukkan dengan pengamatan jumlah fibroblast, proses angiogenesis dan epitelisasi. Uji *Scanning Electron Microscopy* (SEM) menunjukkan bahwa pori-pori membran antara 1,457-2,687 μm lebih besar dari standar pori-pori *wound dressing*, yaitu 1 μm . Membran penutup luka dari natrium alginat – CMC – lendir *Achatina fulica* merangsang pembentukan pembuluh darah baru dan reepitelisasi karena mengandung *glycosaminoglycan* sehingga berpotensi sebagai material untuk mempercepat penyembuhan luka.

Kata kunci : alginat, membran, lendir, *Achatina fulica*, pemercepat penyembuhan luka

ABSTRACT

Glycosaminoglycan contained in snail mucus is capable of stimulating the angiogenesis process on the wound. The accelerator wound healing membrane has been fabricated and characterized. This study is aimed to know snail mucus adding for wound healing of mice and to determine of topography image from

wound dressing use alginate and *carboxymethyl cellulose* (CMC) membrane with *Achatina fulica* mucus mixture. *Achatina fulica* mucus contain an *acharan sulfate*, that is *glycosaminoglycan*. In the proliferative phase, collagen and *glycosaminoglycan* forming complex compounds that contribute in wound healing. Alginate powder and *carboxymethyl cellulose* (CMC) was dissolved in distilled water mixed with *Achatina fulica* mucus in four variations (4:0:1; 4:1:1, 4:1:1,5, 4:1:2) through a magnetic stirrer and printed on a baking sheet. Taxonomic test showed that the species of snail is *Achatina fulica*. *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) test showed that the presence of *glycosaminoglycan* in *Achatina fulica* mucus. Chromatogram of *glycosaminoglycan* in mucus from HPLC test is indicated by the appearance of peak at 15-16 minutes and the area is 165.47688. Alginate and mucus compositions are most optimal in ratio of 4:1:2. This ratio is enable to absorb exudates and optimally accelerate wound healing based on its hystopathology anatomy (HPA) profile. *Scanning Electron Microscopy* (SEM) test showed the pore size between 1,457 to 2,687 μm bigger than the range of wound dressing normal standart pore, that is 1 μm . Wound dressing from alginate membrane with *Achatina fulica* mucus is potential as accelerator wound healing through the formation of new vascular, fibroblast cell, and re-epithelization because contain *glycosaminoglycan*.

Keyword: alginate, membrane, mucus, *Achatina fulica*, accelerator wound healing

PENDAHULUAN

Resiko ketika melakukan kegiatan sehari-hari salah satunya dapat menimbulkan luka pada tubuh. Luka adalah kerusakan integritas kulit yang terjadi ketika kulit terpapar suhu atau pH, zat kimia, gesekan, trauma tekanan dan radiasi. Proses penyembuhan luka tidak hanya terbatas pada proses regenerasi yang bersifat lokal, tetapi juga dipengaruhi oleh faktor endogen seperti umur, imunitas, nutrisi, pemakaian obat dan kondisi metabolik (Singh, 2005). Pengobatan terhadap luka berperan penting untuk mengembalikan fungsi dan bentuk jaringan kulit menjadi normal, serta meminimalisir terjadinya komplikasi lokal (Robson, 2001). Sesuai dengan prosedur penanganan luka, luka harus ditutup dengan sebuah membran atau balutan penutup luka yang disebut dengan *wound dressing*. Pemanfaatan polimer alam seperti alginat sekarang ini sedang dikembangkan. Alginat memiliki kemampuan absorpsi yang tinggi. Ketika kontak dengan permukaan luka, luka yang mengandung eksudat mengubah cairan luka membentuk gel dengan mengikat Ca^{2+} , dan akan diserap oleh tubuh (Tarun, 2012). Keanekaragaman hayati yang melimpah di Indonesia dapat dilihat dalam berbagai macam flora dan fauna yang secara tradisional dapat digunakan untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit (Kotijah, 2009), salah satunya adalah penggunaan lendir bekicot (*Achatina fulica*) pada luka eksternal. Syahirah, dkk (2008) membuktikan bahwa gel lendir bekicot dengan konsentrasi 3%, 5%, 7% dan 9% dengan kitosan sebagai *gelling agent* mempunyai efek penyembuhan

terhadap luka bakar. Gel lendir bekicot konsentrasi 9% mempunyai kemampuan menyembuhkan luka bakar dengan penyembuhan paling cepat, yaitu 14 hari. *Glycosaminoglycan* (GAG) pada lendir bekicot mempunyai peran sangat penting dalam menyembuhkan luka. Pada fase proliferasi, kolagen dan GAG membentuk senyawa kompleks yang berperan dalam menyembuhkan luka (Im dan Kim, 2009).

Berdasarkan latar belakang di atas, dilakukan penelitian kandungan *glycosaminoglycan* yang terkandung dalam lendir bekicot (*Achatina fulica*) pada komposisi alginat - *carboxymethyl cellulose* (CMC) dengan variasi komposisi lendir 0w/v%, 1w/v%, 1,5w/v%, dan 2w/v%.

TEORI

Penyembuhan luka didefinisikan sebagai penggantian jaringan tubuh yang terluka dengan jaringan hidup. Ketika terjadi luka, pembuluh darah pada luka tersebut akan terputus dan mengakibatkan perdarahan. Tubuh akan menghentikan perdarahan dengan melakukan reaksi hemostasis dan vasokonstriksi, yaitu pengerutan ujung pembuluh darah yang terputus. Selanjutnya, netrofil akan melakukan fagositosis benda asing dan bakteri di daerah luka, kemudian akan digantikan oleh sel makrofag dan mulai muncul sel fibroblast yang mempunyai peran lebih banyak dalam penyembuhan luka jika dibandingkan dengan netrofil. Dengan dikeluarkannya *subtract* oleh fibroblast, akan muncul tanda bahwa makrofag, pembuluh darah baru (angiogenesis) dan fibroblas menjadi sebuah kesatuan unit memasuki daerah luka. Sejumlah sel dan pembuluh darah baru tertanam di dalam jaringan baru yang disebut dengan jaringan granulasi (Clayton & Tom, 2009). Setelah itu akan terjadi epitelisasi, yaitu ketika fibroblast mengeluarkan *keratynocyte growth factor* yang berperan dalam stimulasi mitosis sel epidermal. Keratinisasi dimulai dari pinggir luka sampai membentuk barier yang menutup permukaan luka. Beberapa karakteristik *wound dressing* yang sekaligus berperan sebagai *wound healing* diantaranya harus memiliki pori-pori sebesar 1 μm sebagai barier bakteri patogen, memiliki daya absorpsi tinggi terhadap cairan luka, dan mampu menghambat evaporasi luka, sehingga luka yang diberi *wound dressing* tersebut mengalami proses penyembuhan secepatnya (Mutia T, 2011). Penambahan lendir bekicot (*Achatina fulica*) pada membran *accelerator wound healing* akan memberi nilai lebih disamping perannya sebagai *wound dressing*. *Glycosaminoglycan* yang terkandung di dalam lendir mampu merangsang proses pembentukan angiogenesis atau pembentukan pembuluh darah baru yang akan menggantikan pembuluh darah yang rusak ketika terjadi luka dengan cara mengikat tembaga (II), sehingga membran memiliki fungsi dalam percepatan penyembuhan. (Kim *et al.*, 1996., *et al.*, 2002).

METODE PENELITIAN

Material

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah natrium alginat dengan merk Sigma Aldrich A2158 dan *carboxymethyl cellulose* (CMC) jenis teknis Brataco, kasa komersil Hexa Husada, dan mencit (*Mus musculus*). Pada penelitian ini metode yang digunakan adalah *freeze drying*.

Metode

Persiapan yang pertama adalah menyiapkan beberapa bekicot yang akan diambil lendirnya untuk dilakukan uji taksonomi yang memastikan bahwa bekicot tersebut adalah spesies *Achatina fulica*. Bekicot yang sudah teridentifikasi bagian cangkangnya dicuci dengan air hingga bersih. Setelah itu, bagian cangkangnya di pecah. Di dalam cangkang tersebut terdapat lendir yang keluar secara alami. Sebagian lendir diambil untuk uji *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) yang bertujuan mengetahui kandungan *glycosaminoglycan*. Tahap kedua yang dilakukan adalah pencampuran bubuk natrium alginat dan CMC yang telah dilarutkan dengan aquades dan lendir bekicot. Masing-masing larutan dicampur dan diaduk dengan *magnetic stirrer* agar homogen dalam suhu kamar. Larutan kemudian di cetak pada loyang bulat berdiameter ± 20 cm dengan permukaan rata. Loyang tersebut disimpan dalam *deep freezer* dengan kisaran suhu -80°C sampai -100°C selama ± 24 jam, setelah 24 jam dalam *freezer*, sampel dikeluarkan dan langsung di *lyophilizer* selama 72 jam dengan suhu sekitar $-93,7^{\circ}\text{C}$ dan tekanan 140 Torr. Komposisi percampuran alginat - CMC - lendir bekicot *Achatina fulica* adalah (4:1:0), (4:1:1), (4:1:1,5), (4:1:2). Tahap selanjutnya yaitu membran yang telah dicetak akan dikarakterisasi dengan beberapa uji yang meliputi uji histopatologi anatomi (HPA) pada kulit mencit dan uji *Scanning Electron Microscopy* (SEM).

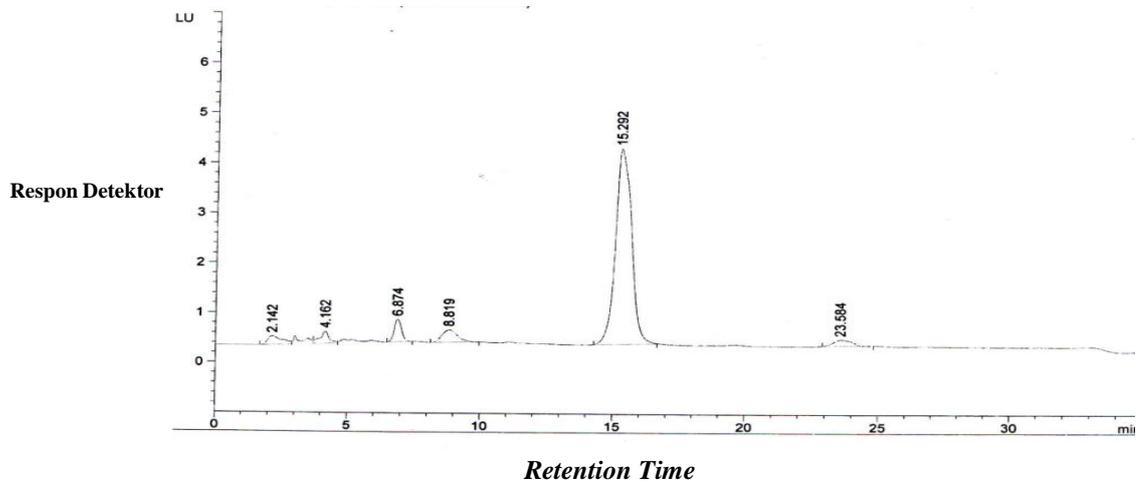
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Uji Taksonomi Hewan Bekicot

Penelitian diawali dengan melakukan uji taksonomi untuk memastikan bahwa dari berbagai macam jenis hewan bekicot yang ada, digunakan spesies *Achatina fulica* sebagai material pembuatan membran *accelerator wound healing*. Identifikasi takson pada hewan bekicot yang akan diambil lendirnya dilakukan oleh seorang ahli taksonomi di Laboratorium Departemen Biologi Universitas Airlangga. Beberapa hewan bekicot yang diperoleh dari peternak bekicot di daerah Jember yang memiliki penampakan fisik berwarna coklat dengan garis-garis melingkar membentuk kerucut berwarna kekuningan pada cangkangnya dijadikan sampel untuk diidentifikasi. Proses ini bertujuan untuk mengetahui Filum (*phylum*), Kelas (*classis*), Bangsa (*ordo*), Keluarga (*familia*), Marga (*genus*), Jenis (*species*), dan ciri-ciri fisiknya secara lengkap. Identifikasi taksonomi dilakukan berdasarkan literatur Sabelli, B tahun 1979 dan Barnes, R.D tahun 1980 yang diacu secara internasional. Dari karakteristik ini diperoleh hasil bahwa sampel berupa hewan bekicot yang digunakan untuk pembuatan membran *accelerator wound healing* adalah *species Achatina fulica*.

Hasil Uji *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)

Pada karakterisasi ini diperlukan lendir bekicot *Achatina fulica* ± 20 μl yang diambil menggunakan mikro pipet. Karakterisasi HPLC akan menghasilkan *peak* yang menggambarkan nilai waktu retensi (dalam menit) dan respon detektor. Kandungan lendir bekicot *Achatina fulica* adalah lebih dari satu unsur. Hal ini digambarkan dengan munculnya *peak-peak* pada satu kromatogram.



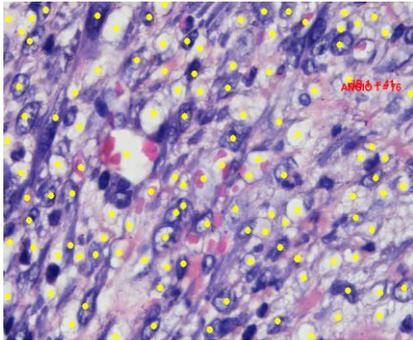
Gambar 1. Kromatogram Hasil Uji HPLC Lendir *Achatina fulica*

Komponen utama *glycoconjugate* pada bekicot *Achatina fulica* adalah *glycosaminoglycan* (GAG) (Jeong, 2001). Pada penelitian ini *peak* paling tinggi dihasilkan sampel lendir bekicot *Achatina fulica* dengan area sebesar 165,477. Area tersebut diperoleh dengan cara mengalikan *retention time* dengan waktu (*second*). Pada kromatogram hasil HPLC yang paling tinggi terlihat berjarak atau memiliki waktu retensi yang cukup jauh dengan *peak-peak* kecil lainnya. Hal ini menandakan bahwa proses pemisahan antar senyawa berlangsung efisien. *Peak* tertinggi sangat berpengaruh pada jumlah konsentrasi unsur. Semakin banyak konsentrasi suatu unsur yang dikandung sampel, maka semakin tinggi *peak* yang dihasilkan dan berkaitan dengan daya serap senyawa tersebut. Berdasarkan referensi sebelumnya yang menyatakan bahwa kandungan utama lendir bekicot *Achatina fulica* adalah *glycosaminoglycan*, maka *peak* sebesar 165,477 yang dihasilkan oleh sampel lendir bekicot pada penelitian ini merupakan senyawa *glycosaminoglycan*. Lendir bekicot *Achatina fulica* tersebut dipadukan dengan material lain berupa natrium alginat dan *carboxymethyl cellulose* membentuk membran penutup luka yang juga berperan sebagai pemercepat penyembuhan karena adanya kandungan *glycosaminoglycan*.

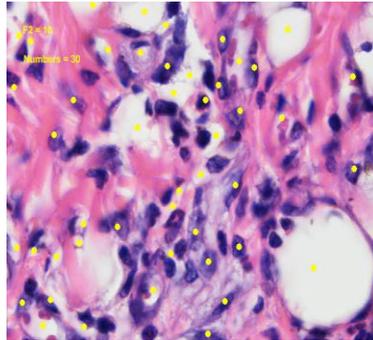
Hasil Uji Histopatologi Anatomi (HPA) Membran *Accelerator Wound Healing*

Penentuan tingkat kecepatan kesembuhan luka membran *accelerator wound healing* dilakukan melalui pemeriksaan HPA pada kulit hewan coba mencit (*Mus musculus*). Jenis luka yang diberikan pada hewan coba tersebut adalah luka dengan luas permukaan sempit. Berdasarkan teori Mc Gavin and Zachary (2007), penilaian derajat kesembuhan dibedakan berdasarkan waktu pengamatan dengan variabel yang berbeda. Pemeriksaan dilakukan pada daerah *healing center* (HC) dibandingkan dengan *Normal Area* (NA) menggunakan mikroskop cahaya biasa yang dilengkapi dengan digital kamera. Membran *accelerator wound healing* dengan variasi komposisi material yang diaplikasikan pada hewan coba mencit (*Mus musculus*) masing-masing diamati pada hari yang berbeda, yaitu 3, 7, dan 14 hari. Berikut adalah gambar *healing center* tiap sampel

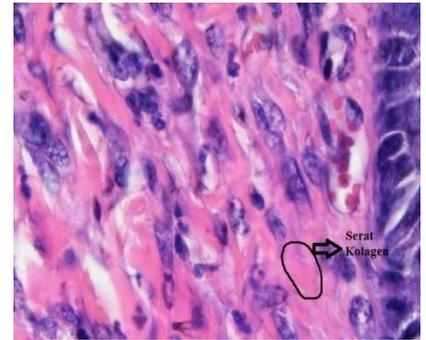
yang diamati melalui mikroskop cahaya. Bulatan berwarna biru yang diberi titik kuning merupakan sel fibroblast, sedangkan warna merah keputihan yang diberi titik kuning merupakan pembuluh darah baru. Titik kuning digunakan untuk memudahkan dalam perhitungan sel-sel tersebut. Pengamatan gambar yang lainnya dilakukan pada hari keempat belas yaitu pengamatan warna serat kolagen yang terbentuk.



Gambar 2. Perhitungan Fibroblast dan Pembuluh Darah Baru Sampel D Hari Ke-3



Gambar 3. Perhitungan Fibroblast dan Pembuluh Darah Baru Sampel D Hari Ke-7



Gambar 4. Perhitungan Fibroblast dan Pembuluh Darah Baru Sampel D Hari Ke-14

Teknik perhitungan dilakukan dengan mengamati sel fibroblast yang ditandai dengan warna biru dan pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis) yang ditandai dengan warna putih kemerahan. Data hasil uji HPA dapat dilihat pada Tabel 1 berikut ini:

Tabel 1 Hasil Pengamatan Uji HPA pada Hewan Coba Hari Ketiga

NAMA SAMPEL	Jumlah / 5 lapangan Pandang				DOMINASI SEL RADANG	EPITELISASI	MATURASI JAR. IKAT KOLAGEN	ADNEXA	SKOR/ INTERPRETASI
	FIBROBLAST	Rerata	KAPILER (ANGIOGENESIS)	Rerata					
Kontrol (1)	126	178,5	291	335	Neutrofil	< 25%	-	-	1 (kurang baik)
Kontrol (2)	231		379		Makrofag	< 25%	-	-	2 (cukup)
A (1)	261	258,5	435	427,5	Makrofag	< 25%	-	-	2 (cukup)
A (2)	256		420		Makrofag	< 25%	-	-	2 (cukup)
B (1)	328	315	467	473,5	Makrofag	26-50%	-	-	3 (baik)
B (2)	302		481		Neutrofil	< 25%	-	-	1 (kurang baik)
C (1)	253	248	461	432	Neutrofil	< 25%	-	-	1 (kurang baik)
C (2)	243		403		Makrofag	< 25%	-	-	2 (cukup)
D (1)	218	211	352	337	Makrofag	100%	-	-	4 (sangat baik)
D (2)	204		322		Makrofag	100%	-	-	4 (sangat baik)

Identifikasi kesembuhan luka hari ke-3 mengacu pada pertumbuhan jumlah fibroblast dan angiogenesis. Apabila jumlah pertumbuhan fibroblast dan angiogenesis lebih dari 50, maka tingkat kesembuhan luka adalah baik. Parameter baik pada *healing center* adalah tidak terjadi infeksi atau alergi. Hasil yang tercantum pada Tabel 1 menunjukkan bahwa tingkat kesembuhan paling optimal terjadi pada sampel D, yaitu membran *accelerator wound healing* dengan komposisi lendir bekicot *Achatina fulica* terbanyak. Pengamatan selanjutnya dilakukan pada hari ketujuh. Penilaian pada fase ini selain mengacu pada jumlah fibroblast dan pembentukan pembuluh darah baru, juga mengacu pada dominasi sel radang berupa makrofag dan neutrofil. Secara normal, pada hari ketujuh jumlah neutrofil mengalami penurunan dan lebih didominasi oleh adanya sel makrofag yang bentuknya menyerupai kacang. Hasil uji histopatologi dapat dilihat pada Tabel 2 berikut ini:

Tabel 2 Hasil Pengamatan Uji HPA pada Hewan Coba Hari Ketujuh

NAMA SAMPEL	Jumlah / 5 lapangan Pandang				DOMINASI SEL RADANG	EPITELISASI	MATURASI JAR. IKAT KOLAGEN	ADNEXA	SKOR/ INTERPRETASI
	FIBROBLAST	Rerata	KAPILER (ANGIOGENESIS)	Rerata					
Kontrol (1)	77	61	180	335	Neutrofil	< 25%	-	-	1 (kurang baik)
Kontrol (2)	51		251		Makrofag	< 25%	-	-	1 (kurang baik)
A (1)	61	76,5	261	274	Makrofag	25-50%	-	-	2 (cukup)
A (2)	92		287		Makrofag	25-50%	-	-	2 (cukup)
B (1)	55	89	399	471	Makrofag	25-50%	+	-	2 (cukup)
B (2)	123		543		Makrofag	25-50%	+	-	2 (cukup)
C (1)	122	128	351	274,5	Makrofag	< 25%	-	-	1 (kurang baik)
C (2)	134		198		Makrofag	75-100%	+	-	4 (sangat baik)
D (1)	98	84,5	187	166,5	Makrofag	75-100%	+	-	4 (sangat baik)
D (2)	71		146		Makrofag	75-100%	+	-	4 (sangat baik)

Tabel 2 di atas menunjukkan bahwa pada sampel kontrol yang menggunakan kasa steril masih ditemukan neutrofil. Selain pengamatan pada sel radang, pada hari ketujuh juga dilakukan penilaian berdasarkan *range* epitelisasi antara 0-25%, 25-50%, 50-75%, dan 75-100%. Sampel pertama berada pada *range* < 25%. Pengamatan pada sampel A dengan komposisi natrium alginat-CMC menunjukkan bahwa sel makrofag telah terlihat di semua tahap penyembuhan pada luka mencit (*Mus musculus*). *Range* epitelisasi adalah 25-50%. Pengamatan pada sampel B, dengan kandungan lendir bekicot *Achatina fulica* 1w/v% proses epitelisasi sudah terjadi pada *range* 25-50%. Serabut-serabut kolagen sudah mulai terlihat tetapi masih sangat muda dan berwarna biru. Kolagen yang sudah matang akan berwarna merah. Sedangkan sel makrofag tumbuh pada *healing center* semua mencit. Pengamatan selanjutnya adalah pada

sampel C dengan kandungan lendir bekicot *Achatina fulica* sebesar 1,5w/v%. Pada mencit pertama (1) terlihat sel makrofag yang tumbuh dan area *healing center* telah menunjukkan epitelisasi pada *range* < 25%. Berbeda dengan mencit kedua (2), proses epitelisasi menunjukkan *range* 75-100%. Serabut kolagen sudah mulai terlihat tetapi belum matang. Pengamatan terakhir dilakukan pada mencit yang diberi sampel D yang mengandung lendir bekicot *Achatina fulica* 2w/v %. Pada *healing center* terlihat sudah mengalami pertumbuhan makrofag dan serabut kolagen yang cukup matang. Proses epitelisasi menunjukkan bahwa pembentukan kulit lapisan epidermis sudah mulai terlihat. *Range* epitelisasi terjadi pada 75-100%. Tabel 2 menunjukkan bahwa semua hewan coba yang diberi sampel membran *accelerator wound healing* menunjukkan dominasi sel radang berupa makrofag. Pada sampel yang mengandung lendir bekicot *Achatina fulica* 2w/v % mengalami tingkat epitelisasi paling baik dan menampilkan hasil paling optimal.

Selanjutnya dilakukan pengamatan *healing center* pada hari keempat belas. Yang mengacu pada maturasi jaringan ikat kolagen berupa serabut-serabut berwarna merah. Acuan lainnya adalah mulai munculnya adnexa, yaitu tumbuhnya komponen seperti folikel rambut, kelenjar keringat, dan jaringan kulit seperti kulit normal. Setelah dilakukan pengamatan pada seluruh komponen, yaitu jumlah fibroblast, jumlah pembuluh darah baru, pengamatan sel radang, pengamatan *range* epitelisasi, pengamatan maturasi jaringan ikat kolagen dan pengamatan adnexa, maka dilakukan *scoring* antara angka 1-4 untuk menentukan hasil kesembuhan. Data hasil uji HPA dapat dilihat pada Tabel 3 berikut ini:

Tabel 3 Hasil Pengamatan Uji HPA pada Hewan Coba Hari Keempat Belas

NAMA SAMPEL	Jumlah / 5 lapangan Pandang				DOMINASI SEL RADANG	EPITELISASI	MATURASI JAR. IKAT KOLAGEN	ADNEXA	SKOR/ INTERPRETASI
	FIBROBLAST	Rerata	KAPILER (ANGIOGENESIS)	Rerata					
Kontrol (1)	199	171,5	204	251	-	100%	-	-	1 (kurang baik)
Kontrol (2)	144		298		Makrofag	75-100%	+	-	2 (cukup)
A (1)	231	184	488	305,5	-	100%	+	-	3 (baik)
A (2)	137		123		-	100%	+	+	4 (sangat baik)
B (1)	91	162	201	278,5	Makrofag	100%	+	-	3 (baik)
B (2)	233		356		-	100%	+	-	3 (baik)
C (1)	186	171,5	152	254	-	100%	+	+	4 (sangat baik)
C (2)	157		356		-	100%	+	+	4 (sangat baik)
D (1)	79	117	120	148	-	100%	+	+	4 (sangat baik)
D (2)	155		176		-	100%	+	+	4 (sangat baik)

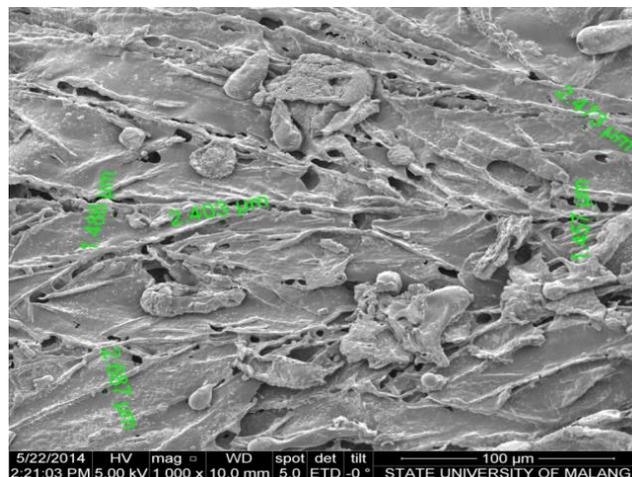
Tabel 3 di atas menunjukkan bahwa pada sampel kontrol maturasi kolagen belum terjadi secara sempurna dan belum muncul adnexa. Pada sampel A membran *accelerator wound healing* tanpa kandungan lendir bekicot *Achatina*

fulica terlihat epitelisasi terbentuk sempurna. Maturasi jaringan ikat kolagen sudah terbentuk. Adnexa berupa bakal folikel rambut juga sudah mulai terlihat.

Pengamatan sampel B dengan kandungan lendir bekicot *Achatina fulica* 1w/v % pada mencit pertama masih ditemukan makrofag. Secara normal, makrofag dan neutrofil pada hari keempat belas jumlahnya harus semakin berkurang bahkan tidak ada sama sekali. Proses epitelisasi terjadi sempurna di semua tingkat kesembuhan mencit, tetapi adnexa belum muncul. Pada sampel C dengan kandungan lendir bekicot *Achatina fulica* 1,5w/v % sel makrofag dan netrofil sudah tidak ditemukan dan proses epitelisasi telah sempurna terbentuk. Adnexa sudah mulai terlihat, ditandai dengan kolagen yang berwarna merah dan folikel rambut serta jaringan kulit yang mulai terbentuk. Terakhir adalah pengamatan pada sampel D, yaitu membran *accelerator wound healing* yang mengandung lendir bekicot *Achatina fulica* 2w/v%. Pengamatan pada sampel D hampir sama dengan sampel C, yang membedakan adalah jumlah sel fibroblast dan angiogenesis yang lebih sedikit daripada sampel C. Proses epitelisasi pada sampel D terjadi 100%. Maturasi jaringan ikat kolagen terbentuk sempurna dan adnexa sudah terlihat seperti pada area kulit normal. Tabel 3 menunjukkan bahwa pada sampel D proses epitelisasi berlangsung sempurna dan terjadi maturasi jaringan ikat kolagen yang berwarna merah. Adnexa pada sampel D juga sudah muncul secara keseluruhan. Pada pengamatan di hari terakhir, sampel yang mengandung lendir bekicot *Achatina fulica* terbanyak yaitu 2w/v% adalah yang paling optimal menyembuhkan luka. Hal ini diperkuat dengan uji morfologi membran *accelerator wound healing* menggunakan SEM.

Hasil Uji Morfologi dengan menggunakan SEM Membran *Accelerator Wound Healing*

Komposisi lendir *Achatina fulica* terbanyak pada membran *accelerator wound healing* menyebabkan membran tersebut paling optimal menyembuhkan luka berdasarkan hasil uji HPA. Pengamatan fisik membran dengan komposisi lendir *Achatina fulica* terbanyak yaitu sebesar 2w/v% tersebut dilakukan menggunakan uji SEM. Hasil uji morfologi dapat dilihat pada Gambar 2 berikut ini:



Gambar 2 Hasil Uji SEM Perbesaran 1000X

Ukuran pori-pori membran *accelerator wound healing* dapat dilihat pada tabel 4 di bawah ini:

Tabel 4 Data Uji Morfologi Membran *Accelerator Wound Healing* Variasi 4:1:2 (w/v %)

Variasi Komposisi Alginat : <i>Carboxymethyl Cellulose</i> : Lendir Bekicot <i>Achatina fulica</i>	Range Ukuran Pori (µm)
4:1:2	1,486
	2,403
	2,687
	1,457
	2,473
Membran <i>Wound Dressing</i> (Mutia T, 2011)	1

Hasil uji SEM pada Tabel 4 di atas menunjukkan bahwa membran *accelerator wound healing* yang mengandung lendir *Achatina fulica* 2w/v% memiliki besar pori antara 1,457-2,687 µm. Pada penelitian ini, alginat dipadukan dengan *carboxymethyl cellulose* dan lendir bekicot *Achatina fulica*. Perpaduan ketiga material tersebut tidak menghasilkan suatu ikatan kimia baru, tetapi hanya menghasilkan ikatan fisik karena sifat *carboxymethyl cellulose* (CMC) yang berperan sebagai *plasticsizer* sehingga membuat kandungan kedua bahan utama tidak berkurang dan membuat perpaduan tersebut membentuk sebuah membran.

Tidak terjadinya ikatan kimia menyebabkan molekul atom penyusun membran cenderung tidak rapat sehingga menyebabkan pori yang terbentuk semakin besar. Pori-pori yang besar pada membran *accelerator wound healing* ini menyebabkan udara dapat keluar masuk secara kontinyu dan menyebabkan bakteri mudah masuk ke dalam luka melalui media membran tersebut. Pengamatan ini menunjukkan bahwa ukuran pori membran tidak cukup berpengaruh pada tingkat percepatan penyembuhan luka. Proses penyembuhan luka terjadi karena adanya kandungan *glycosaminoglycan* pada lendir bekicot *Achatina fulica*.

KESIMPULAN

1. Karakteristik biologi dilihat dari hasil uji histopatologi anatomi (HPA) menunjukkan bahwa membran *accelerator wound healing* berfungsi sebagai penutup luka karena mengandung *glycosaminoglycan* dari lendir bekicot *Achatina fulica*. Karakteristik fisik membran *accelerator wound healing* adalah memiliki pori-pori 1,457-2,687 µm.
2. Efek penambahan lendir bekicot *Achatina fulica* pada membran *accelerator wound healing* dapat dilihat dari semakin banyak kandungan lendir bekicot *Achatina fulica* pada membran *accelerator wound healing*, maka semakin cepat penyembuhan luka mencit (*Mus musculus*). Sampel D

yang mengandung lendir *Achatina fulica* 2w/v% adalah yang paling optimal untuk menyembuhkan luka. Hal ini dilihat dari pengamatan jumlah fibroblast, epitelisasi dan angiogenesis pada mencit (*Mus musculus*).

DAFTAR PUSTAKA

- Clayton, W. Jr. MD and Elasy., T.,A., MD, MPH, 2009, *A Review of the Pathophysiology, Classification, and Treatment of Foot Ulcers in Diabetic Patients*, American Diabetes Association
- Jeong, J.A., Toida, T., Muneta, Y., Kosiishi, L., Imanari, T., Linhardt, R.J., Choi, H.S., Wu, S.J., Kim, Y.S., 2001, Localization and Characterization of *Acharan Sulfate* in the Body of the Giant African Snail *Achatina fulica*. *Comp. Biochem. Physiol.* 130, 513-519
- Kim, Y.S., Jo, Y.Y., Chang, I.M., Toida, T.,Park, Y.M.,Linhardt, R.J., 1996, A New *Glycosaminoglycan* from the Giant African Snail *Achatina fulica*. *J. Biol. Chem.*271, 11750-11755
- Kim, Y.S., Kim, H.W., LeeK.S., Shin, H.W. and Hur, Y.H., 2007, Preparation of Alginate Quaternary Ammonium Complex Beads and Evaluation of Their Antimicrobial Activity, *Int. J. Biol. Macromol.*, 41, 36-41
- Kotijah, Siti., 2009, Artikel Perlindungan HKI pada Obat Tradisional, Universitas Brawijaya, Malang
- Gavin, Mc and Zachary, 2007, *Pathologic Basic Veterinary Disease*
- Mutia, Theresia, 2011, *Alginates Membranes As Primary Wound Dressing And Topical Drug Delivery System For Infected Wound*, Mikrobiologi UNPAD, Bandung
- Robson MC, Steed DL, Franz MG, 2001, *Wound Healing: Biologic Features and Approaches to Maximize Healing Trajectories. Current Problems in Surgery*, University of South Florida, 38:65-140
- Sabelli, B., 1979, *Guide to Shells*, Simon and Schuster, New York, hal: 40-46
- Singh R, Purohit S & Chacharkar MP. 2007, Microbiological Safety and Clinical Efficacy of Radiation Sterilized Amniotic Membrane for Treatment of Second Degree Burns, *Burns*, 33, p.505-510
- Syahirah F., Naila M., Anggraini T.A., 2008, *Formulasi Salep Lendir Bekicot (Achatina fulica) terhadap Penyembuhan Luka Bakar pada Kelinci Jantan* New Zaeland, Laporan PKM, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta
- Sabelli, B., 1979, *Guide to Shells*, Simon and Schuster, New York, hal: 40-46
- Tarun, K, and N. Gobi, 2012, *Calcium Alginate/PVA Blended Nano Fiber Matrix for Wound Dressing*, Indian J, Fibre Text, Res.