
UJI PRAKLINIS PEMBALUT LUKA HIDROGEL BERBASIS PVP STERIL IRADIASI MENGGUNAKAN TIKUS PUTIH: EVALUASI IRITASI DAN SENSITISASI

Darmawan Darwis

Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, BATAN, Jakarta

ABSTRAK

UJI PRAKLINIS PEMBALUT LUKA HIDROGEL BERBASIS PVP STERIL IRADIASI MENGGUNAKAN TIKUS PUTIH: EVALUASI IRITASI DAN SENSITISASI. Telah dilakukan penelitian untuk menentukan efek toksik yaitu iritasi kulit primer dan sensitisasi pada punggung tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar terhadap pemakaian pembalut luka hidrogel berbasis polimer polivinil pirolidon (PVP) hasil iradiasi gamma. Pada percobaan ini dilakukan pengujian terhadap dua formula hidrogel yaitu Formula I: hidrogel-madu (FI) dan formula II: hidrogel-karaginan (FII). hidrogel formula I dibuat dari campuran polimer (PVP) dan madu serta bahan tambahan lainnya, sedangkan hidrogel formula II (FII) dibuat dari campuran PVP dan karaginan. Selanjutnya FI dan FII masing-masing diiradiasi dengan sinar gamma pada dosis 25 kGy. Pengujian iritasi kulit primer dilakukan menggunakan metode Draize yang telah dimodifikasi, sedangkan pengujian sensitisasi dilakukan dengan metode Buhler. Hasil pengamatan iritasi menunjukkan bahwa hidrogel FI dan FII tidak menyebabkan eritema (skor eritema = 0) dan edema (skor edema = 0). Demikian juga dari hasil sensitisasi, baik pada periode induksi, periode istirahat maupun periode akhir, dan kedua jenis hidrogel tidak memberikan kemerahan (skor eritema = 0), edema (skor edema = 0) maupun tidak terlihat adanya *eschar*.

Kata kunci: Uji praklinis, hidrogel, iritasi, sensitisasi, iradiasi gamma

ABSTRACT

PRECLINICAL TEST OF PVP-BASED HYDROGEL WOUND DRESSING STERIL IRRADIATION USING WHITE RAT: IRRITATION AND SENSITIZATION EVALUATION. The toxic effect namely primer skin irritation and sensitization of polyvinyl pyrrolidone-based polymers (PVP) hydrogel wound dressing induced by gamma irradiation on the back skin of white rat (*Rattus norvegicus*) have been studied. In this experiment, two hydrogel formulas were evaluated namely honey-hydrogel (F1) and carageenan-hydrogel (F II). Hydrogel FI was made from a mixture of PVP polymer and honey with other additive ingredients, while hydrogel F II was made from a mixture of PVP polymer and carageenan. Both Hydrogel FI and FII were irradiated using gamma ray with irradiation a dose of 25 kGy, respectively. Modified Draize method was used for evaluation of primer skin irritation test while sensitization effect was evaluated using Buhler method. The results show that both hydrogel F I as well as hydrogel F II did not show any erythema and edema reactions which was indicated by erythema and edema score zero (0). In addition, from sensitization test results of hydrogels show that no redness and scars were formed for both hydrogels either in induction period, rest period and final exposure period which indicate no sensitization reaction occurred.

Keywords: Preclinal test, hydrogel, irritation, sensitization, gamma irradiation

PENDAHULUAN

Di Indonesia, jumlah penderita (prevalensi) luka terbuka maupun luka bakar akibat berbagai sebab terus meningkat. Jika tidak ditangani dengan tepat dan segera, luka dapat

menimbulkan infeksi yang akan mengakibatkan luka menjadi dalam dan lebar sehingga dapat mengancam jiwa pasien (1).

Hidrogel merupakan polimer hidrofilik yang mampu menyerap sejumlah air sehingga mengembang dan mempertahankan air tersebut dalam keadaan mengembang (*Swollen state*) (2,3). Sifat tidak larut air ini disebabkan oleh adanya struktur jaringan rantai molekul polimer yang tersusun secara tiga dimensi yang dimiliki hidrogel tersebut. Hidrogel juga mempunyai beberapa keuntungan antara lain bersifat lembut, mempunyai kandungan air yang tinggi, tidak dapat ditembus mikroba, memiliki fleksibilitas tinggi, mudah disterilkan terutama dengan radiasi gamma, dan mudah dilalui oleh oksigen. Adanya sifat-sifat ini menyebabkan hidrogel sangat tepat untuk digunakan sebagai pembalut luka (4).

Penelitian untuk mendapatkan pembalut luka hidrogel dengan teknik radiasi baik sinar gamma maupun berkas elektron telah dilakukan di Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi (PATIR) – BATAN sejak beberapa tahun yang lalu. Pengujian terhadap sifat-sifat fisika, kimia dan mikrobiologi dari pembalut luka tersebut telah dilakukan dengan hasil yang cukup baik (5,6).

Di dalam *International Standard Organization*, ISO 10993 (7) disebutkan bahwa suatu produk kesehatan (*health care products*) harus memenuhi persyaratan praklinik yang terdiri dari uji efektivitas dan uji keamanan atau toksisitas serta uji klinik sebelum digunakan secara komersial pada manusia. Pengujian toksisitas dimaksudkan untuk mengetahui adanya bahan toksik yang terlepas dari suatu produk (*toxic leachable material*) yang dapat mengakibatkan efek yang membahayakan tubuh pasien.

ISO 10993 mengklasifikasikan pembalut luka hidrogel sebagai produk kesehatan (*health care products*) berkontak dengan kulit selama 24 jam hingga 30 hari. Uji toksisitas yang dilakukan antara lain iritasi kulit dan sensitisasi.

Dalam makalah ini dibahas hasil uji iritasi kulit primer dan uji sensitisasi dari pembalut luka hidrogel berbasis polimer polivinil pirolidon (PVP) hasil iradiasi sinar gamma menggunakan tikus putih galur Wistar.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan untuk pembuatan hidrogel adalah PVP K-90 (Fluka), Agar medical grade (Oxoid), poli etilen glikol (PEG) 400 (Ph-Euro), gliserin (Merck), Madu (Perhutani), kappa karaginan dan air suling.

Alat

Instrumen/alat yang digunakan adalah: Iradiator gamma IRPASENA, otoklav (Memmert, West Germany), *laminar air flow* (Lab Conco), *Dry Oven* (Memmert, West Germany), *sealing machine*, penagas air (Memmert, West Germany), timbangan analitik, pakan hewan, eter, alkohol 70%, sarung tangan no. 8, kapas, plester, masker kain, kain kasa, kertas tisu dan sekam padi, gunting, alat cukur, pinset, kamera digital dan perangkat tempat makan dan minum tikus.

Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar umur 10-11 minggu dengan bobot sekitar 190-200 gram.

Metode

Pembuatan Pembalut Luka Hidrogel

Pembalut luka hidrogel PVP – Madu (Formula I) dibuat dari campuran polimer PVP dan madu serta bahan tambahan lainnya dengan komposisi tertentu. Campuran tersebut dituang dalam cetakan plastic polietilen lalu cetakan ditutup dengan menggunakan *sealing machine*.

Pembalut luka hidrogel PVP - karaginan (Formula II) dibuat dengan cara melarutkan hingga homogen polimer PVP dan karaginan. Campuran tersebut dituang dalam cetakan plastik polietilen lalu cetakan ditutup dengan menggunakan *sealing machine*.

Iradiasi pembalut luka hidrogel

Iradiasi pembalut luka hidrogel dilakukan di Iradiator Panorama Serbaguna, PATIR BATAN menggunakan sinar gamma pada dosis 25 kGy dengan laju dosis 7 kGy/jam

Pengujian iritasi kulit primer

Pengujian iritasi kulit dilakukan berdasarkan metode DRIZE *et.al* yang telah dimodifikasi (8). Tikus dikelompokkan menjadi 3 kelompok yaitu kelompok 1: FI, kelompok 2: FII dan kelompok 3: kontrol, dengan jumlah tiap kelompok sebanyak 6 ekor. Rambut pada punggung setiap tikus dicukur menggunakan alat pencukur pada 3 tempat berbeda, masing-masing berukuran (2 X 2) cm² seperti yang disajikan pada Gambar 1. Kulit tikus yang telah dicukur lalu dibersihkan dengan alkohol 70%. Pembalut luka hidrogel yang telah dipotong berukuran (2 X 2) cm² ditempelkan pada kulit tikus yang telah dicukur tersebut, kemudian dilapisi kain kassa dan ditutup dengan plester.

Pada ketiga bagian punggung tikus yang telah dicukur pada satu kelompok hewan, masing-masing bagian ditemplei dengan 1 macam hidrogel misal hidrogel FI atau FII. Sedangkan untuk kelompok kontrol tidak diberi pembalut luka. Tikus lalu dibiarkan selama 24 jam, 48 jam

dan 72 jam. Setelah 24 jam, maka hidrogel pertama (hidrogel yang ada pada punggung atas) dibuka dan diamati. Pengamatan 48 jam dilakukan dengan membuka hidrogel pada bagian tengah punggung sedangkan untuk pengamatan 72 jam dilakukan pada hidrogel yang ada di bagian punggung bawah. Pengamatan dilakukan terhadap adanya eritema, edema, dan *eschar*.



Gambar 1. Kulit punggung tikus setelah dicukur menggunakan *razor* dan *Gilette*

Pengujian sensitisasi kulit

Pengujian sensitisitas pembalut luka hidrogel terhadap kulit tikus dilakukan dengan metode *repeat patch* atau BUCHLER (9). Percobaan terdiri dari 3 periode yaitu periode induksi (*Induction periods*), periode istirahat (*rest periods*) dan periode paparan akhir (*final exposure periods*). Pada periode induksi, pembalut luka ditempelkan pada punggung tikus yang telah dicukur terlebih dahulu, kemudian dibiarkan selama 10 jam. Prosedur ini diulangi sebanyak tiga kali dalam satu minggu selama jangka waktu tiga minggu. Setelah 10 jam paparan, hidrogel lalu diambil dan dilakukan pengamatan terhadap adanya eritema dan edema. Setelah selesai periode induksi, hewan lalu diistirahatkan selama 2 minggu untuk melihat adanya respon yang tertunda (periode istirahat). Pada periode ini dilakukan pengamatan adanya eritema dan edema. Setelah periode istirahat, kemudian hidrogel dipaparkan kembali pada punggung tikus selama 10 jam. Dilakukan pengamatan terhadap eritema dan edema. Pada percobaan sensitisasi, tikus dikelompokkan menjadi 3 kelompok perlakuan, yaitu kelompok 1:FI, kelompok 2: FII dan kelompok 3: kontrol dengan jumlah tikus tiap kelompok sebanyak 10 ekor.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian iritasi dan sensitisasi pembalut luka hidrogel merupakan bagian dari uji toksisitas yang dipersyaratkan dalam (ISO) 10993 untuk mengetahui adanya senyawa toksik yang terlepas dari produk (pembalut) yang dapat menyebabkan efek membahayakan bagi pasien. Iritasi merupakan respon jaringan lokal yang ditandai dengan tanda-tanda umum seperti inflamasi sampai kemerahan, edema/swelling dan kadang-kadang diikuti oleh rasa panas dan sakit. Adanya bahan kimia yang terlepas dari suatu produk kesehatan yang berkontak dengan tubuh dapat menyebabkan iritasi kulit. Sedangkan reaksi sensitisasi biasanya terjadi sebagai akibat dari kontak yang berulang dari suatu produk kesehatan terhadap sistem imun tubuh yang ditandai dengan adanya kemerahan dan penggelembungan (*swelling*) (9). Pembalut luka hidrogel digolongkan sebagai produk yang digunakan pada permukaan (*surface device*) yang berkontak menembus kulit dan digunakan secara berulang (7).

Hasil pengujian iritasi pembalut luka hidrogel diperlihatkan pada Tabel 1 dan Gambar 2. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pengamatan pada 24 jam, 48 jam dan 72 jam setelah pemaparan pembalut luka pada kulit punggung tikus memberikan skor eritema dan edema nol (0). Dari hasil ini dapat dikatakan bahwa pembalut luka hidrogel Formula I dan II tidak melepaskan bahan-bahan kimia yang terdapat dalam hidrogel yang bersifat iritasi terhadap kulit atau dengan kata lain bahwa hidrogel PVP formula I dan II tidak bersifat toksik iritasi terhadap kulit punggung tikus Wistar. Hal ini dipertegas dari Gambar 2 dimana tidak terlihat adanya kemerahan maupun gelembung/edema pada kulit hewan sebagaimana juga ditunjukkan oleh hasil kontrol.

Tabel 1. Hasil pengamatan iritasi kulit primer pembalut luka hidrogel

No	Hidrogel	Hasil Pengamatan /Nilai skor					
		24 jam		48 jam		72 jam	
		eritema	edema	eritema	edema	eritema	edema
1	FI	0	0	0	0	0	0
2	FII	0	0	0	0	0	0
3	Kontrol	0	0	0	0	0	0

Keterangan:

Skor hasil pengamatan merupakan rata-rata skor dari 6 hewan yang diuji

Scoring for erythema (peradangan):

- 0 = tidak ada kemerahan kulit (*no erythema*)
- 1 = sedikit kemerahan (*slight erythema*)
- 2 = *well define erythema*
- 3 = *moderate to severe erythema*

Scoring for edema (bengkak):

- 0 = tidak ada edema (*no edema*)
- 1 = *slight edema*
- 2 = *well define edema*
- 3 = *moderate to severe edema*



Gambar 2. Foto tikus pada pengamatan iritasi kulit berupa eritema dan edema setelah pemaparan hidrogel 24 jam (A), 48 jam (B) dan 72 jam (C).

Reaksi sensitisasi terhadap suatu produk kesehatan merupakan reaksi yang dimediasi oleh sel yang melibatkan sistem imun tubuh. Hasil pengujian reaksi sensitisasi pembalut luka hidrogel ditunjukkan oleh Tabel 2. Reaksi sensitisasi dapat terjadi akibat pemakaian suatu produk secara berulang-ulang yang ditandai dengan adanya kemerahan dan *swelling*/edema. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa tidak terdapat kemerahan maupun edema (pembengkakan) pada periode induksi selama minggu ke I sampai minggu ke III dari pemaparan kedua jenis pembalut luka yang ditunjukkan dengan skor eritema dan edema = nol (0) seperti yang diperlihatkan pada Tabel 2. Untuk melihat adanya reaksi sensitisasi yang tertunda maka dilakukan pengistirahatan hewan uji selama 2 minggu. Pengamatan yang dilakukan selama masa istirahat menunjukkan bahwa tidak didapatkan reaksi sensitisasi kulit seperti kemerahan, edema maupun *eschar* (jaringan parut) sebagaimana dapat dilihat pada Tabel 2. Pada periode akhir dimana pembalut luka dipaparkan kembali pada kulit setelah periode istirahat menunjukkan bahwa tidak terdapat adanya reaksi sensitisasi sebagaimana ditunjukkan oleh skor eritema dan edema = nol (0).

Dari hasil yang diperoleh dapat dikatakan bahwa pembalut luka hidrogel FI dan FII tidak menyebabkan iritasi maupun sensitisasi pada kulit hewan uji (tikus putih)

Tabel 2. Hasil pengamatan sensitisasi kulit Pembalut luka hidrogel pada periode Induksi, periode istirahat dan periode akhir

Hidrogel	Hasil pengamatan					
	Minggu I		Minggu II		Minggu III	
	Eritema	Edema	Eritema	Edema	Eritema	Edema
1. Periode Induksi						
FI	0	0	0	0	0	0
FII	0	0	0	0	0	0
Kontrol	0	0	0	0	0	0
2. Periode Istirahat						
FI	0	0	0	0	0	0
FII	0	0	0	0	0	0
Kontrol	0	0	0	0	0	0
3. Periode Pemaparan Akhir						
FI	0	0	0	0	0	0
FII	0	0	0	0	0	0
Kontrol	0	0	0	0	0	0

Keterangan:

Skor hasil pengamatan merupakan rata-rata skor dari 6 hewan yang diuji

Scoring for erythema (peradangan):

0 = *no erythema*

1 = *slight erythema*

2 = *well define erythema*

3 = *moderate to severe erythema*

Scoring for edema (bengkak):

0 = *no edema*

1 = *slight edema*

2 = *well define edema*

3 = *moderate edema*

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa pembalut luka hidrogel berbasis PVP steril iradiasi tidak menyebabkan terjadinya eritema, edema maupun *eschar* pada tikus putih, dengan kata lain pembalut luka hidrogel tidak menyebabkan iritasi maupun reaksi sensitisasi pada kulit tikus. Dengan demikian hidrogel berbasis PVP formula I dan II disarankan untuk diuji secara klinis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Drs. Yana Sumpena, Ibu Dra. Nanny Kartini Oekar, Ibu Rizky Juwita S.Si. Apt, Ibu Iin Halimah S.Si dari Pusat Teknologi Nuklir Bahan dan Radiometri, Bidang Senyawa Bertanda, BATAN Bandung, yang telah membantu melakukan percobaan iritasi dan sensitisasi pembalut luka hidrogel berbasis PVP hasil iradiasi di Laboratorium Hewan Uji Kelompok Biomedika dan Biosintesis.

DAFTAR PUSTAKA

1. SJAMSUHIDAYAT,R., DAN DE JONG, W., *Buku Ajar Ilmu Bedah*, Eds. Revisi, Penerbit Buku Kedokteran, EGC, Jakarta, 1977, hal. 72-91.
2. KAZANSKII, K.S., AND DUBROVSKII, S.A., Chemistry and physics of agricultural hydrogels, *Advances in Polymer Science*, Vol. 104 (1992) p. 98-124
3. SEDEREL, L.C. ET.AL., Hydrogel by Irradiation of synthetic heparinoid polyelectrolyte, *Biomaterials*, Vol. 4, 1983, p.3-8
4. CATHY, T.H., When to use hydrogel dressing, *Advanced in Skin and Wound Care*, Jan, 2000
5. DARMAWAN D., RAHAYU C., DAN NAZLY H., Studi sifat kompatibilitas darah dan sifat kimia pembalut luka hidrogel polivinil piroolidon (PVP), *Risalah Pertemuan Ilmiah Aplikasi Isotop dan radiasi*, Jakarta, 9-10 Jan 1996
6. DARMAWAN D., LELY H., ERIZAL, DAN RAHAYU C., Daya absorpsi hidrogel polivinilpirolidon (PVP) hasil iradiasi sinar gamma terhadap air dan pelarut organik, *Risalah Pertemuan Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*, Jakarta, 13-15 Desember 1998
7. RICHARD F. W., PAUL J. U., A practical Guide to ISO 10993-10: Sensitization, *International Organization for Standardization (ISO)*, 1998
8. BYOUNG-SEOK LEE, ET.AL., Ketoprofen: Experimental overview of dermal toxicity, *Arch Toxicol*, February 2007
9. RICHARD F. W., AND PAUL, J.U., A practical Guide to ISO 10993-10: sensitization, <http://www.Devicelink.com>. diakses pada tanggal 15 Agustus 2007

