

*The 2<sup>nd</sup> International Anatomical Sciences and Cell Biology Conference &  
The 36<sup>th</sup> Annual Conference of Anatomy Association of Thailand  
Chiang Mai, Thailand, December 6 - 8, 2012*

***Certificate of Appreciation***

*presented to*

**Gusti Revilla Yanwirasti, Dewi Rusnita**

10147

*in acknowledgement of your presentation*

The effect of papain from papaya latex on the levels of VEGF in burn wound healing in rats (*Rattus novergicus*)

*P. Mahakkanukrauh.*

*Pasuk Mahakkanukrauh*  
Organizing Committee, Chair

*Gul Clyth*

*Sukumal Chongthammakun*  
President

*Prasert Sobhon*

*Prasert Sobhon*  
Scientific Committee, Chair

**EFEKTIVITAS PEMBERIAN PAPAIN GETAH PEPAYA  
TERHADAP KADAR FAKTOR PERTUMBUHAN  
*Transforming growth factor - $\beta$*  (TGF- $\beta$ ) PADA  
PROSES PENYEMBUHAN LUKA BAKAR  
TIKUS PERCOBAAN**



**Gusti Revilla  
Yanwirasti**

**Dibacakan Pada Pertemuan Ilmiah  
Perhimpunan Ahli Anatomi Indonesia  
Bali 2012**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2012**

## I. Pendahuluan

Luka bakar merupakan salah satu masalah serius bagi masyarakat di dunia karena luka bakar akan menimbulkan kerusakan pada fisik dan bahkan ada yang menimbulkan kematian. Kerusakan pada fisik ini akan menyebabkan kecacatan dan akan mempengaruhi psikologis penderita (Evers, *et al.*, 2010). Di Indonesia belum ada data tertulis mengenai jumlah penderita dan jumlah angka kematian yang ditimbulkan akibat luka bakar. Berdasarkan data di RSUP M. Jamil Padang pada tahun 2009 diketahui bahwa kasus luka bakar mencapai 91 orang dengan penyebabnya berasal dari kompor dan alat elektrik. Pada tahun 2010 data ditemukan 84 kasus luka bakar dimana paling banyak disebabkan dari sengatan listrik 22 orang (26%), siraman air panas 15 kasus (18%) dan sisanya dari berbagai akibat diantaranya api, kompor gas, dan minyak panas (RSUP M. Jamil, 2011).

Luka bakar merupakan suatu kerusakan yang kompleks yang terjadi pada jaringan baik secara lokal maupun sistemik. Luka bakar dapat disebabkan oleh suhu panas (thermal), kimia, elektrik, dan radiasi dan kerusakan yang terjadi tergantung pada letak, kedalaman dan luas dari luka bakar. Luka bakar yang luas dan dalam akan menimbulkan kerusakan berbagai organ diantaranya kulit dan saluran nafas serta menimbulkan komplikasi yaitu infeksi dan *shock* (Evers, *et al.*, 2010). Kerusakan kulit akibat luka bakar akan mempengaruhi integritas dari bagian-bagian kulit dan sel yang ada. Pada luka bakar juga akan terjadi akumulasi dari matriks ekstraselular dan ini akan menjadi manifestasi peningkatan sintesis dari kolagen 1 dan 3 (Scott *et al.*, 1994). Peningkatan sintesis kolagen ini dipengaruhi oleh faktor pertumbuhan yaitu TGF dan IGF. Pembuluh darah yang merupakan salah satu bagian pada kulit setelah terpapar suhu tinggi mengalami kerusakan yaitu terjadinya peningkatan permeabilitas pembuluh darah sampai hancurnya pembuluh darah. Untuk mengurangi risiko yang ditimbulkan oleh luka bakar yang cukup kompleks maka diperlukan penanganan yang tepat dan baik, sehingga tidak mempengaruhi terhadap proses penyembuhan luka (Evers, *et al.*, 2010).

Pengobatan untuk luka bakar yang telah digunakan baik bersumber dari alam maupun dengan menggunakan hasil teknologi yang baru yaitu dengan faktor pertumbuhan dan sel stem. Dari bahan alam telah dilakukan beberapa tanaman yang

EFEKTIVITAS PEMBERIAN PAPAIN GETAH PEPAYA TERHADAP KADAR  
FAKTOR PERTUMBUHAN *Transforming growth factor - $\beta$*  (TGF- $\beta$ ) PADA  
PROSES PENYEMBUHAN LUKA BAKAR TIKUS PERCOBAAN

**Gusti Revilla Yanwirasti**  
Laboratorium Anatomi FK Unand

ABSTRAK

Luka bakar merupakan masalah kesehatan dimasyarakat karena akibat luka bakar akan menimbulkan kecacatan fisik dan kematian sehingga diperlukan penanganan yang baik. Pengobatan untuk luka bakar dengan menggunakan bahan alam sudah dilakukan diantaranya madu lebah, lidah buaya dan papain. Papain merupakan enzim yang ditemukan pada getah pepaya. Enzim ini mempunyai aktivitas katalitik yang mampu untuk mencairkan eschar/keropeng akibat luka bakar. Untuk itu dilakukan penelitian kemampuan papain getah pepaya terhadap kadar faktor pertumbuhan *Transforming growth factor - $\beta$*  (TGF- $\beta$ ) pada Proses penyembuhan luka bakar tikus.

Penelitian bersifat eksperimental dengan menggunakan 18 tikus sebagai obyek penelitian dan dibagi atas 3 kelompok yaitu kelompok control, kelompok diberi papain dan kelompok pembanding diberi silver sulfadiazine. Tikus dibuat luka bakar partial dengan memanaskan logam pada air mendidih dan ditempelkan pada bagian dorsal tikus selama 6 detik. Tikus yang menderita luka bakar diberi perlakuan sesuai kelompok dan pada hari ke 5 diambil darah lewat mata untuk mendapatkan serumnya dan selanjutnya dilakukan pengukuran kadar TGF- $\beta$  dengan metode elisa.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar rata-rata TGF- $\beta$  pada kelompok kontrol 317.72 pg/ml kelompok diberi papain 186.24 pg/ml dan kelompok pembanding 192.11 pg/ml. Ini menunjukkan bahwa enzim papain mampu menurunkan kadar TGF- $\beta$  yang bersifat sebagai proinflamasi sehingga papain mungkin mampu mempercepat fase inflamasi dan juga mampu mempercepat proses penyembuhan luka.

Kata kunci. Papain Luka Bakar TGF- $\beta$  Elisa

secara empiris diketahui mempunyai efek untuk penyembuhan luka. Salah satu senyawa dari tanaman yang berpengaruh adalah papain yang ada dalam getah pepaya.

Enzim papain termasuk jenis enzim sistein proteinase dan bersifat sebagai enzim proteolitik. Penelitian peran papain dalam penyembuhan luka sudah banyak dilakukan namun penelitian tersebut difokuskan pada pemeriksaan secara histologis yaitu melihat jumlah keropeng mencair yang dihubungkan dengan penurunan jumlah jaringan nekrotik (Schultz, *et al.* 2003). Pada penelitian terhadap enzim protease diantaranya papain (dari pepaya) dan bromelain (dari buah nenas) diketahui bahwa ke 2 enzim ini dapat meningkatkan konsentrasi pelepasan dari interleukin-6 (IL-6), diketahui bahwa IL-6 berperan dalam inflamasi (Rose, *et al.* 2005). Pada penelitian lain ditemukan bahwa papain dapat meningkatkan penebalan epidermis, baik jumlah maupun kedalaman jalinan pembuluh darah serta meningkatkan jumlah kolagen dilapisan dermis dibandingkan dengan pemberian salep luka dengan bahan dasar urea. Mekanisme yang mungkin untuk penebalan epidermis dan peningkatan pembuluh darah diantaranya disebabkan oleh pelepasan faktor pertumbuhan, sitokin, kemokin dan ekspresi dari molekul adhesi (Talgenhoff, *et al.* 2007), namun mekanisme yang pasti dalam peningkatan jumlah pembuluh darah dan penghancuran jaringan nekrotik ini secara molekular belum dilakukan penelitiannya. Untuk itu dilakukan penelitian lanjutan efek papain getah pepaya terhadap kadar faktor pertumbuhan diantaranya yaitu *Transforming growth factor - $\beta$*  (TGF- $\beta$ ) yang berpengaruh pada proses penyembuhan luka.

### **Tujuan Penelitian**

Untuk mengetahui efektivitas pemberian papain getah pepaya dibandingkan dengan SSD terhadap kadar dari faktor pertumbuhan TGF- $\beta$  pada proses penyembuhan luka bakar tikus percobaan.

## **II. Metode Penelitian**

### **1. Desain Penelitian**

Penelitian bersifat eksperimental dan obyek penelitian tikus jantan galur wistar.

## 2. Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Anatomi FK Unand dan Laboratorium Biomedik FK Unand

## 3 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi sampel adalah tikus jantan yang ada dilaboratorium Farmakologi Fak. Farmasi Unand, kemudian di random sesuai dengan jumlah sampel yang dibutuhkan.

Besar sampel dan jumlah ulangan ditentukan dengan rumus Fraenkle and Wallen:

$$(np-1) - (p-1) \geq p^2$$

$p$  = jumlah kelompok hewan percobaan

$n$  = jumlah hewan coba dalam tiap kelompok

Berdasarkan rumus di atas didapatkan jumlah hewan coba setiap kelompok adalah 5 ekor, maka tiap kelompok terdiri 6 ekor tikus putih, sehingga jumlah sampel 18 ekor.

Sebagai obyek penelitian digunakan tikus putih (*Rattus novergicus*) dengan berat 180 – 200 gr yang diperoleh dari Labor Farmakologi Fakultas Farmasi Unand. Hewan dipelihara untuk aklimatisasi selama 1 minggu dilaboratorium Anatomi FK unand.

### Variabel Penelitian

Variabel-variabel yang digunakan adalah:

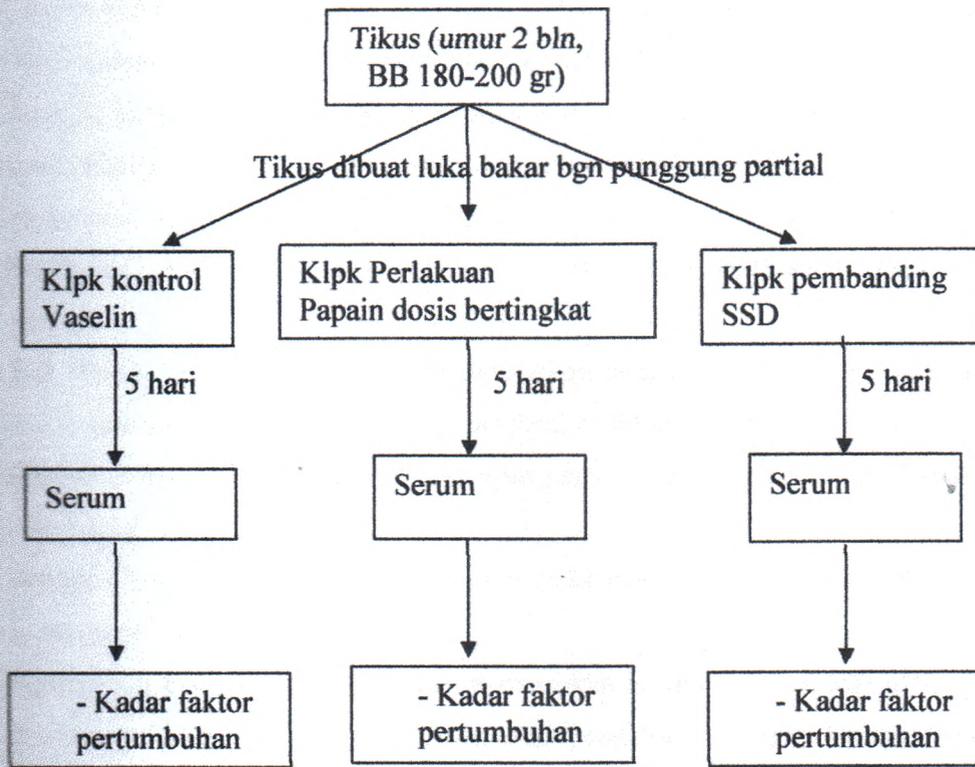
#### 1. Variabel independen

Pemberian topikal papain dan silver sulfadiazine cream (SSD)

#### 2. Variabel dependen

Kadar faktor pertumbuhan TGF- $\beta$

#### 4 Kerangka Operasional



Gambar 5.1 Skema kerangka operasional penelitian

#### 5 Cara Pelaksanaan Penelitian

Tikus dibagi atas 3 kelompok yaitu kontrol, perlakuan dan kelompok pembanding. Kelompok kontrol diberi vaselin sedangkan kelompok perlakuan diberi papain dosis 0.5 mg/kg BB dan kelompok pembanding yaitu silver sulfadiazine (SSD). Masing-masing kelompok tikus dibuat luka bakar dengan cara memanaskan plat dengan suhu 60°C ditempelkan bagian dorsal (punggung) tikus selama 20 detik, tetapi tikus sebelumnya dianestesi secara injeksi intraperitoneal sodium pentobarbital 50 mg/kg BB (metode Paramonov dan Cheboterev cit Shuid, et al.2008). Tikus menderita luka bakar partial. Tikus yang luka akan diberi perlakuan sesuai dengan kelompoknya. Pada hari 5 di ambil darah untuk melihat kadar faktor pertumbuhan. Faktor pertumbuhan diamati dengan menggunakan metode Elisa.

### **Cara Pengukuran Kadar Faktor Pertumbuhan dengan metode ELISA**

1. Darah yang sudah diambil disentrifus untuk mendapatkan serumnya, kalau belum dilakukan pengukuran kadar faktor pertumbuhan dapat disimpan dalam freezer - 20<sup>0</sup>C
2. Siapkan bahan-bahan dan alat yang digunakan dalam kondisi ruang dan siapkan bahan untuk standar sesuai dengan konsentrasi standar yang diinginkan
3. Ambil plat well masukan 50 µl assay diluent kesemua well (blanko, standart, dan sampel)
4. Kemudian masukan 50 µl larutan standart, kontrol dan sampel sesuai dengan sampel plat wellnya.
5. Plat Well diletakkan di atas sekher digerakkan dengan kecepatan 50 rpm selama 3 – 5 menit agar sampel dan antibodi yang ada pada well tercampur dengan baik
6. Setelah di sekher plat well ditutup dengan plastik adhesive, kemudian diinkubasi dalam suhu ruang selama 2 jam.
7. Setelah diinkubasi maka larutan yang ada pada well disedot dengan menggunakan pipet multichannel (8 channel)
8. Selanjutnya plat well dicuci dengan memasukan washing buffer 300 µl/well kemudian dilakukan sakher selama 2 menit dengan kecepatan 50 – 100 rpm. Larutan yang ada pada plat well disedot dengan menggunakan pipet multichannel. Waktu menyedot washing buffer harus hati-hati agar tidak terjadi kerusakan pada dasar plat well yang berisi reaksi antigen antibodi. Lakukan kegiatan sampai 4 kali. Pada pencucian ke 4 balikkan plat well yang sudah dialas dengan tisu dan diketok-ketok perlahan sehingga cairan washing sudah terbuang seluruhnya.
9. Tambahkan 100 µl enzim conjugate kesemua well kecuali blanko (diisi dengan washing buffer 100 µl), kemudian tutup dengan plastik adhesive film seterusnya diinkubasi selama 2 jam dalam suhu ruang.
10. Setelah diinkubasi cairan conjugate yang tidak bereaksi dengan antigen antibodi yang ada pada dasar well dibuang dengan menggunakan pipet multichannel. Lakukan pencucian seperti pada point 8.
11. Tambahkan 100 µl substrat solution (yang terbuat dari color reagen A dan B yang dicampurkan sesaat melakukan tahapan ini) kemasing-masing well , inkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dalam kondisi gelap. Penambahan substrat solution akan menimbulkan warna biru langit.

12. Tambahkan stop solution sebanyak 100  $\mu$ l kemasing-masing well dan terjadi perubahan warna dari biru kekuning.
13. Masukkan plat well ke alat Elisa microplate reader kemudian setting pada panjang gelombang 450 nm
14. Hasil pengukuran tersebut keluar dalam bentuk absorban dan konsentrasi dan hasil ukuran yang digunakan adalah konsentrasi.

#### **6. Analisa Data**

Untuk menganalisis perbedaan pemakaian papain dengan Silver sulfadiazine cream untuk kadar faktor pertumbuhan TGF $\beta$  digunakan Uji ANOVA (Analisis of varians)

#### **7. Etika Penelitian**

Pada penelitian tikus yang akan diperlakukan luka bakar terlebih dahulu dianestesi dengan menggunakan lidokain dan ditambah dengan analgesik decamidon. Penelitian ini sudah dilakukan etika clearance dan sudah disetujui untuk dilaksanakan. Tetapi jenis anestesi yang digunakan tidak sesuai dengan profosal penelitian karena sampai dilakukan penelitian anestesi tersebut tidak ditemukan dipasaran. Jenis analgesik yang digunakan adalah decamidon yang disarankan dari apoteker.

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1 Hasil Penelitian

Dari hasil penelitian terhadap kadar TGF- $\beta$  1 pada serum 30 ekor tikus yang mengalami luka bakar partial dan full thickness dari 3 kelompok dapat dilihat pada tabel 6.1 dibawah ini.

Tabel 6.1 Kadar TGF- $\beta$  1 (pg/ml) serum tikus yang mengalami luka bakar partial setelah diberi papain, vaselin dan SSD

No	Kelompok		
	Kontrol	Perlakuan	Pembanding
1	270.62	143.07	181.46
2	203.75	207.46	266.90
3	361.01	151.55	159.17
4	394.44	199.75	203.75
5	358.53	229.38	149.27
Rata-rata	317.72	186.24	192.11

Pada tabel 6.1 dapat terlihat dari 5 kali ulangan terlihat kadar dari TGF- $\beta$  1 bervariasi setiap ulangan, ini mungkin menunjukkan bahwa setiap individu hewan tersebut mempunyai respon imunitas yang berbeda. Pada tabel diatas juga terlihat bahwa tikus yang diberi papain kadar rata-rata TGF- $\beta$  1 sedikit rendah dibandingkan dengan SSD secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna, tetapi jika kadar TGF- $\beta$  1 kelompok perlakuan dan pembanding tersebut dibandingkan dengan kelompok kontrol secara statistik terdapat perbedaan yang bermakna pada tingkat  $p=0.05$ .

#### 3.2 PEMBAHASAN

Papain telah digunakan untuk penelitian luka bakar pada hewan percobaan dan secara histologis menunjukkan bahwa papain dapat meningkatkan penebalan epidermis, baik jumlah maupun kedalaman jalinan pembuluh darah serta meningkatkan jumlah kolagen dilapisan dermis dibandingkan dengan pemberian salep luka dengan bahan dasar urea (Talgenhoff, *et al.* 2007). Mekanisme kondisi tersebut mungkin diantaranya

disebabkan oleh pelepasan faktor pertumbuhan, sitokin, kemokin dan ekspresi dari molekul adhesi.

Berdasarkan hasil penelitian terhadap kadar TGF- $\beta$  1 pada tikus luka bakar partial antara tikus kontrol yang hanya diberi vaselin dengan kelompok perlakuan diberi papain dan pembeding diberi SSD secara statistik terlihat adanya perbedaan yang bermakna pada tingkat  $p=0.05$ , ini menunjukkan bahwa papain dan SSD memberikan pengaruh yang cukup baik untuk penyembuhan luka bakar pada derajat partial. Namun antara kelompok yang diberi papain dengan pembeding secara angka kadar TGF- $\beta$  1 terlihat ada perbedaan tetapi secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna. Penurunan kadar TGF- $\beta$  1 pada penelitian ini menunjukkan bahwa papain mampu mempercepat fase inflamasi mungkin mengurangi infiltrasi dari monosit sehingga mempercepat fase-fase lain dari penyembuhan luka. TGF- $\beta$  diketahui berperan penting dalam inflamasi, angiogenesis dengan cara meningkatkan regulasi dari VEGF, reepitelisasi dengan meningkatkan proliferasi dari keratinosit dan regenerasi jaringan ikat (Bottinger *et al.*, 1997; Kane *et al.*, 1991 and Riedel *et al.*, 2007). TGF- $\beta$  1 pada fase remodelling penyembuhan luka berperan dalam produksi kolagen (Mauviel *et al.*, 1996 dan White *et al.*, 2000).

Secara makro terlihat bahwa pada kelompok yang diberi papain pada luka bakar derajat partial terlihat bahwa, papain mampu mengangkat bekas luka atau keropeng pada tikus luka bakar tersebut dan kelompok lain tidak terlihat. Ini menunjukkan bahwa papain mungkin lebih cepat memperbaiki penyembuhan luka. Kondisi ini juga menyokong penelitian yang dilakukan oleh Shuid, *et al* 2005 yang menemukan bahwa getah pepaya mampu membersihkan luka, mengurangi jaringan bekas luka dan mengurangi rasa nyeri akibat luka bakar pada tikus percobaan. Perubahan produksi dari faktor pertumbuhan tentu akan dapat dilihat juga pada pemeriksaan secara histopatologis dan pembentukan faktor pertumbuhan serta sitokin lainnya. Untuk itu perlu penelitian lebih lanjut tentang pemeriksaan secara histopatologis dan pengukuran kadar faktor pertumbuhan serta sitokin lainnya yang berperan selama penyembuhan luka.

## **IV. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **4.1. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian efektivitas penggunaan papain dibandingkan dengan SSD terhadap penyembuhan luka bakar dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Pemberian papain pada tikus luka bakar secara angka lebih efektif dibandingkan dengan SSD dilihat dari kadar rata-rata TGF- $\beta$  1, namun tidak terdapat pada penyembuhan luka.
2. Secara statistik tidak terdapat perbedaan yang bermakna kadar rata-rata TGF- $\beta$  1 pada tikus luka bakar dengan penggunaan papain dengan SSD pada penyembuhan luka.

### **4.2 Saran**

Perlu penelitian pengukuran kadar faktor pertumbuhan seperti VEGF serta sitokin lainnya yang berperan selama penyembuhan luka.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bottinger EP, Letterio JJ, Roberts AB. Biology of TGFbeta in knockout and transgenic mouse models. *Kidney Int* 1997; 51: 1355-60
- Evers, L H; Bhavsar, D; and Mailänder, P. 2010. The biology of burn injury. *Experimental Dermatology*; 19: 777-783
- Kane CJ, Hebda PA, Mansbridge JN, Hanawalt PC. Direct evidence for spatial and temporal regulation of transforming growth factor beta 1 expression during cutaneous wound healing. *J Cell Physiol* 1991; 148: 157-73.
- Mauviel A, Chung KY, Agarwal A, Tamai K, Uitto J. Cellspecific induction of distinct oncogenes of the Jun family is responsible for differential regulation of collagenase gene expression by transforming growth factor-beta in fibroblasts and keratinocytes. *J Biol Chem* 1996; 271: 10917-23.
- Riedel K, Riedel F, Goessler UR, Germann G, Sauerbier M. Tgf-beta antisense therapy increases angiogenic potential in human keratinocytes in vitro. *Arch Med Res* 2007; 38: 45-51.
- Rose. B; C. Herder; H. Loffler' G. Meierchoff; N.C. Schloot; M. Walz and S. Martin. 2005. Dose-dependent induction of IL-6 by plant derived proteases in vitro. *British society for immunology. Clinical and Experimental immunology*, 143: 85-92.
- RSUP M.Djamil. 2011. Data laporan pasien yang dirawat di RSUP M. Djamil Padang dari tahun 2009 sampai 2010
- Schultz, G.S; Sibbald, R.G; Falanga, V; Ayello, E.A; Dowsett, C; et al. 2003. Wound bed preparation : a systemic approach to wound management. *Wound repair and regeneration* 11: 1-28
- Scott, E.M.; Leaper, D.J.; Clark, M. 2001. Effects of warming therapy on pressure ulcers - a randomised trial. *AORN Journal* 73: 921-938
- Shuid, A.N; Mohamad. S.A; and Ahmad, A.Y. 2005. The effects of Carica papaya Linn latex on the healing of burn wound in rats. *Jurnal Sains Kesihatan Malaysia* 3 (2); 39-47.
- Tolgenhoff, D; Kan, L; Sarah, R; Valerie, V; Kristine, V; et al. 2007 Influence of papain urea copper chlorophyllin on wound matrix remodelling. *Wound repair and regeneration* 15: 727-735
- White LA, Mitchell TI, Brinckerhoff CE. Transforming growth factor beta inhibitory element in the rabbit matrix metalloproteinase-1 (collagenase-1) gene functions as a repressor of constitutive transcription. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1490: 259-68