

## Pengaruh Pemberian Gel Doksisisiklin terhadap Jumlah Makrofag pada Proses Penyembuhan Dermatitis Paederus akibat Racun Tomcat (*Paederus* sp.) pada Mencit

### *(The Effect of Doxycycline Gel Application toward the Number of Macrophage in Dermatitis Paederus Healing Process on Mice)*

Bagus Indra Kusuma, Al Munawir, Septa Surya Wahyudi  
Fakultas Kedokteran, Universitas Jember  
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121  
e-mail: Bagusindra.kusuma@yahoo.com

#### **Abstract**

*Paederus dermatitis is an acute skin irritation caused by skin contact with toxins in the rove beetle (*Paederus* sp). Pederin poison was previously thought derived from the rove beetle's body. Based on other studies, poison pederin obtain from the symbiotic rove beetles and *Pseudomonas aeruginosa* which is able to secrete the matrix metalloprotease (MMP). Doxycycline is an antibiotic act as an inhibitor of MMP. This study aimed to verify the effect of Doxycycline gel to the number of macrophages in healing process *Paederus dermatitis* due to poison of rove beetle (*Paederus* sp.). The study design was a quasy experimental design using 40 mice (*Mus musculus*), were divided into 4 groups. Normal control group, negative control group, P1 group was given doxycycline 1%, and P2 group was given doxycycline 5%. Experimental animals were terminated on day 1, 3, 5, 7, and 15. The result of One Way Anova test on the number of macrophages on day 1, 3 and 5 showed a significance of 0.00 ( $p < 0.05$ ). This study showed that there was a significant difference in the effect of doxycycline gel to the number of macrophages in healing process of *Paederus dermatitis*.*

**Keywords:** *dermatitis paederus, doxycycline gel, macrophages*

#### **Abstrak**

Dermatitis *Paederus* adalah iritasi kulit akut yang disebabkan adanya kontak kulit dengan racun yang ada pada kumbang tomcat (*Paederus* sp). Racun pederin awalnya diduga berasal dari tubuh kumbang Tomcat. Berdasarkan penelitian lain, racun pederin terjadi karena adanya simbiosis kumbang Tomcat dengan *Pseudomonas aeruginosa* yang mampu mensekresikan enzim matriks metaloprotease (MMP). Doksisisiklin merupakan antibiotik yang bersifat sebagai MMP inhibitor. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian gel doksisisiklin terhadap jumlah makrofag pada proses penyembuhan dermatitis paederus akibat racun tomcat (*paederus* sp.). Desain penelitian yang digunakan adalah quasy experimental design dengan menggunakan 40 ekor mencit (*Mus musculus*) yang terbagi menjadi 4 kelompok. Kelompok kontrol normal, kelompok kontrol negatif, kelompok P1 diberikan gel doksisisiklin 1%, dan kelompok P2 diberikan doksisisiklin 5%. Hewan coba diterminasi pada hari ke-1, 3, 5, 7, dan 15. Hasil uji One way Anova jumlah makrofag pada hari ke-1, hari ke-3, dan hari ke-5 didapatkan signifikansi masing-masing 0.00 ( $p < 0.05$ ). Penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pemberian gel doksisisiklin terhadap jumlah makrofag pada proses penyembuhan dermatitis paederus akibat racun kumbang Tomcat (*Paederus* sp.).

**Kata kunci:** dermatitis paederus, gel doksisisiklin, makrofag

## Pendahuluan

Dermatitis Paederus adalah iritasi kulit akut yang disebabkan adanya kontak kulit dengan racun yang ada pada kumbang tomcat (*Paederus* sp) [1]. Racun pederin awalnya diduga berasal dari tubuh kumbang Tomcat (*Paederus* sp.). Namun, berdasarkan penelitian lain, gen pada biosintesis racun pederin tidak berasal dari genom kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) melainkan lebih mendekati genom bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang mampu mensekresikan enzim matriks metaloprotease (MMP) [2].

Enzim matriks metaloprotease (MMP) merupakan enzim proteolitik yang memiliki kemampuan mendegradasi matriks ekstraseluler. MMP-2 dan MMP-9 merupakan MMP yang mendegradasi komponen matriks ekstraseluler kulit seperti kolagen, gelatin dan elastin [3].

Doksisisiklin merupakan salah satu jenis antibiotik yang mempunyai sifat sebagai MMP inhibitor. Doksisisiklin menghambat aktivitas MMP dengan melakukan ikatan pada ion  $Ca^{2+}$  sehingga menyebabkan enzim tidak berfungsi. Obat ini mampu menghambat MMP yang berasal dari berbagai macam sel, seperti : neutrofil, makrofag, fibroblas, dan limfosit-T. Dengan kemampuannya sebagai inhibitor MMP, doksisisiklin memberikan efek positif terhadap waktu penyembuhan luka [4]. Sediaan obat ini berupa kapsul. Terapi yang biasa digunakan untuk penyakit kulit adalah dalam sediaan topikal sehingga penulis berinisiatif untuk membuat doksisisiklin dalam bentuk gel. Bentuk sediaan ini dipilih karena lebih sesuai dengan jenis luka pada dermatitis paederus.

Berdasarkan latar belakang diatas diperoleh rumusan masalah bagaimana pengaruh pemberian gel doksisisiklin terhadap jumlah makrofag pada proses penyembuhan dermatitis paederus akibat racun kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) pada mencit (*Mus musculus*)?

## Metode Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian *quasy experimental design* secara *in vivo* dengan rancangan *randomized post test only control group design*. Penelitian ini sudah mendapatkan perijinan *ethical clearance* dari komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Pembuatan gel doksisisiklin pada penelitian ini diperlukan doksisisiklin HPMC, propilen glikol, dan aquadest. Stock racun pederin didapatkan melalui ekstraksi racun dari tubuh kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) dengan metode homogenisasi secara makros dengan pelarut aquades menggunakan mortar dengan perbandingan 5 ekor kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) dalam 1 mL aquades. Populasi penelitian ini terdiri dari mencit jantan jenis (*Mus musculus*) sebanyak 40 ekor.

Penelitian ini terdiri dari 4 kelompok yaitu kelompok kontrol normal tidak diinduksi apapun. Kontrol negatif diinduksi racun pederin sebanyak 500  $\mu$ l. Kelompok P1 dan kelompok P2 diinduksi racun pederin sebanyak 500  $\mu$ l kemudian kelompok P1 diberikan gel doksisisiklin 1%, kelompok P2 diberikan gel doksisisiklin 5%. Pengamatan dilakukan pada hari ke-1, hari ke-3, hari ke-5, hari ke-7, dan hari ke-15 dengan cara diterminasi di dalam tabung yang berisi kloroform. Pembuatan preparat histopatologi kulit menggunakan pewarnaan hematoksilin dan eosin (H&E). Sel makrofag dihitung dengan perbesaran lensa objektif 400 kali. Perhitungan dilakukan menggunakan software *ImageJ* pada enam lapang pandang

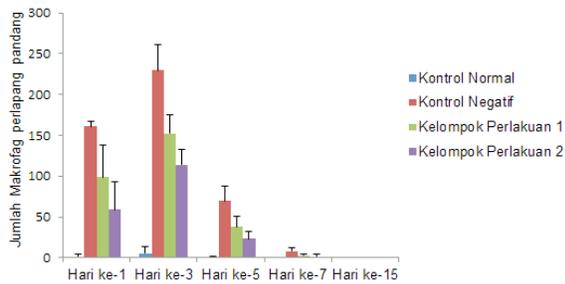
Analisis statistik pada penelitian ini menggunakan *Shapiro-Wilk* untuk menguji normalitas data dan dilanjutkan dengan analisis *One Way Anova* dan apabila uji normalitas data tidak didapatkan hasil yang sigifikan dilanjutkan dengan uji *Kruskal Wallis*.

## Hasil Penelitian

Berikut data yang diperoleh selama penelitian yang berupa rata-rata jumlah makrofag pada hari ke-1, hari ke-3, hari ke-5, hari ke-7, dan hari ke-15 yang disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata jumlah makrofag hari ke-1, ke-3, ke-5, ke-7, dan ke-15 perlapang pandang

Pengamatan	Rata-rata $\pm$ SD			
	Kontrol Normal	Kontrol Negatif	KP 1	KP 2
Hari ke-1	1.3 $\pm$ 2.9	161.7 $\pm$ 6.6	98.4 $\pm$ 40	58.8 $\pm$ 34
Hari ke-3	5.3 $\pm$ 7.9	229.5 $\pm$ 31	152 $\pm$ 22	114 $\pm$ 18
Hari ke-5	0.4 $\pm$ 1.4	69.6 $\pm$ 18.5	38 $\pm$ 12.8	23.6 $\pm$ 9.3
Hari ke-7	0.0 $\pm$ 0.0	7.9 $\pm$ 4.6	2.6 $\pm$ 2.1	1.6 $\pm$ 2.9
Hari ke-15	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0



Gambar 1. Diagram rata-rata jumlah makrofag hari ke-1, ke-3, ke-5, ke-7, dan ke-15 perlapang pandang

Pada gambar 1, dapat dilihat terjadi kenaikan jumlah makrofag dari hari ke-1 menuju hari ke-3 pada setiap kelompok (kontrol negatif, kelompok perlakuan satu, dan kelompok perlakuan dua). Pada hari ke-5, hari ke-7, dan ke-15 terlihat penurunan jumlah makrofag pada setiap kelompok (kontrol negatif, kelompok perlakuan satu, dan kelompok perlakuan dua). Hasil tersebut juga menunjukkan jumlah makrofag pada kelompok perlakuan dua setiap harinya memiliki rata-rata jumlah paling rendah jika dibandingkan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan satu. Sedangkan, jumlah makrofag kelompok perlakuan satu berada diantara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dua.

Berdasarkan uji statistik One way Anova jumlah makrofag pada hari ke-1, hari ke-3, dan hari ke-5 didapatkan signifikansi masing-masing 0.00 ( $p < 0.05$ ). Sedangkan hari ke-7, hasil uji Kruskal Wallis didapatkan nilai  $p = 0.001$  ( $p < 0.05$ ). Hal ini berarti terdapat perbedaan signifikan dari jumlah makrofag pada kelompok kontrol negatif, kelompok perlakuan satu dengan pemberian gel doksisisiklin konsentrasi 1%, dan kelompok perlakuan dua dengan pemberian gel doksisisiklin konsentrasi 5%.

## Pembahasan

Dermatitis Paederus adalah iritasi kulit akut yang disebabkan adanya kontak kulit dengan racun yang ada pada kumbang tomcat (*Paederus* sp) [1]. Pada saat ini masih belum ditemukan pilihan obat yang tepat untuk menangani penyakit tersebut. Pada penelitian ini digunakan gel doksisisiklin sebagai terapi dalam proses penyembuhan dermatitis paederus. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa pemberian gel doksisisiklin mempengaruhi jumlah makrofag pada proses

penyembuhan dermatitis paederus akibat racun tomcat (*paederus* sp.).

Hasil dari penelitian ini didapatkan pada kelompok perlakuan dengan pemberian gel doksisisiklin dosis 1% dan 5% hari ke-1, hari ke-3, hari ke-5, dan hari ke-7 terlihat bahwa rata-rata jumlah makrofag lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif pada hari yang sama. Hal ini bisa terjadi karena gel doksisisiklin memiliki sifat *dual effect* yaitu sebagai antibiotik dan MMP inhibitor. Doksisisiklin yang merupakan salah satu golongan antibiotik dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Selain itu, penurunan jumlah makrofag dimungkinkan terjadi karena doksisisiklin mampu menghambat aktivitas MMP dengan melakukan ikatan pada ion  $Ca^{2+}$  sehingga menyebabkan enzim tidak berfungsi. Dengan kemampuannya sebagai inhibitor MMP, doksisisiklin memberikan efek positif terhadap waktu penyembuhan luka [4]. Hasil ini sesuai dengan penelitian lainnya, bahwa racun paderin berasal dari simbiosis antara kumbang *Paederus* sp. dengan bakteri gram negatif *Pseudomonas aeruginosa* [2]. *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan enzim proteolitik yaitu MMP. Oleh karena itu, enzim ini diduga memiliki andil dalam proses dermakonekrosis pada dermatitis paederus [3]. Bentuk gel pada sediaan doksisisiklin mendukung proses penyembuhan luka dengan menciptakan kondisi lembab pada luka. Kondisi lembab pada luka berfungsi untuk mengurangi nyeri, mempercepat pertumbuhan granulasi dan epitelisasi [5].

Hasil lain yang diperoleh menunjukkan terjadi perubahan jumlah makrofag setiap kelompok pada hari ke-3 yang cukup tinggi. Hal ini terjadi karena peradangan telah memasuki tahap radang kronik. Radang kronis ditandai oleh adanya sel-sel mononuklear, yaitu makrofag, limfosit, dan sel plasma. Makrofag yang merupakan transisi dari monosit yang mempunyai fungsi penting pada proses peradangan, misalnya fagositosis pada jaringan [6]. Pada hari ke-5 dan hari ke-7, rata-rata jumlah makrofag menurun dibandingkan dengan hari ke-3. Hal ini disebabkan peradangan telah memasuki tahap kronis. Makrofag mempunyai fungsi penting dalam proses perbaikan jaringan, karena setelah proses peradangan dapat diatasi, maka makrofag akan mengeluarkan IL-, PDGF yang berfungsi untuk proliferasi fibroblast, angiogenesis, dan pembentukan kolagen [7].

Hasil uji analitik pada penelitian ini menunjukkan perbedaan yang bermakna

( $p < 0,05$ ) yang berarti terdapat perbedaan signifikan dari jumlah makrofag pada kelompok kontrol negatif, kelompok perlakuan satu dengan pemberian gel doksisisiklin konsentrasi 1%, dan kelompok perlakuan dua dengan pemberian gel doksisisiklin konsentrasi 5%. Penelitian ini sangat bermanfaat karena sampai saat ini untuk menangani penyakit dermatitis paederus, dokter cenderung menggunakan kortikosteroid sebagai terapinya [8]. Pengobatan dermatitis paederus menggunakan kortikosteroid tidak efektif karena waktu penyembuhan menjadi lebih lama [9].

Secara umum gel doksisisiklin memiliki pengaruh terhadap penurunan jumlah makrofag dalam proses penyembuhan dermatitis paederus. Akan tetapi, kekurangan dari penelitian ini masih belum bisa diketahui dosis efektif dari gel doksisisiklin karena penentuan dosis pada penelitian ini masih menggunakan *trial and error* dan jumlah sampel mencit yang kurang banyak tiap kelompok.

### Simpulan dan Saran

Terdapat perbedaan yang bermakna pengaruh pemberian gel doksisisiklin terhadap jumlah makrofag pada proses penyembuhan dermatitis paederus akibat racun kumbang Tomcat (*Paederus* sp.), hal ini dibuktikan dengan jumlah makrofag pada kelompok perlakuan yang lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol negative dan secara statistic signifikan pada hari ke-1, hari ke-3, hari ke-5, dan hari ke-7.

Walaupun penelitian ini hasilnya signifikan, akan tetapi masih diperlukan variasi dosis dan penambahan jumlah sampel sehingga bisa dijadikan dasar untuk uji klinis.

### Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Perguruan Tinggi yang telah mendanai penelitian ini melalui program kreativitas mahasiswa.

### Daftar Pustaka

- [1] Singh G, Ali YA. Paederus Dermatitis. India: Indian J Dermatol Venereol Leprol; 2007.
- [2] Piel Jorn. A polyketide Synthase-peptide Synthetase Gene Cluster from An Uncultured Bacterial Symbiont of *Paederus* Beetles; 2002.
- [3] Asoodeh A, Musaabadi HM. Purification and Characterization of a Thermostable Neutrophilic Metalloprotease from *Pseudomonas* sp. Iran: Iranian Journal Of Biotechnology; 2012
- [4] Katzung BG. Farmakologi Dasar & Klinik. Jakarta: EGC; 2012.
- [5] Robbins SL, Kumar V. Buku Ajar Patologi. Jakarta: EGC; 2007.
- [6] Baratawidjaja KG. Immunologi Dasar, Ed 7. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2006.
- [7] Marison J. Manajemen Luka. Jakarta: EGC; 2003.
- [8] Kemenkes RI. Panduan Pencegahan dan Pengendalian Kumbang Paederus sp.. Jakarta: Kemenkes RI; 2012.
- [9] Fakoorziba MR, Eqhbal F, Azizi K, Moemenbellah F. Treatmen Outcome of Paederus Dermatitis Due to Rove Beetles (Coleoptera: Staphylinidae) On Guinea Pigs. Trop Biomed; 2011.