

**EFEK ANTIINFLAMASI TOPIKAL KHITIN
PADA KELINCI JANTAN PUTIH**

SKRIPSI



oleh :

YENI YULIANI
02613187

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
AGUSTUS 2006**

SKRIPSI

**EFEK ANTIINFLAMASI TOPIKAL KHITIN
PADA KELINCI JANTAN PUTIH**

Yang diajukan oleh :



Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Endang Darmawan, M.Si., Apt.

Feris Firdaus, S.Si.

SKRIPSI

EFEK ANTIINFLAMASI TOPIKAL KHITIN PADA KELINCI JANTAN PUTIH

oleh :

YENI YULIANI
02613187

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal: 18 Agustus 2006

Ketua Penguji,



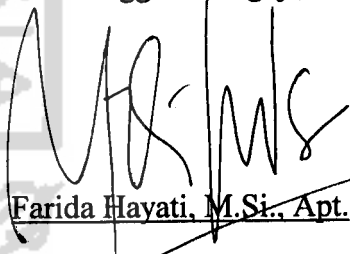
Endang Darmawan, M.Si., Apt.

Anggota Penguji,



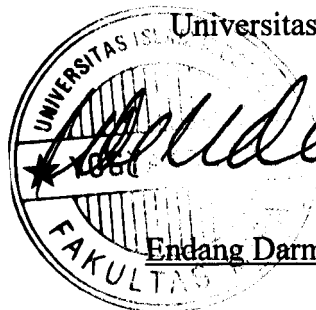
Feris Firdaus, S.Si.

Anggota Penguji,



Farida Hayati, M.Si., Apt.

Mengetahui
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia



Endang Darmawan, M.Si., Apt.

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah ya Allah...hamba lulus...Terimakasih yang tak terhingga untukMu ya Allah; Sang Maha hati, Sang Maha Segalanya, Sang Maha Sempurna, yang telah memberikan cinta tak terhingga, nikmat yang tak pernah berujung, segala cobaan yang selalu membuat hambaMu ini lebih tegar dalam menjalani sisa kehidupan; Terimakasih atas segala pejaman dan ketertundukan dalam doa yang telah membuat diriku bangga dan bahagia hadir sebagai mahlukMu di dunia ini; Terimakasih karena Allah sayang padaku dengan berbagai cara yang Dia tunjukkan di setiap hela nafas selama ini...hamba takut dan cinta kepadaMu... tuntunlah hamba menemuiMu...Terimakasih dan sembah sujud kepada Baginda Nabi Muhammad SAW, atas segala perjuangan dan amanah yang tak pernah luntur hingga akhir jaman. Aku rindu untuk melihatmu ya Rasulullah....

"Allah pasti akan mengangkat orang-orang beriman dan berpengetahuan di antaramu beberapa tingkat lebih tinggi" (Al Mujaadilah : 11)

"Dan mintalah pertolongan (Kepada Allah) dengan sabar dan sholat"

"Kepercayaanmu terhadap dirimu akan sangat membantu mewujudkan makna hidup yang lebih banyak dan membantu mendapatkan keuntungan dalam hidup"

"Tanamkanlah dalam khayalanmu tentang keberhasilan dan biarkan dia tertulis dalam hatimu"

Karya kecil ini aku persembahkan :

Teruntuk Mimi dan Bapa serta Ma Haji dan Alm. Bapa Haji yang menjadi orang tua keduaqu...Ye2n selalu mencintai....yang selalu sabar mendidikqu, mengajarkan hidup dan kehidupan serta menjaga aku berjalan tetap di jalan berbatas ini....Makasih untuk kepercayaannya, insyaAllah Ye2n akan selalu berusaha memberikan yang terbaik.....Sungguh anugrah hadir diantara beliau.....

Teruntuk kakak-kakakku tersayang : Teh Iya dan Teh Dede....u're the very best sister i ever had in this life....Makasih untuk selalu menyokong dan memapahku dengan segala nasehat-nasehatnya yang kadang bikin telinga geli hehehe...maaf....

Teruntuk kakak-kakak iparku : A Amik dan A Maman....Makasih udah kasih aku keponakan-keponakan yang lucu dan bandel-bandel : Aji, Dicky, Egi, Erik, Tedy dan Putri centil ^_^.....

Teruntuk keluargaku dan saudara-saudaraku yang lain....tak akan pernah lengkap tanpa kehadiran kalian...."kehidupan tak akan bisa ditukar dengan apapun, kebahagiaan adalah bersama orang-orang yang dicintai"

♥ Special for ♥

∞ Kakak Joe...where my spirit within...thanx 4 listening everything that i say, thanx 4 always being there 4 me...when we'll meet Bro???don't run away.....∞

∞ Favan...yang slalu aq ingin jadi penagak tulang rusuknya, yang tak pernah pedulikannya.....I'll keep u deepest in my heart, maybe 4 now or maybe 4 last.....∞

∞ Sobat-sobatqu yang jauh disana tapi tetep dekat di hati...A Ugeh, Ocep, Sangky, Cunne, Inayah, Opik, Teh Titin...Thanx for support that u give for me...Gak ada kalian Gak rame.....∞

∞ Sahabat-sahabatqu....Le-Lee, Ery, Rhene, Rahmie, Mb Amie, Nia, My siz Tika, Yanti, Ganezzz, Bu2d, Tholih, Lyana n Nadinnya...Makasih banget untuk semuanya, segala bantuan dan dukungan kalian...Untuk sarana dan prasarana yang sering aq pinjem hehehe..... Nyesel klo gak Sahabatan sama kalian.....berwarna hidup gw....Sumpah dechllllllll ∞

∞ Temen-temen.....Ana, Wulan, Anang AK Bedjo (sorry suka nyusahin), Gina, srt, Ratih....Makasih udah jadi temen aq, udah mau nerima aq apa adanya.....Keep Our Friendship Oche!!!..... ∞

∞ Temen-temen angkatan 2002 "My LEOPHARD" dan anak-anak PIORahma, Che, Sony, Aya, Damas, Sandy, Ayu, Tika, Feby, Rhiri, Yulika, Miko, Dewi, Unix, Yulia, Lutfi, Dian, Tito, Ilham, Anto, P'D, Andi, D'mumu n others yang gak bisa disebutin satu persatu.....Makasih atas kebersamaan kita.....Bangga bisa kenal sama kalian..... ∞

∞ Gw sendiri...Hebat euyllakhirnya lulus juga...C A R P E R D I E M...Rebut Hari Inlllll ∞

"Terimakasih telah menjadi bagian dari hidupku yang hitam putih hingga jadi berarti, berwarna dan bercahaya.....lllll"

" Untuk Agamaku...Islam..."

" Untuk Ilmu pengetahuan..."

" Untuk hidupku..."

" Untuk Universitas Islam Indonesia...."

" Kita hidup dari masa lalu, jangan pernah menengok dan kau mendapatkan penyesalan karenanya"

KATA PENGANTAR



Alhamdulillahibil'amin, segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini, yang merupakan salah satu syarat kelengkapan untuk menyelesaikan program S1 Jurusan Farmasi Universitas Islam Indonesia.

Penelitian ini berisi mengenai efek antiinflamasi topikal khitin sebagai agen anti ketombe (*antidandruff*) terhadap dermatitis alergi pada kelinci.

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada pihak-pihak yang telah memberikan bantuan, dorongan, serta pengarahan-pengarahan untuk membimbing penulis dalam penulisan skripsi sebagai berikut :

1. Endang Darmawan, M.Si., Apt. selaku pembimbing utama dalam penelitian ini.
2. Sri Mulyaningsih, M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping dalam penelitian ini.
3. Feris Firdaus, S.Si. selaku pembimbing pendamping dalam penelitian ini, makasih atas masukan-masukannya.
4. Farida Hayati, M.Si., Apt. selaku penguji sekaligus pembimbing dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Kurniasih, Drh., MVSc., PhD. yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian ini.
6. Laboran laboratorium farmakologi (Pak Marno) dan teknologi sediaan farmasi (Mas Hartanto) serta laboran yang lainnya, yang telah berkenan meluangkan waktu dan kerjasamanya selama penelitian ini.
7. Yulika, Miko dan Dewi (cayoooo ya!!!) yang menjadi teman seperjuangan dalam menyelesaikan penelitian ini.

8. Serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu baik langsung maupun tidak langsung yang telah ikut membantu dalam keberhasilan penelitian ini.

Penulis menyadari dalam penyusunan skripsi ini terjadi banyak kekurangan sehingga saran dan kritik sangat diperlukan bagi penulis. Semoga penelitian ini dapat memberikan kontribusi dalam penelitian dan pengembangan ilmu pengetahuan di Indonesia.



Yogyakarta, Agustus 2006

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL DEPAN.....	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN PEMBIMBING.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vi
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xv
<i>ABSTRACT</i>	xvi
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II. STUDI PUSTAKA	
A. Tinjauan Pustaka.....	6
1. Inflamasi.....	6
2. Ketombe, <i>Seborrhoeic Dermatitis</i> dan <i>Psoriasis</i>	7
3. Khitin.....	8
4. Dermatitis Kontak.....	11
a. Dermatitis Kontak Iritan.....	12
b. Fotodermatitis.....	12
c. Urtikaria Kontak.....	13
d. Dermatitis Kontak Alergik.....	13
1) Patogenesis Dermatitis Kontak Alergik.....	14

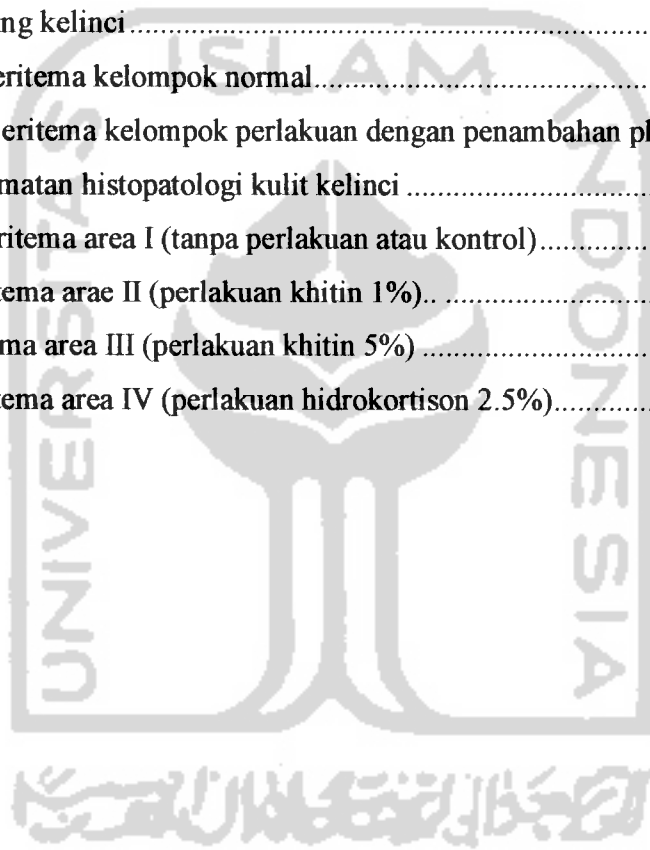
a) Fase Sensitisasi.....	14
b) Fase Elisitasi.....	15
e. Uji Iritasi Primer.....	17
B. Landasan Teori	24
C. Hipotesis	25
BAB III. METODE PENELITIAN	
A. Bahan dan Alat	26
1. Bahan	26
2. Alat.....	26
B. Cara Penelitian.....	26
1. Pembuatan Khitin 1% dan 5%.....	26
2. Penanganan Hewan Uji.....	27
3. Pencukuran Hewan Uji.....	27
4. Pengelompokan Hewan Uji.....	28
5. Pemberian Bahan Uji dan Pengamatan Gejala.....	28
7. Histopatologi Kulit.....	30
C. Analisa Hasil	32
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	34
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	47
A. Kesimpulan.....	47
B. Saran.....	47
DAFTAR PUSTAKA.....	48
LAMPIRAN.....	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur Khitin.....	9
Gambar 2. Skema kerja uji iritasi khitin	31
Gambar 3. Skema kerja histopatologi kulit.....	32
Gambar 4. Histopatologi irisan membujur kulit normal dengan pengecatan HE dan gambaran histopatologi terjadinya peradangan.....	41
Gambar 5. Histopatologi irisan membujur kulit dengan pengecatan HE dimana terjadi nekrosis, erosi dan peradangan akibat pemberian phenol 50%.....	42
Gambar 6. Histopatologi irisan membujur kulit dengan pengecatan HE dimana terjadi peradangan pada heterotel tanpa pemberian phenol 50% (kulit normal + khitin 1%) dan hemoragi dengan pemberian phenol 50%.....	42
Gambar 7. Histopatologi irisan kulit membujur yang diberi phenol 50% memulai regenerasi epidermis.....	43
Gambar 8. Kulit Normal	57
Gambar 9. Eritema skor 2	57
Gambar 10. Eritema skor 3	58
Gambar 11. Serbuk Khitin	58

DAFTAR TABEL

Tabel I. Skor eritema dan edema.....	21
Tabel II. Kategori sifat mengiritasi berdasarkan rata-rata gabungan indeks iritasi primer senyawa kimia (Brossia, 1988)	22
Tabel III. Kategori sifat mengiritasi berdasarkan rata-rata gabungan indeks iritasi primer senyawa kimia (Lu, 1995)	22
Tabel IV. Area punggung kelinci.....	28
Tabel V. Hasil indeks eritema kelompok normal.....	37
Tabel VI. Hasil indeks eritema kelompok perlakuan dengan penambahan phenol 50%..	37
Tabel VII. Hasil pengamatan histopatologi kulit kelinci	44
Tabel VIII. Rata-rata eritema area I (tanpa perlakuan atau kontrol).....	53
Tabel IX. Rata-rata eritema area II (perlakuan khitin 1%)..	54
Tabel X Rata-rata eritema area III (perlakuan khitin 5%)	54
Tabel XI. Rata-rata eritema area IV (perlakuan hidrokortison 2.5%).....	55



DAFTAR LAMPIRAN

1. Data pengamatan iritasi primer secara kualitatif.....	53
2. Keterangan Skor.....	56
3. Rumus Perhitungan.....	56
4. Foto kulit kelinci.....	57
5. Serbuk khitin.....	58
6. Hasil analisis statistik.....	59



EFEK ANTIINFLAMASI TOPIKAL KHITIN PADA KELINCI JANTAN PUTIH

INTISARI

Inflamasi merupakan suatu respon jaringan protektif terhadap cedera atau kerusakan jaringan. Tanda klasik radang akut yaitu nyeri (dolor), panas (kalor), kemerahan (rubor), dan hilangnya fungsi (functio laesa). Kejadian penyakit inflamasi pada kulit, termasuk dermatitis atopik dan psoriasis meningkat pada orang dewasa dan anak-anak. Terapi yang ada, biasanya tidak langsung berinteraksi antara pasien dengan dokter ahli sehingga efikasi kurang efektif dan terjadinya efek samping. Khitin merupakan suatu polisakarida alami yang melimpah, telah banyak diketahui penggunaan polimer khitin yang sangat luas di bidang industri, pertanian, biomedis, bioteknologi dan kesehatan. Salah satu yang menarik adalah khasiat khitin dan khitosan sebagai antiinflamasi (radang). Khasiat sebagai antiinflamasi ini akan bermanfaat dalam proses penyembuhan luka dan radang pada kulit. Penelitian ini dilakukan dengan rancangan dua faktor yaitu faktor obat dan praperlakuan yang dilakukan pada satu hewan uji. Praperlakuan pada kelinci yaitu dengan membuat kelinci menjadi iritasi terlebih dahulu dan tidak. Setiap punggung kelinci dibagi menjadi dua bagian dan setiap bagian tersebut dibagi menjadi empat area untuk seri perlakuan yaitu dengan pemberian khitin 1% dan 5%, kompetitor dan tanpa perlakuan. Uji iritasi dilakukan berdasarkan metode Khan *et al.*, (2000) yang telah dimodifikasi, kemudian dilakukan histopatologi kulit untuk mengetahui efektivitas khitin sebagai agen antiketombe dengan melihat pengaruhnya pada perbaikan sel-sel kulit. Hasil analisis memperlihatkan bahwa khitin 1% dan 5% tidak memberikan efek antiinflamasi pada iritasi akibat phenol 50%, karena tidak bisa menurunkan nilai indeks eritema dan tidak bisa mengurangi peradangan akibat phenol 50%.

Kata kunci : Khitin, Eritema, Inflamasi.

TOPICAL ANTIINFLAMMATORY EFFECT OF KHITIN AT WHITE MALE RABBIT

ABSTRACT

Inflammation is a respon of network protect to injuring or classic damage of tissue. Acute classic marks of this inflamed are pain, hot, squeezing and lost of function (function laesa). Dandruff happened by the effect of light inflammation. Occurrence of disease of inflammation at husk, including atopic dermatitis and psoriasis mount at children and adult. Existing therapies, usually indirectly have interaction between patient and expert doctor so that less effective and the happening of side effects. chitin is a natural polysaccharide which abundance, it have known by many usages of polymer khitin and khitosan that very wide in industrial area, agriculture, biomedical, health and biotechnology. One of useful of chitin is for antiinflammation. Benefit of chitin as this antiinflammation will be useful in course of hurt healing and chafe at husk. This research is conducted with device two factors that are medicine factor and pretreatment what is conducted at one animal test. . Pretreatment at rabbit that is made rabbit become dermatitis before and no dermatitis. Each every back of rabbit divided become two rabbits and each every the rabbits divided become four areas for the series of treatment that is with giving of khitin 1% and 5%, kompetitor and without treatment. Irritation test is conducted according to method Khan al et., (2000) which have modification later then conducted by husk histopathology to know effectiveness of khitin as agent of antidandruff seen the influence at repair of husk cells. Result of analysis show that chitin 1% and 5% do not give the antiinflammatory effect of irritation cause phenol 50%, because it cannot degrade the value an index of erytema and cannot lessen the inflammation of effect of gift phenol 50%.

Keyword : Chitin, Erytema, Inflammation.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Udang adalah komoditas andalan dari sektor perikanan yang umumnya diekspor dalam bentuk beku. Potensi produksi udang di Indonesia dari tahun ke tahun terus meningkat. Selama ini potensi udang Indonesia rata-rata meningkat sebesar 7,4 % per tahun. Data tahun 2001, potensi udang nasional mencapai 633.681 ton. Apabila asumsi laju peningkatan tersebut tetap maka pada tahun 2004 potensi udang diperkirakan sebesar 785.025 ton. Dari proses pembekuan udang untuk ekspor, 60 - 70 % dari berat total udang menjadi limbah (bagian kulit, kepala dan ekor) sehingga diperkirakan akan dihasilkan limbah udang sebesar 510.266 ton. Cangkang udang mengandung zat khitin sekitar 99,1 %. Jika diproses lebih lanjut dengan melalui beberapa tahap, akan dihasilkan khitosan. Khitosan memiliki sifat larut dalam suatu larutan asam organik, tetapi tidak larut dalam pelarut organik lainnya seperti dimetil sulfoksida dan juga tidak larut pada pH 6,5. Sedangkan pelarut khitosan yang baik adalah asam asetat (Prasetyo, 2004).

Sebagian besar limbah udang berasal dari kulit, kepala, dan ekornya. Fungsi kulit udang tersebut pada hewan udang (hewan golongan invertebrata) yaitu sebagai pelindung (Neely dan Wiliam, 1969). Kulit udang mengandung protein (25 % - 40%), kalsium karbonat (45% - 50%), dan khitin (15% - 20%), tetapi besarnya kandungan komponen tersebut tergantung pada jenis udangnya. Sedangkan kulit kepiting mengandung protein (15,60% - 23,90%), kalsium karbonat (53,70 - 78,40%), dan khitin (18,70% - 32,20%), hal ini juga tergantung pada jenis kepiting dan tempat hidupnya. Kandungan khitin dalam kulit udang lebih sedikit dari kulit kepiting, tetapi kulit udang lebih mudah didapat dan tersedia dalam jumlah yang banyak sebagai limbah (Focher *et al.*, 1992).

Limbah yang dihasilkan dari proses pembekuan udang, pengalengan udang dan pengolahan kerupuk udang berkisar antara 30 - 75 % dari berat total udang. Jadi jumlah bagian yang terbuang dan menjadi limbah dari usaha pengolahan udang tersebut sangat tinggi. Limbah udang mengandung konstituen

utama yang terdiri dari protein, kalsium karbonat, khitin, pigmen dan abu. Kulit udang yang mengandung senyawa kimia khitin dan khitosan merupakan limbah yang mudah didapat dan tersedia dalam jumlah yang banyak, yang selama ini belum dimanfaatkan secara optimal (Margarof, 2004). Meningkatnya jumlah limbah udang masih merupakan masalah serius yang perlu dicarikan upaya pemanfaatannya khususnya di Indonesia. Hal ini bukan saja memberikan nilai tambah pada usaha pengolahan udang tetapi juga dapat menanggulangi masalah pencemaran lingkungan hidup yang ditimbulkan, terutama masalah bau yang dikeluarkan serta estetika lingkungan yang kurang bagus (Manjang, 1993).

Saat ini di Indonesia sebagian kecil dari limbah udang sudah dimanfaatkan dalam hal pembuatan kerupuk udang, petis, terasi dan bahan pencampur pakan ternak. Di berbagai negara maju seperti Amerika Serikat dan Jepang, limbah udang telah dimanfaatkan di dalam industri sebagai bahan dasar pembuatan khitin dan khitosan. Khitin dan khitosan serta turunannya memiliki sifat sebagai bahan pengemulsi koagulasi dan penebal emulsi. Manfaatnya di berbagai industri modern banyak sekali seperti industri farmasi, biokimia, bioteknologi, biomedikal, pangan, kertas, tekstil, pertanian dan kesehatan (Lang, 1995). Khitosa merupakan senyawa yang tidak larut dalam air, larutan basa kuat, sedikit larut dalam HCl dan HNO₃, dan H₃ PO₄, dan tidak larut dalam H₂SO₄. Khitosa tidak beracun, mudah mengalami biodegradasi dan bersifat polielektrolitik (Hirano, 1986). Disamping itu khitosa dapat dengan mudah berinteraksi dengan zat-zat organik lainnya seperti protein. Oleh karena itu, khitosa relatif lebih banyak digunakan pada berbagai bidang industri terapan dan industri farmasi dan kesehatan (Muzzarelli, 1986).

Limbah udang sebanyak itu di Indonesia, jika tidak ditangani secara tepat, akan menimbulkan dampak negatif bagi lingkungan, karena selama ini pemanfaatan limbah cangkang udang hanya terbatas untuk pakan ternak saja seperti itik, bahkan sering dibiarkan membusuk. Khitosa dapat dihasilkan dari limbah cangkang udang yang banyak tersedia di Indonesia melalui beberapa proses, yaitu demineralisasi dan deproteinisasi cangkang udang serta deasetilisasi khitin menjadi khitosa. Pada saat ini khitosa memiliki spektrum penggunaan yang luas dalam industri dan kesehatan, seperti dalam pengolahan limbah cair,

pelapis kapsul obat, pengawet makanan, pembungkus ikan dalam industri pengolahan ikan, dan sebagai bahan penstabil (*bulking agent*) serta sebagai polimer dalam bidang teknologi polimer, penggunaannya lebih luas dari khitin.

Di lain pihak rambut bisa membuat seseorang terlihat lebih tua dan kuyu. Itu jika rambut tidak dijaga, sehingga terlihat kusam. Agar rambut senantiasa terlihat indah, kesehatan dan kebersihan rambut adalah hal mutlak yang harus selalu dijaga. Pada setiap kepala manusia, setidaknya terdapat 100.000 helai rambut. Adalah normal jika 50-100 helai rambut rontok setiap hari. Dalam keadaan normal, rambut yang rontok akan tumbuh kembali (Weitzman, 1995).

Beberapa Masalah Rambut 1. Kutu 2. Ketombe 3. Rambut rontok. Ketombe (*Dandruff*) merupakan penyebab gangguan pada kulit kepala. Jika seseorang mengalami gangguan karena ketombe, maka sel yang mati akan meningkatkan kematian sel kulit kepala (Squeo, et al., 1998). Oleh karena itu proses perbaikan kulit kepala meningkat. Kulit kepala yang lepas menjadi dan lebih lanjut akan menyebabkan infeksi pada kulit kepala. Rambut juga akan menjadi kotor. Kondisi ini terjadi biasanya pada usia pubertas 20 – 30 tahun, olahragawan dan lebih banyak dialami oleh laki-laki dibandingkan wanita (Nweze, 2001).

Pertumbuhan jamur yang sangat banyak dari jamur ini- biasanya *pityrosporum ovale* (McGinley et al., 1975), *Trichophyton*, *Microsporum*, dan *Epidermophyton* yang merupakan penyebab dermatofitosis dan menginfeksi rambut dan kulit kepala, kulit dan kuku, dapat menyebabkan ketombe. *Trichophyton* ini mampu menginvasi keratin kulit, terutama kulit kepala (Weitzman & Summerbell, 1995). Pertumbuhan jamur ini dimedia oleh iklim yang panas dan dengan adanya cahaya UV-A matahari. Pada keadaan yang lebih parah akan timbul *seborrhoeic eczema* (atau *seborrhoeic dermatitis*) (Nweze, 2001; Sabota et al., 1996).

Obat-obat antiketombe yang beredar dipasaran umumnya mengandung bahan-bahan logam. Komposisi yang sering terdapat dalam shampo antiketombe seperti selenium, zinc phyrithione. Namun demikian selenium dan zinc phyrithion harga yang relatif tinggi dan memiliki toksisitas yang tinggi terhadap hati, yaitu nekrosis sel hati dan kulit kepala (Ohlendorf, 1996). Berdasarkan alasan tersebut

diatas maka perlu dicari agen yang berasal dari alam yang memiliki sifat yang baik dan toksisitas yang lebih rendah.

Ketombe terjadi akibat inflamasi ringan pada kulit kepala yang bisa berakhir kronis. Ketombe timbul ketika sel epidermis kulit kepala mengalami kematian dalam jumlah yang banyak (Anonim, 2005). Inflamasi merupakan suatu respon jaringan protektif terhadap cedera atau kerusakan jaringan. Tanda klasik radang akut yaitu nyeri (dolor), panas (kolor), kemerahan (rubor), dan hilangnya fungsi (*functio laesa*) (Ganiswara, 2004). Salah satu yang menarik adalah khasiat khitin dan khitosan sebagai antiinflamasi (radang). Khasiat sebagai antiinflamasi ini akan bermanfaat dalam proses penyembuhan luka dan radang pada kulit. Studi yang dilakukan oleh Chen *et al.*, (2003) bahwa khitosan memiliki aktivitas sebagai antioksidan yaitu dengan memecah radikal superoksida (*in vitro*) dan aktivitas ini akan meningkat jika khitosan dikonsumsi lewat jalur oral. Seo *et al.*, (2003) menunjukkan bahwa khitosan pada tingkat seluler yaitu *cytokines* dapat menghambat *NF- κ B* pada proses inflamasi yang disebabkan oleh hipoksia. Selain itu sifat imunoprotektif dari khitin dan khitosan juga mempunyai khasiat sebagai antiinflamasi dengan mekanisme penghambatan pada *cytokines* pada sel HMC-1 (Choi *et al.*, 2004).

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut di atas maka dapat dirumuskan masalah yang akan diangkat dan dicarikan solusinya adalah :

Apakah khitin yang diisolasi dari limbah cangkang udang dapat memberikan efek antiinflamasi topikal yang dilihat melalui parameter indeks eritema primer dan histopatologi sel-sel kulit pada kelinci jantan putih.

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah tersebut di atas maka dapat dirumuskan tujuan penelitian yang akan dicapai secara khusus dalam penelitian ini adalah :

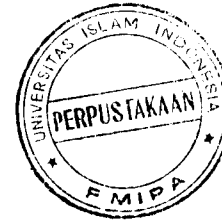
Mengetahui apakah khitin yang diisolasi dari limbah cangkang udang dapat memberikan efek antiinflamasi topikal yang dilihat melalui parameter indeks eritema primer dan histopatologi sel-sel kulit pada kelinci jantan putih.

D. Manfaat Penelitian

Melihat kecenderungan konsumsi udang yang meningkat di tahun-tahun mendatang, maka perlu mengantisipasi peningkatan jumlah limbah udang berupa kulit (shell) yang bila dibuang saja akan mengganggu lingkungan. Oleh karena itu, diharapkan adanya manfaat dari penelitian ini diantaranya adalah :

1. Penelitian ini merupakan salah satu alternatif pemanfaatan limbah udang berupa kulit (shell) sebagai material baru, dengan memberi nilai tambah terhadap produk perikanan tersebut melalui pengolahan limbahnya untuk kebutuhan komersial.
2. Memperhatikan potensi bahan baku dan prospek pemanfaatan polimer ini untuk industri kesehatan seperti antiketombe dan pelindung kulit, maka polimer khitin dan khitosan sangat potensial untuk dikembangkan di Indonesia, sebagaimana telah diketahui penggunaan polimer khitin dan khitosan yang sangat luas di bidang industri, pertanian, biomedis, bioteknologi dan kesehatan.

BAB II STUDI PUSTAKA



A. Tinjauan pustaka

1. Inflamasi

Inflamasi adalah reaksi tubuh terhadap invasi bahan infeksi, tantangan antigen atau bahkan hanya cedera fisis. Selama reaksi inflamasi terdapat tiga proses utama, yaitu:

- b. Aliran darah ke daerah itu meningkat
- c. Permeabilitas kapiler meningkat
- d. Leukosit, mula-mula neutrofil dan makrofag, lalu limfosit keluar dari kapiler menuju ke jaringan sekitarnya. Selanjutnya bergerak ke tempat yang cedera dibawah pengaruh stimulus-stimulus kemoaktif.

Inflamasi berlandaskan imunologis dibagi menjadi 3 kelas atas dasar respon imun pada fase awal, yaitu inflamasi berlandaskan *cell-mediated*, inflamasi berlandaskan *immune-complex-mediated*, inflamasi berlandaskan *Ig.E-mediated* (Moehadsjah *et al.*, 1996).

Proinflamatori sitokin melibatkan terutama TNF- α yang dihasilkan pada inflamasi lokal. TNF- α adalah stimulator autokrin dan juga sebagai penyebab kuat peradangan sitokin lainnya, meliputi interleukin (IL)-1, IL-6, IL-8 dan faktor stimulasi koloni granulosit-monosit. IL-1 juga dianggap menjadi mediator utama inflamasi pada patogenesis artritis reumatoid (Choi *et al.*, 2004).

Sampai sekarang fenomena inflamasi pada tingkat bioseluler masih belum dapat dijelaskan secara rinci. Walaupun demikian telah banyak hal yang telah diketahui dan disepakati. Fenomena inflamasi ini meliputi kerusakan mikrovaskular, meningkatnya permeabilitas kapiler, dan migrasi leukosit ke jaringan radang. Gejala proses inflamasi yang sudah dikenal ialah kalor, rubor, tumor, dolor dan *functio laesa*. Selama berlangsungnya fenomena inflamasi banyak mediator kimiawi yang dilepaskan secara lokal antara lain histamin, 5-hidroksitriptamin (5-HT), faktor kemoaktif, bradikinin, leukotrien dan PG (Ganiswarna, 2004).

Kejadian inflamasi kulit, termasuk dermatitis atopik dan psoriasis, meningkat pada orang dewasa dan anak-anak. Beberapa terapi sistemik dan topikal, termasuk steroid dan immunomodulator telah banyak tersedia. Terapi yang ada tersebut, biasanya tidak langsung berinteraksi antara si pasien dan dokter ahlinya sehingga efikasi kurang efektif dan terjadinya efek samping. Sehingga, diperlukan pengembangan pengobatan untuk keamanan pasien pada pengobatan inflamasi kulit tersebut (Bhol *et al.*, 2003).

2. **Ketombe, *Seborrhoeic Dermatitis* dan *Psoriasis***

a. **Ketombe**

Ketombe merupakan suatu masalah yang bisa sangat memalukan bagi kebanyakan orang yang harus dihadapi selama hidupnya. Seseorang yang mempunyai masalah ketombe dapat menyebabkan hilangnya kepercayaan diri pada situasi yang tidak bisa terkontrol. Kebanyakan orang yang mempunyai ketombe merasa tidak bias memakai pakaian berwarna hitam karena takut. Pencegahan, pengobatan dan pengendalian merupakan tujuan dari terapi ketombe (Anonim, 2005).

Ketombe terjadi akibat inflamasi ringan pada kulit kepala yang bisa berakhir kronis. Ketombe timbul ketika sel epidermis kulit kepala mengalami kematian dalam jumlah yang banyak. Ketombe terlihat berupa serpihan kecil berwarna putih atau abu-abu, iritasi, tidak nyaman, khususnya terdapat pada bagian atas kepala. Serpihan tersebut sering terlihat pada permukaan rambut dan terjatuh pada bahu sehingga terlihat dan memungkinkan bisa menjadi suatu masalah (Anonim, 2005).

b. ***Seborrhoeic Dermatitis***

Seborrhea berasal dari kata sebum, merupakan suatu minyak alami yang dihasilkan dari kelenjar sebaceous dan mengalir ke folikel rambut. Seborrheic dermatitis dikenal sebagai bentuk ketombe yang lebih banyak dan lebih parah karena tidak ada batas yang lebih jelas anatar keduanya. Serpihan, kemerahan dan gatal terjadi lebih parah dan terlihat pada kulit kepala, kening, di sekitar hidung dan pipi, dibelakang telinga dan bahkan pada dada serta pada lipatan paha. Hal ini

mungkin berhubungan dengan nutrisi rambut, bias menyebabkan kebotakan (Anonim, 2000).

Kejadian penyakit inflamasi pada kulit, termasuk dermatitis atopik dan psoriasis meningkat pada orang dewasa dan anak-anak. Beberapa terapi sistemik dan topikal, termasuk steroid dan immunomodulator telah banyak tersedia. Terapi yang ada, biasanya tidak langsung berinteraksi antara pasien dengan dokter ahli sehingga efikasi kurang efektif dan terjadinya efek samping. Karena itu, diperlukan pengembangan keamanan pada pengobatan penyakit inflamasi kulit (Bhol *et al.*, 2003).

c. Psoriasis

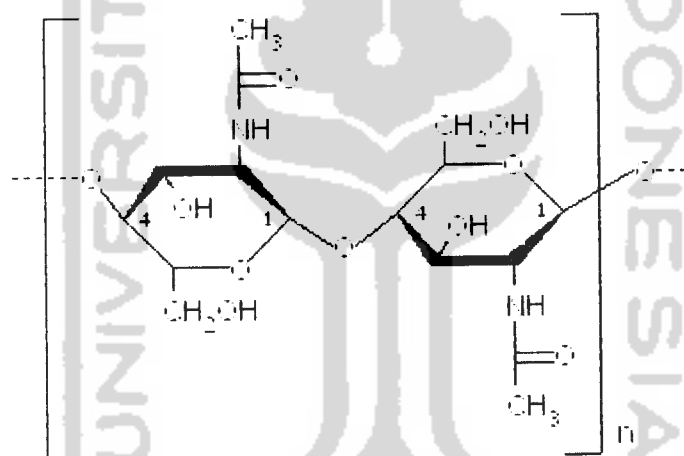
Psoriasis biasanya merupakan masalah yang lebih parah daripada seborrheic dermatitis dan terjadi pada hampir 3% dari populasi. Psoriasis tidak menular tetapi merupakan suatu penyakit turunan. Biasanya terlihat sebagai serpihan perak pada kulit kepala atau pada bagian tubuh yang lain. Kondisi serius dari psoriasis harus mendapatkan pengobatan secara medis. Tenaga kesehatan sering memberikan resep berupa krim steroid untuk menyembuhkan masalah tersebut (Anonim, 2005).

Psoriasis biasanya sangat ringan dan sering terdapat pada kulit kepala, siku dan lutut. Seborrheic dermatitis cenderung terdapat hampir pada seluruh kulit kepala, psoriasis sering terjadi pada daerah tertentu misalnya pada lipatan-lipatan kulit dan menyebabkan kemerahan serta serpihan yang tebal (Sullivan, 2001).

3. Khitin

Khitin adalah suatu polimer yang bisa ditemukan dimana-mana mulai dari kulit kumbang hingga pada jarring laba-laba. Khitin banyak terdapat di sekitar kita, pada tanaman maupun pada hewan. Kadang kala khitin sering diartikan sebagai suatu selulosa, karena keduanya mempunyai struktur molekul yang hampir sama. Selulosa mengandung gugus hidroksi, dan khitin mempunyai gugus asetamid. Khitin merupakan sesuatu yang luar biasa karena ia merupakan suatu polimer alami, atau suatu kombinasi dari berbagai elemen murni yang terdapat di alam. Biasanya, polimer adalah hasil buatan manusia. Kepiting, kumbang, cacing dan jamur mengandung sejumlah khitin yang sangat banyak (Anonim, 2002).

Khitin (*poly-N-acetyl-glucosamine*) adalah salah satu polimer yang paling umum ditemukan di alam. Secara structural, khitin berhubungan dengan selulosa, yang terdiri dari rantai panjang yang berupa molekul glukosa yang terhubung satu sama lain. Pada khitin, struktur tersebut merupakan suatu rantai ringan yang terdiri dari glukosa. Khitin terdapat pada kulit crustaceae dan serangga, dan pada organisme lainnya termasuk fungi, alga dan ragi. Secara komersial, khitin diisolasi dari kulit crustaceae setelah bagian-bagian lain yang tidak di perlukan di hilangkan. Khitin muncul untuk mengontrol patogenik dari nematoda dengan cara menstimulasi pertumbuhan secara alami menjadi mikroorganisme di dalam tanah, kemudian berbalik melepaskan suatu substansi yang bisa membunuh nematode patogenik dan telurnya (Anonim, 2005).



Gambar 1. struktur khitin (Anonim, 2005).

Khitin mempunyai rumus molekul $[C_8H_{13}O_5N]_n$ dengan berat molekulnya $[203,19]_n$. Khitin berbentuk serbuk atau serpihan putih hingga kuning, merupakan suatu polimer biologi seperti selulosa. Khitin larut dalam asam hidroksi, asam sulfat, asam asetat glasial, tidak larut dalam air, alkali, pelarut organik dan larutan asam. Khitin mempunyai kadar air $\leq 10\%$ dan kadar abu $\leq 1,5\%$ (Anonim, 2001).

Khitin adalah salah satu *polysaccharide* alami yang melimpah. Khitin dipertimbangkan sebagai derivatif dari selulosa, meskipun polimer ini terjadi pada organisme yang bukan penghasil selulosa. Struktur khitin adalah berupa poly [B-(1->4)-2- acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose] (*N-acetyl-D-glucosamine*) unit, sehingga khitin dapat disebut sebagai derivatif dari sellulosa dimana hydroxyl

grup (-OH) pada selulose (C-2) diganti dengan gugus acetamido (NHCOOH₃). Pada pemanfaatannya khitin menemui banyak kesulitan mengingat polimer ini sukar larut. Khitosan adalah derivatif dari khitin dengan struktur poly [B-(1->4)-2-amino-2-deoxy-D-glucose]. Pembuatan khitosan dari khitin diperoleh dengan jalan melakukan proses pemasakan dengan alkali kuat (NaOH). Keuntungan khitosan adalah mudah larut dalam suasana asam, sedangkan khitin tidak. Dengan demikian pada penggunaannya lebih mudah menggunakan khitosan daripada khitin. Khitin dan khitosan mempunyai peluang komersial karena mengandung nitrogen yang cukup tinggi (6,68%) dibandingkan dengan selulosa sintetik (1,25%) (Habibie, 2000).

Dalam biologi, khitin adalah salah satu komponen utama pada dinding sel fungi, skeleton serangga dan antropoda lainnya, dan beberapa pada hewan. Khitin merupakan suatu polisakarida, yang dibuat dari suatu unit asetilglukosamine (*N-acetyl-D-glucos-2-amine*). Dihubungkan pada β -1,4 sama seperti unit-unit glukosa yang membentuk selulosa. Karena itu, khitin sering disamakan dengan selulosa, dimana setiap gugus hidroksil pada setiap monomer digantikan oleh gugus acetylamino. Hal ini menyebabkan peningkatan ikatan hidrogen anatara polimer yang berdekatan, memberikan peningkatan kekuatan pada materialnya. Kekuatan dan fleksibilitas khitin adalah alasan pemilihan material tersebut sebagai bahan pembuat benang untuk pembedahan (Anonim, 2005).

Beberapa kegunaan khitin (Anonim, 2000) :

- a Aplikasi pada medis, dimana pada pertengahan tahun 1950 khitin terbukti bisa menyembuhkan luka. Penggunaan lainnya yaitu sebagai anti bakteri, kontak lens, penghambat tumor, penghambat terbentuknya plak pada gigi, dan pengontrol kolesterol darah.
- b Pada pemeliharaan air, khitosan yang merupakan suatu polimer dapat digunakan untuk pemurnian air.
- c Suplemen diet, dimana khitosan mempunyai kesamaan dengan tanaman yang mengandung serat dan secara signifikan dapat mengikat lemak, bekerja seperti suatu penyerap dalam sistem pencernaan.

- d Kosmetik, digunakan untuk bedak, cat kuku, pelembab (wajah, tangan, krim tubuh) dan pasta gigi merupakan contoh-contoh produk yang mengandung khitin.
- e Pertanian, dimana bibit yang telah diperlakukan terlebih dahulu dengan khitosan akan tumbuh lebih besar dan lebih kuat serta lebih resisten terhadap penyakit akibat jamur. Perlakuan bibit dengan khitin dapat meningkatkan hasil panen hingga 50%.

Sebagai anti mikrobial khitin dan khitosan sudah dilakukan oleh Okawa *et al.*, (2003) bahwa pemberian khitin, khitosan dan *N-acetyl chitohexaose* dapat mencegah terjadinya infeksi pada mencit karena infeksi jamur *Candida albicans*. Selain itu telah terbukti bahwa pada tingkat *in vivo* khitin, khitosan dan *N-acetyl chitohexaose* dapat digunakan sebagai pencegahan infeksi akibat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Listeria monocytogenes* yang diinfeksi pada mencit (Okawa *et al.*, 2003)

Salah satu yang menarik adalah khasiat khitin dan khitosan sebagai antiinflamasi (radang). Khasiat sebagai antiinflamasi ini akan bermanfaat dalam proses penyembuhan luka dan radang pada kulit. Studi yang dilakukan oleh Chen *et al.*, (2003) bahwa khitosan memiliki aktivitas sebagai antioksidan yaitu dengan memecah radikal superoksida (*in vitro*) dan aktivitas ini akan meningkat jika khitosan dikonsumsi lewat jalur oral. Seo *et al.*, (2003) menunjukkan bahwa khitosan pada tingkat seluler yaitu *cytokines* dapat menghambat *NF- κ B* pada proses inflamasi yang disebabkan oleh hipoksia. Selain itu sifat imunoprotektif dari khitin dan khitosan juga mempunyai khasiat sebagai antiinflamasi dengan mekanisme penghambatan pada *cytokines* pada sel HMC-1 (Choi *et al.*, 2004). Efek ini juga didukung dengan penelitian Fukada *et al.*, (1991), bahwa antioksidan dari khitin dan khitosan akan menghambat oksidasi lebih lanjut lipid menjadi kolesterol di dalam darah dan empedu.

4. Dermatitis Kontak

Menurut mekanisme responnya dermatitis kontak dibagi kedalam 4 grup yaitu:

a. **Dermatitis Kontak Iritan**

Dermatitis kontak iritan adalah efek sitotoksik lokal langsung dari bahan iritan pada sel-sel epidermis, dengan respon peradangan pada dermis. Daerah yang paling sering terkena adalah tangan dan pada individu atopi menderita lebih berat (Trihapsoro, 2003).

Secara definisi bahan iritan kulit adalah bahan yang menyebabkan kerusakan secara langsung pada kulit tanpa diketahui oleh sensitisasi. Mekanisme dari dermatitis kontak iritan hanya sedikit diketahui, tapi sudah jelas terjadi kerusakan pada membran lipid keratinosit. Dalam beberapa menit atau beberapa jam bahan iritan tersebut akan berdifusi melalui membran untuk merusak lisosom, mitokondria dan komponen-komponen inti sel. Dengan rusaknya membran lipid keratinosit maka fosfolipase akan diaktifkan dan membebaskan asam arakidonik akan membebaskan prostaglandin dan leukotrin yang akan menyebabkan dilatasi pembuluh darah dan transudasi dari faktor sirkulasi dari komplemen dan system kinin. Juga akan menarik neutrofil dan limfosit serta mengaktifkan sel mast yang akan membebaskan histamin, prostaglandin dan leukotrin. PAF akan mengaktifasi platelets yang akan menyebabkan perubahan vaskuler. Diacil gliserida akan merangsang ekspresi gen dan sintesis protein (Trihapsoro, 2003).

Pada dermatitis kontak iritan terjadi kerusakan keratinosit dan keluarnya mediator-mediator. Sehingga perbedaan mekanismenya dengan dermatitis kontak alergi sangat tipis yaitu dermatitis kontak iritan tidak melalui fase sensitisasi. Umumnya disebabkan oleh bahan kimia (asam, basa, pelarut dan oksidan), juga oleh tergantung dari jumlah dan lama paparan dari bahan iritan (Trihapsoro, 2003).

b. **Fotodermatitis**

Radiasi berupa energi foton dari sinar ultraviolet menyebabkan terjadinya perubahan molekul bahan yang kontak dengan kulit menjadi alergen (fotoalergi), seperti sulfa, tiazid dan tetrasiklin, atau iritan (fototoksik). Beberapa tanaman dapat menimbulkan reaksi fototoksik seperti famili sitrus, mulberi dan umbelliferae (Trihapsoro, 2003).

Pada paparan dengan sinar ultra violet dengan panjang gelombang 300-340

nm dapat timbul dermatitis dengan onzet yang cepat dan ditandai dengan eritema dan bulla pada daerah kontak. Segera setelah erupsi timbul maka akan diikuti dengan hiperpigmentasi (Trihapsoro, 2003).

c. Urtikaria Kontak

Dapat berupa reaksi imunologik dan non imunologik. Reaksi imunologik merupakan reaksi tipe I yang diperantarai oleh IgE, disebabkan oleh pelepasan segera dari mediator-mediator peradangan, mengakibatkan timbulnya urtika dan reaksi erupsi. Pada kasus-kasus tertentu dapat timbul syok anafilaktik. Dapat ditimbulkan oleh berbagai jenis makanan dan lateks (Trihapsoro, 2003).

Urtikaria kontak yang non imunologik mengakibatkan edema lokal dan eritem. Lebih sering terjadi dari pada mekanisme imunologik. Penyebabnya misalnya bahan-bahan yang mengandung benzoic, sorbik, cinnamic atau asam nikotinic (Trihapsoro, 2003).

d. Dermatitis kontak alergik.

Dermatitis kontak adalah respon peradangan kulit akut atau kronik terhadap paparan bahan iritan eksternal yang mengenai kulit. Dikenal dua macam jenis dermatitis kontak yaitu dermatitis kontak iritan yang timbul melalui mekanisme non imunologik dan dermatitis kontak alergik yang diakibatkan mekanisme imunologik yang spesifik. Menurut Gell dan Coombs dermatitis kontak alergik adalah reaksi hipersensitifitas tipe lambat (tipe IV) yang diperantarai sel, akibat antigen spesifik yang menembus lapisan epidermis kulit. Antigen bersama dengan mediator protein akan menuju dermis, dimana sel limfosit T menjadi tersensitisasi. Pada pemaparan selanjutnya dari antigen akan timbul reaksi alergi (Trihapsoro, 2003).

Dermatitis kontak alergik merupakan reaksi hipersensitifitas tipe lambat (tipe IV) yang diperantarai sel T. Terjadinya dermatitis kontak alergik memerlukan sensitisasi terhadap suatu antigen. Pemaparan awal bisa tidak menyebabkan reaksi kulit. Seorang pasien yang rentan (susceptible) akan mendapat kepekaan (hypersensitivity) terhadap suatu bahan dalam waktu 10-14 hari. Pemaparan berikut dapat menyebabkan dermatitis eksematous dalam waktu 12-48 jam. Imunologik dalam dermatitis kontak alergik memerlukan interaksi antara antigen, sel langerhans dan sel limfosit T. Selama proses sensitisasi sel-sel langerhans akan

mengikat antigen dan memprosesnya melalui interaksi dengan membran sel protein dan membuatnya menjadi alergenik. Sel langerhans kemudian meninggalkan epidermis melalui saluran pembuluh limfa ke limfonodi regional dan mempersembahkan antigen kepada sel T menjadi sel-sel memori atau primed memory cells atau primed T cells. Primed memory cells akan bersirkulasi di dalam tubuh dan siap untuk pertemuan berikutnya dengan antigen (Trihapsoro, 2003).

Dermatitis adalah peradangan kulit (epidermis dan dermis) sebagai respon terhadap pengaruh faktor eksogen dan atau faktor endogen, menimbulkan kelainan klinis berupa efloresensi polimorfik (eritema, edema, papul, vesikel, skuama, likenifikasi) dan gatal. Dermatitis alergi adalah dermatitis yang disebabkan oleh allergen, paling sering berupa bahan kimia dengan berat molekul kurang dari 500-1000 Da, yang juga disebut bahan kimia sederhana. Dermatitis yang timbul dipengaruhi oleh potensi sensitisasi allergen, derajat pejanan, dan luasnya penetrasi di kulit.

Dermatitis kontak alergi merupakan suatu kondisi gatal pada kulit yang disebabkan oleh reaksi alergi akibat material yang kontak dengan kulit. Gejala ini timbul setelah beberapa jam kontak dengan material penyebab alergi dan membaik beberapa hari kemudian asalkan kulit tidak lagi kontak dengan allergen tersebut (Anonim, 2005).

1) Patogenesis Dermatitis Kontak Alergik

Ada dua fase terjadinya respon imun tipe IV yang menyebabkan timbulnya lesi dermatitis kontak alergik yaitu :

a) Fase Sensitisasi :

Fase sensitisasi disebut juga fase induksi atau fase aferen. Pada fase ini terjadi sensitisasi terhadap individu yang semula belum peka, oleh bahan kontak yang disebut allergen kontak atau pemeka. Terjadi bila haptan menempel pada kulit selama 18-24 jam kemudian haptan diproses dengan jalan pinositosis atau endositosis oleh sel LE (Langerhans Epidermal), untuk mengadakan ikatan kovalen dengan protein karier yang berada di epidermis, menjadi kompleks haptan protein. Protein ini terletak pada membran sel Langerhans dan berhubungan dengan produk gen HLA-DR (Human Leukocyte

Antigen-DR). Pada sel penyaji antigen (antigen presenting cell) (Trihapsoro, 2003).

Kemudian sel LE menuju duktus Limfatikus dan ke parakorteks Limfonodus regional dan terjadilah proses penyajian antigen kepada molekul CD4+ (Cluster of Diferantiation 4+) dan molekul CD3. CD4+ berfungsi sebagai pengenalan kompleks HLADR dari sel Langerhans, sedangkan molekul CD3 yang berkaitan dengan protein heterodimerik Ti (CD3-Ti), merupakan pengenalan antigen yang lebih spesifik, misalnya untuk ion nikel saja atau ion kromium saja. Kedua reseptor antigen tersebut terdapat pada permukaan sel T. Pada saat ini telah terjadi pengenalan antigen (antigen recognition) (Trihapsoro, 2003).

Selanjutnya sel Langerhans dirangsang untuk mengeluarkan IL-1 (interleukin-1) yang akan merangsang sel T untuk mengeluarkan IL-2. Kemudian IL2 akan mengakibatkan proliferasi sel T sehingga terbentuk primed memory T cells, yang akan bersirkulasi ke seluruh tubuh meninggalkan limfonodi dan akan memasuki fase elisitasi bila kontak berikutan dengan alergen yang sama. Proses ini pada manusia berlangsung selama 14-21 hari, dan belum terdapat ruam pada kulit. Pada saat ini individu tersebut telah tersensitisasi yang berarti mempunyai resiko untuk mengalami dermatitis kontak alergik (Trihapsoro, 2003).

a) Fase elisitasi

Fase elisitasi atau fase eferen terjadi apabila timbul pajanan kedua dari antigen yang sama dan sel yang telah tersensitisasi telah tersedia di dalam kompartemen dermis. Sel Langerhans akan mensekresi IL-1 yang akan merangsang sel T untuk mensekresi IL-2. Selanjutnya IL-2 akan merangsang INF (interferon) gamma. IL-1 dan INF gamma akan merangsang keratinosit memproduksi ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) yang langsung beraksi dengan limfosit T dan lekosit, serta sekresi eikosanoid. Eikosanoid akan mengaktifkan sel mast dan makrofag untuk melepaskan histamin sehingga terjadi vasodilatasi dan permeabilitas yang meningkat. Akibatnya timbul berbagai macam kelainan kulit seperti eritema, edema dan vesikula yang akan tampak sebagai dermatitis (Trihapsoro, 2003).

Proses peredaan atau penyusutan peradangan terjadi melalui beberapa mekanisme yaitu proses skuamasi, degradasi antigen oleh enzim dan sel,

kerusakan sel Langerhans dan sel keratinosit serta pelepasan Prostaglandin E-1 dan 2 (PGE-1,2) oleh sel makrofag akibat stimulasi INF gamma. PGE-1,2 berfungsi menekan produksi IL-2R sel T serta mencegah kontak sel T dengan keratinosit. Selain itu sel mast dan basofil juga ikut berperan dengan memperlambat puncak degranulasi setelah 48 jam paparan antigen, diduga histamin berefek merangsang molekul CD8 (+) yang bersifat sitotoksik. Dengan beberapa mekanisme lain, seperti sel B dan sel T terhadap antigen spesifik, dan akhirnya menekan atau meredakan peradangan (Trihapsoro, 2003).

Pengobatan dermatitis biasanya dilakukan dengan pemberian (Anonim, 2005) :

- a. Krim pelembab,
- b. Steroid topikal,
- c. Antibiotik topikal atau oral untuk infeksi sekunder,
- d. Steroid oral untuk penggunaan jangka pendek dan untuk kasus yang parah,
- e. Fotokemoterapi.

Kortikosteroid mempunyai peranan penting dalam sistem imun. Pemberian topikal akan menghambat reaksi aferen dan eferen dari dermatitis kontak alergik. Steroid menghambat aktivasi dan proliferasi spesifik antigen. Ini mungkin disebabkan karena efek langsung pada sel penyaji antigen dan sel T. Pemberian steroid topikal pada kulit menyebabkan hilangnya molekul CD1 dan HLA-DR sel Langerhans, sehingga sel Langerhans kehilangan fungsi penyaji antigennya. Juga menghalangi pelepasan IL-2 oleh sel T, dengan demikian proliferasi sel T dihambat. Efek imunomodulator ini meniadakan respon imun yang terjadi dalam proses dermatitis kontak dengan demikian efek terapeutik. Jenis yang dapat diberikan adalah hidrokortison 2,5 %, halcinonid dan triamsinolon asetonid. Cara pemakaian topikal dengan menggosok secara lembut. Untuk meningkatkan penetrasi obat dan mempercepat penyembuhan, dapat dilakukan secara tertutup dengan film plastik selama 6-10 jam setiap hari. Perlu diperhatikan timbulnya efek samping berupa potensiasi, atrofi kulit dan erupsi akneiformis (Trihapsoro, 2003).

Dermatitis kontak alergi merupakan suatu hipersensitivitas tipe IV yang terjadi karena adanya antigen spesifik yang berpenetrasi atau masuk ke dalam lapisan epidermis kulit. Antigen yang masuk akan berikatan dengan protein pembawa dan dibawa ke dermis, dimana kemudian terjadi sensitisasi pada limfosit T. Setelah antigen tersebut di presentasiakan maka kemudian terjadi reaksi alergi (Michael, 2005).

Dalam hal ini, faktor-faktor yang terlibat diantaranya adalah genetik, konsentrasi, durasi dari exposure atau paparan dan adanya penyakit kulit yang lain. Agen alergi yang paling umum adalah tanaman yang termasuk genus *Toxicodendron* (misalnya : racun dari tumbuhan menjalar, racun dari pohon ek, racun dari sumac). Substansi lainnya meliputi : nikel sulfat (campuran berbagai logam), potasium dikromat (semen, pembersih rumah tangga), formaldehid, etilendiamin, merkaptobenzotiazol (karet), tiram (fungisida), dan parafenildiamin (Michael, 2005).

5. Uji iritasi primer

Wujud kelainan kulit dapat bersifat primer ataupun sekunder. Ujud kelaianan primer adalah berupa lesi yang timbul, mula-mula akibat kelaianan kulit. Ujud kelaianan sekunder adalah berupa kelanjutan atau modifikasi ujud kelaianan primer (Anief, 1997).

Macam-macam ujud kelaianan kulit primer (Anief, 1997) :

- Makula : terjadi perubahan warna kulit.
- Eritema : terjadi perubahan warna kulit menjadi merah, disebabkan vasodilatasi pembuluh kapiler daerah kulit.
- Papula : terdapat penonjolan kulit berbatas tegas, konsistensinya keras/kenyal, penampang kurang dari 5 mm dan bila lebih dari 5 mm disebut infiltrat.
- Vesikula : terdapat penonjolan kulit, berbatas tegas, berongga, berisi cairan jernih, mempunyai penampang <5 mm. Bila >5 mm disebut bulla.
- Pustula : adalah vesikula yang berisi nanah.

Macam-macam ujud kelainan sekunder (Anief, 1997) :

- Skuama : pelepasan sebagian dari lapisan tanduk.
 Krusta : cairan/eksudat/serum yang mengering.
 Erosi : kerusakan epidermis hanya mengenai bagian stratum korneum dan stratum lusidum.
 Ekskoriasis : kerusakan epidermis mengenai beberapa lapisan lebih dalam tetapi masih di atas stratum basal.
 Fissura : terbelahnya kulit karena tekanan/gerakan pada kulit yang mengalami kekakuan dan dapat melampaui stratum basal.

Tujuan uji ini adalah untuk menentukan potensi efek berbahaya yang timbul pada model eksperimen dan jika mungkin dapat dilakukan ekstrapolasi dapat digunakan untuk memprediksi efek yang sama atau efek yang berbahaya pada penggunaan topikal sediaan topikal yang mengandung senyawa yang diuji (Anonim, 2002).

Hewan yang telah digunakan secara luas untuk deteksi sifat-sifat iritan dari zat kimia ialah kelinci, marmot putih, dan mencit putih. Bilamana suatu zat kimia diterapkan dengan cara pemakaian dermal berulang-ulang, maka tujuan ujinya ialah untuk mendeteksi baik untuk efek topikal, maupun efek sistemik. Apabila senyawa secara signifikan diabsorpsi dari kulit, maka harga LD₅₀ nya mungkin dapat diterapkan. Apabila kelinci digunakan sebagai hewan uji, maka jangka waktu ujinya mungkin beragam dari minimum 3 hari dengan melibatkan aplikasi zatnya pada suatu peristiwa, sampai dengan dua tahun. Bilamana studinya adalah tipe subkronis maka hewannya dikenakan cara yang serupa sebagai mana studi tipe subkronis umum, yakni hewannya dijadikan objek uji hematologi, kimia klinis dan air kencing. Apabila yang akan dievaluasi efek karsinogenik, maka uji kulit itu diperpanjang selama masa dua tahun, dengan jalan mana zatnya dilekatkan pada kulit paling tidak dua kali seminggu selama jangka waktu uji berlaku. Uji dermal akut biasanya merupakan uji tiga hari. Uji ini dikerjakan pada enam sampai duabelas kelinci putih yang telah dibagi menjadi dua kelompok yang seimbang jumlahnya. Daerah sepanjang punggung dari masing-masing hewan yang meluas dari pangkal leher sampai seperempat bagian belakang,

dicukur atau dihilangkan rambutnya. Pada salah satu kelompok hewan, satu daerah yang luasnya kurang lebih dua inci persegi dari kulit yang gundul itu digosok dengan cara insisi minor sepanjang lapisan permukaan sel, yaitu insisi itu tidak sedemikian dalam sehingga mengganggu kulitnya atau menimbulkan pendarahan. Apabila bahan ujinya berupa suatu cairan, maka 0,5ml bahan itu ditempatkan dibawah suatu alas kassa dengan ukuran 1x1 inci yang ditutup rapat sepanjang daerah kulit yang tercukur baik pada hewan yang digosok maupun yang tidak digosok. Apabila zat berupa zat padat, maka zat itu dilarutkan dalam suatu pelarut misalnya minyak nabati atau air, dan 0,5 g senyawa itu dimasukkan dibawah alas kassa. Setelah interval 24 jam zat pengikat dan alas kassanya diambil, kemudian daerah pemejanaan di evaluasi serta direevaluasi pada 72 jam terakhir (Loomis, 1978).

Uji yang sama dilakukan pada hewan yang sama, dengan kulit yang telah dibuat lecet. Hasil uji 24 dan 72 jam dari dua kelompok itu digabungkan untuk mendapatkan indeks iritasi primer. Skor eritema dan edema keseluruhannya ditambahkan dalam bacaan 24 dan 72 jam, dan skor rata-rata untuk kulit utuh dan lecet digabungkan, rata-rata gabungan inilah yang disebut indeks iritasi primer. Cara ini berguna untuk menempatkan senyawa dalam kelompok umum dari segi sifat iritannya. Senyawa yang menghasilkan rata-rata gabungan ; dua atau kurang hanya sedikit merangsang ; sementara senyawa dengan indeks dua sampai lima merupakan iritan moderat ; dan senyawa dengan skor diatas enam dianggap iritan berat. Ada beberapa uji iritasi kulit yang dimodifikasi berdasarkan prosedur Draize. Modifikasi dilakukan pada spesies hewan yang digunakan, jumlah bahan uji yang dipakai, pengolesan berulang, dan jenis pemeriksaan, misalnya histologi (Lu, 1995).

Evaluasi efek pada kulit melibatkan penggunaan sistem skor untuk menilaiderajat kemerahan dan derajat edema pada tempat aplikasi alas kasanya. Penskoran itu melibatkan penunjukan relatif masing-masing bilangan untuk pembentukan derajat eritema dan pembentukan derajat edema seperti yang tertera dalam tabel evaluasi reaksikulit (Khan *et al.*, 2000). Edema dan eritema dapat dijadikan sebagai tanda apabila hewan uji tersebut mengalami iritasi primer padakulitnya.

Edema adalah bengkak pada beberapa bagian tubuh yang terjadi karena adanya akumulasi cairan yang berlebihan. Edema dapat disebabkan karena seseorang berada dilungkungan dengan udara panas, sehingga cairan tubuh mengalir secara berlebihan ke bagian-bagian tubuh tertentu seperti akumulasi cairan pada kaki, mata kaki, dan bagian kaki yang lebih rendah. Hal tersebut terjadi karena adanya ketidakcukupan pembuluh darah, yang merupakan masalah umum yang disebabkan melemahnya klep pembuluh darah. Hal ini yang akan membuat pembuluh darah sulit memompa darah kembali ke jantung/hati, sehingga menyebabkan akumulasi cairan yang berlebihan pada daerah tersebut. Edema bisa terjadi di kaki, mata kaki, paru-paru, jantung atau daerah lain yang memungkinkan terjadinya edema (Anonim, 2004).

Sedangkan eritema merupakan suatu penyakit yang ditandai oleh adanya bercak-bercak kemerahan yang menonjol dan biasanya tersebar secara simetris di seluruh tubuh. Eritema merupakan suatu reaksi alergi yang terjadi sebagai respon terhadap obat-obatan, infeksi atau penyakit,. Penyebab yang pasti tidak diketahui. Diduga terjadi kerusakan pembuluh darah kulit yang diikuti oleh kerusakan jaringan kulit. Penyakit ini terutama menyerang anak-anak dan dewasa muda. Biasanya eritema muncul secara tiba-tiba, dengan bercak-bercak kemerahan dan lepuhan-lepuhan. Lepuhan ini bisa mengeluarkan darah. Bercak merah berbentuk bulat dan mendatar tersebar di kedua sisi tubuh. Bercak ini biasa membentuk cincin berwarna gelap dengan bagian tengahnya berwarna ungu keabuan (seperti sasaran tembak, *target lesion*). Kulit yang kemerahan ini kadang menimbulkan rasa gatal (Anonim, 2004).

Tabel I. Skor eritema dan edema (Khan *et al.*, 2000) :

Respon kulit	skor
Eritema dan pembentukan kerak :	
Tanpa eritema	0
Eritema sangat sedikit (hampir tidak ada)	1
Eritema berbatas jelas	2
Eritema moderat sampai berat	3
Eritema berat (merah bit) sampai sedikit membentuk kerak (luka dalam)	4
Pembentukan edema :	
Tanpa edema	0
Edema sangat sedikit (hampir tidak jelas)	1
Edema sedikit (tepi daerah berbatas jelas)	2
Edema moderat (tepi naik kira-kira 1mm)	3
Edema berat (naik lebih dari 1mm dan meluas keluar daerah pejanan)	4
Total skor iritasi yang mungkin terjadi	8

Rumus perhitungan indeks iritasi primer (Lu, 1995) :

$$\text{Rata-rata eritema normal} = \frac{^0\text{eritema kulit normal } 24j + ^0\text{eritema kulit normal } 72j}{2}$$

$$\text{Rata-rata eritema iritasi} = \frac{^0\text{eritema kulit insisi } 24j + ^0\text{eritema kulit insisi } 72j}{2}$$

$$\text{Rata-rata edema normal} = \frac{^0\text{edema kulit normal } 24j + ^0\text{edema kulit normal } 72j}{2}$$

$$\text{Rata-rata edema iritasi} = \frac{^0\text{edema kulit insisi } 24j + ^0\text{edema kulit insisi } 72j}{2}$$

$$\text{Indeks eritema primer} = \frac{\text{rata-rata eritema normal} + \text{rata-rata eritema insisi}}{2}$$

$$\text{Indeks edema primer} = \frac{\text{rata-rata edema normal} + \text{rata-rata edema insisi}}{2}$$

$$\text{Indeks iritasi primer} = \text{indeks eritema primer} + \text{indeks edema primer}$$

Tabel II. Kategori sifat mengiritasi berdasarkan rata-rata gabungan indeks iritasi primer senyawa kimia (Brossia, 1988)

Indeks Iritasi Primer	Golongan senyawa
0,00	Tidak ada iritasi
0,04-0,99	Iritasi hampir tidak tampak
1,00-1,99	Iritasi tampak
2,00-2,99	Iritasi ringan
3,00-5,99	Iritasi sedang
6,00-8,00	Iritasi berat

Tabel III. Kategori sifat mengiritasi berdasarkan rata-rata gabungan indeks iritasi primer senyawa kimia (Lu, 1995)

Indeks Iritasi Primer	Golongan senyawa
<2	Hanya sedikit merangsang
2-6	Merupakan iritan moderat
>6	Dianggap iritan berat

Bebagai jenis efek dapat terjadi akibat pemejanaan kulit terhadap toksikan, antara lain adalah:

a. Iritasi Primer Kulit

Iritasi merupakan respon inflamasi lokal akibat penggunaan tunggal senyawa toksik. Secara histologis, iritasi melibatkan rangkaian kompleks yang meliputi dilatasi arteriol, kapiler dan venula, meningkatkan permeabilitas dan aliran darah, eksudasi aliran mencakup protein plasma dan migrasi leukosit pada tempat inflamasi (Olson, 2000).

Iritasi adalah suatu reaksi kulit terhadap zat kimia misalnya alkali kuat, asam kuat, pelarut dan detergen. Iritasi primer terjadi di tempat kontak dan umumnya pada sentuhan pertama (Lu, 1995).

b. Reaksi sensitisasi

Reaksi sensitisasi sering muncul akibat pemakaian obat-obat topikal, misalnya antibiotik (neomisin), antihistamin, anestetik lokal (misalnya benzokain), antiseptik (misalnya timerasol), dan stabilisator (misalnya

etilendiamin). Zat-zat lain adalah tumbuhan (misalnya poison ivy), senyawa logam (misalnya Be, Ni), zat pewarna, kosmetik, dan industri (Lu, 1995).

Prosedur yang diuraikan oleh Draize (1995) mensyaratkan penggunaan marmot yang diberi zat kimia 10 injeksi intradermal berulang pada satu pinggang dan dosis tantangan pada pinggang lain setelah periode istirahat 10 sampai 14 hari. Suatu reaksi yang lebih besar setelah dosis tantangan dibandingkan dengan reaksi setelah pemberian dosis sensitisasi, menunjukkan sensitisasi.

c. Fototoksitas dan Fotoalergi

Fototoksitas tampaknya lebih mudah ditunjukkan pada mencit tidak berbulu, kelinci, dan marmot. Bahan yang akan diuji dapat diberikan secara topikal atau lewat jalur sistemik. Kemudian reaksi kulit terhadap cahaya nonnitrogenik (panjang gelombang lebih besar daripada 320 nm) ditentukan. Eritema yang menonjol dibandingkan dengan kontrol, menunjukkan fototoksitas. Marmot albino berguna terutama untuk deteksi fotoalergi. Pada dasarnya, prosedur ini melibatkan suatu induksi fotosintesis dengan mengoleskan sedikit zat kimia berkali-kali pada daerah kulit yang dicukur dan di depilasi, dan memajankan daerah itu terhadap sinar UV yang sesuai. Setelah selang waktu 3 minggu, marmot dipejankan zat kimia dan sinar UV untuk menimbulkan fotoalergi (Lu, 1995).

d. Urtikaria Kontak

Beberapa contoh hewan telah diajukan berdasarkan prosedur yang dirancang oleh Jacobs (1940). Biasanya hal ini melibatkan uji tempel pada pinggang dan pada puting susu marmot. Baru-baru ini, suatu uji menggunakan telinga marmot terbukti memuaskan untuk penyarian zat-zat urtikarigenik kontak untuk manusia (Latih dan Maibach, 1984 cit Lu, 1995). Uji tempel terbuka dapat diterapkan pada sukarelawan manusia atau pada pasien yang diduga rentan terhadap zat kimia. Dalam kasus belakangan ini, semua perlengkapan resusitasi yang diperlukan dan personel yang cakap harus siap untuk menangani reaksi anafilaktoid. Keterlibatan imunologik dapat dibuktikan oleh transfer pasif; 0,1 ml serum segar dari pasien disuntikan secara intradermal pada lengan bawah seorang sukarelawan dan ditantang 24 jam kemudian dengan mengoleskan zat kimia yang dicurigai pada tempat injeksi (Lu, 1995).

e. Kanker Kulit

Pengujian ini melibatkan pemakaian topikal zat kimia pada daerah kulit yang dicukur. Kalau berupa cairan, zat itu dioleskan langsung. Kalau bukan cairan, zat dilarutkan atau disuspensikan dalam suatu wahana yang sesuai. Pengecatan kulit biasanya dikerjakan sekali seminggu atau lebih sering. Hewan yang biasa digunakan adalah mencit. Dianjurkan untuk menyertakan kelompok pembanding wahana disamping pembanding positif, yang diberi karsinogen kulit yang dikenal misalnya benzo/a/piren (Lu, 1995).

B. Landasan Teori

Uji terhadap perbaikan sel-sel kulit yaitu lapisan epidermis kulit akibat inflamasi yang terjadi setelah infeksi jamur atau bacteria akan sangat menjanjikan. Uji ini akan menjanjikan karena selain sebagai antibakteria juga akan dilihat proses iritasi dan perbaikan pada tingkat lapisan kulit kepala. Dari hasil penelitian terdahulu sudah dibuktikan hal hal sebagai berikut. Salah satu yang menarik adalah khasiat khitin dan khitosan sebagai antiinflamasi (radang). Khasiat sebagai antiinflamasi ini akan bermanfaat dalam proses penyembuhan luka dan radang pada kulit. Studi yang dilakukan oleh Chen *et al.*, (2003) bahwa khitosan memiliki aktivitas sebagai antioksidan yaitu dengan memecah radikal superoksida (*in vitro*) dan aktivitas ini akan meningkat jika khitosan dikonsumsi lewat jalur oral. Seo *et al.*, (2003) menunjukkan bahwa khitosan pada tingkat seluler yaitu *cytokines* dapat menghambat *NF- κ B* pada proses inflamasi yang disebabkan oleh hipoksia. Selain itu sifat imunoprotektif dari khitin dan khitosan juga mempunyai khasiat sebagai antiinflamasi dengan mekanisme penghambatan pada *cytokines* pada sel HMC-1 (Choi *et al.*, 2004). Efek ini juga didukung dengan penelitian Fukada *et al.*, (1991), bahwa antioksidan dari khitin dan khitosan akan menghambat oksidasi lebih lanjut lipid menjadi kholesterol di dalam darah dan empedu. Dengan demikian akan dapat dibuktikan bahwa efek sebagai antimikrobia dalam hal ini jamur dan bakteri epidermis kulit akan membantu dalam proses penyembuhan penyakit akibat ketombe.

B. Hipotesis

Khitin yang diisolasi dari limbah cangkang udang dapat memberikan efek antiinflamasi topikal yang dilihat melalui parameter indeks eritema primer dan histopatologi sel-sel kulit pada kelinci jantan putih.



BAB III

METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

1. Bahan

Subyek uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelinci jantan albino umur 3-5 bulan dengan berat badan 1,5-2,5 kg, yang diberi pakan rumput dan sayur-sayuran serta minum *ad libitum*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah khitin 1% dan 5% yang diperoleh dengan pembuatan sendiri di laboratorium teknologi sediaan farmasi dari kulit udang kering yang berasal dari pantura, Jawa Timur; phenol 50% *p.a* yang diperoleh dari laboratorium teknologi sediaan farmasi; PEG (polietilenglikol) yang diperoleh dari Brataco Chemika, Yogyakarta; aqua destilata yang diperoleh dari laboratorium teknologi sediaan farmasi, farmasi UII, Yogyakarta; asam klorida 1.25N yang diperoleh dari laboratorium kimia farmasi, UII, Yogyakarta; Sodium hidroksida 3.5% yang diperoleh dari laboratorium farmakologi, farmasi UII, Yogyakarta; hidrokortison 2.5% yang diperoleh dari apotek UII Farma, Yogyakarta.

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, timbangan analitik (Saurtorius), kuas, kandang kelinci, alat pencukur hewan, lakban, gunting, plester, kain kasa hidrofil (steril), masker, sarung tangan.

B. Cara Penelitian

1. Pembuatan khitin 1% dan khitin 5%

Pembuatan khitin dilakukan dalam dua tahap yaitu :

a. Demineralisasi

Limbah cangkang udang yang sudah kering lalu digiling sampai menjadi serbuk ukuran 40-60 mesh. Kemudian dicampur dengan asam klorida 1,25 N dengan perbandingan 10:1 untuk pelarut dibanding kulit udang (sampai serbuk

terendam), lalu dipanaskan pada suhu 90°C selama satu jam sambil terus diaduk-aduk. Residu berupa padatan dicuci dengan aquadest sampai pH netral dan selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 24 jam.

b. Deproteinisasi

Limbah udang yang telah dimineralisasi kemudian dicampur dengan larutan sodium hidroksida 3,5% dengan perbandingan antara pelarut dan cangkang udang 6:1. Selanjutnya dipanaskan pada suhu 90°C selama satu jam sambil terus diaduk-aduk. Larutan lalu disaring dan didinginkan sehingga diperoleh residu padatan yang kemudian dicuci dengan aquadest sampai pH netral dan dikeringkan pada suhu 80°C selama 24 jam.

Setelah pembuatan khitin selesai, kemudian untuk mendapatkan khitin 1% dan 5% yaitu dengan melarutkan khitin sebanyak 1 gram dalam PEG (polietilenglikol) *ad* 100 ml (khitin 1%); melarutkan 5 gram khitin dalam PEG (polietilenglikol) *ad* 100 ml (khitin 5%). Sediaan khitin 1% dan 5% yang didapatkan adalah berupa sediaan suspensi.

2. Penanganan hewan uji

Sebelum diberi perlakuan, hewan-hewan uji yang akan digunakan yaitu kelinci dipelihara dalam suatu kondisi tertentu. Selama masa ini hewan uji di tempatkan di suatu kandang khusus terpisah dengan hewan uji untuk penelitian yang lain. Pada saat ini, hewan uji diberi kesempatan untuk beradaptasi dengan lingkungan barunya dan sebisa mungkin hewan uji dihindarkan dari stress.

3. Pencukuran hewan uji

Bagian tubuh kelinci yang dicukur adalah daerah punggung dengan ukuran 2,54 cm x 2,54 cm. Pencukuran dilakukan dalam beberapa tahap. Tahap pertama merupakan proses pengguntingan dengan gunting rambut sampai panjang rambut kira-kira tersisa 0,5 cm, kemudian dilanjutkan dengan pencukuran rambut tersebut dengan alat pencukur, sehingga didapatkan kulit yang halus bebas rambut. Pencukuran dilakukan sedemikian rupa sehingga tidak melukai hewan uji. Bagian punggung yang dicukur adalah dua bagian besar secara horizontal, yang kemudian dua bagian besar tersebut di bagi kembali masing-masing menjadi empat bagian,

sehingga terdapat delapan area yang sama. Masing-masing area dibatasi oleh bulu kelinci yang tidak dicukur dan berbatas jelas. Setelah pencukuran selesai, masing-masing hewan uji dimasukkan dalam kandang khusus.

4. Pengelompokan hewan uji

Sebanyak 6 ekor kelinci jantan albino mendapat perlakuan yang sama selama 3 hari dengan dibedakan pada saat praperlakuan yaitu dengan pemberian phenol 50% dan tidak diberikan phenol 50%. Pembagian kelompok perlakuan dilakukan berdasarkan area dimana :

- Area I : tanpa perlakuan (kulit utuh atau normal), dimana kulit dibiarkan saja tanpa diberi perlakuan apapun sebagai kontrol.
- Area II : diberi perlakuan dengan khitin 1% 0,25 ml.
- Area III : diberi perlakuan dengan khitin 5% 0,25 ml.
- Area IV : diberi perlakuan dengan hidrokortison 2,5% 0,2 gram.

5. Pemberian bahan uji dan pengamatan gejala

Sebanyak 6 kelinci dibagi dalam 4 kelompok seri perlakuan (area). Masing-masing kelinci mempunyai delapan area pada punggungnya (4 area sebelah kanan dan 4 area sebelah kiri punggung kelinci) untuk 4 seri perlakuan yaitu area 1 tanpa perlakuan. Area 2 dan 3 diberi/diolesi khitin kadar 1% dan 5%. Area 4 diberi dengan obat topikal yang sudah beredar dipasaran (kompetitor) yaitu hidrokortison 2,5%. Kedelapan area diperlakukan sama, kecuali pada praperlakuan dimana 4 area dibuat iritasi dengan phenol 50% dan 4 area lainnya tidak diberikan phenol 50%.

Tabel IV. Area punggung kelinci

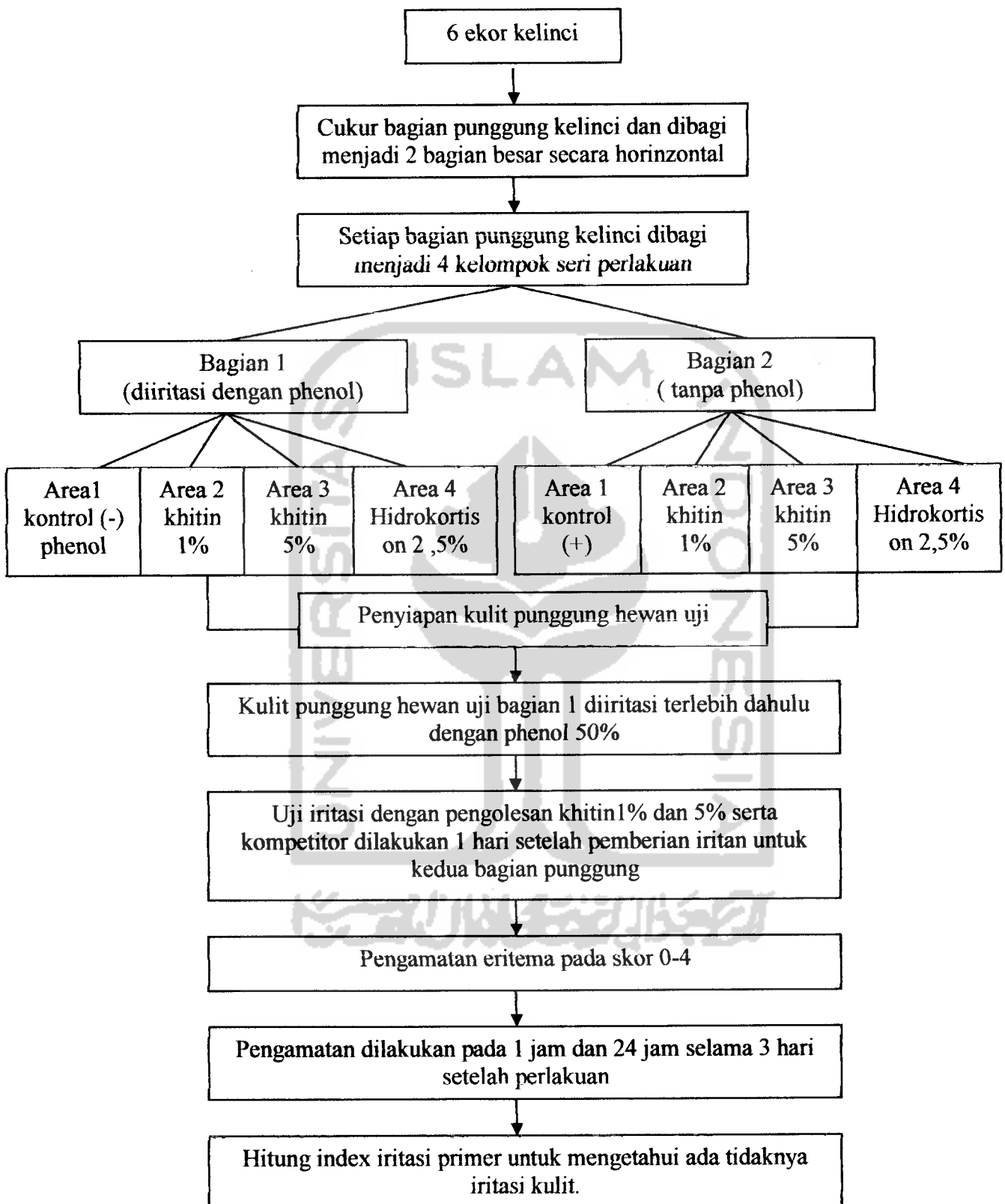
	Area kelompok normal	Area kelompok perlakuan dengan penambahan phenol 50%
Area 1	Tanpa perlakuan	Tanpa perlakuan
Area 2	Perlakuan khitin 1% 0,25 ml	Perlakuan khitin 1% 0,25 ml
Area 3	Perlakuan khitin 5% 0,25 ml	Perlakuan khitin 5% 0,25 ml
Area 4	Perlakuan dengan hidrokortison 2,5% 0,2 gram	Perlakuan dengan hidrokortison 2,5% 0,2 gram

Penyiapan hewan uji yang terdiri dari penentuan hewan uji yang sehat dan penyiapan kulit punggung hewan coba. Pada penyiapan kulit punggung hewan uji, bagian punggung kelinci dibagi menjadi 2 bagian besar secara horizontal, kemudian kedua bagian tersebut dicukur menggunakan alat cukur elektronik dan manual (gillete). Bagian pertama punggung kelinci disensitisasi terlebih dahulu dengan menggunakan phenol 50%, sedangkan bagian kedua dibiarkan tanpa perlakuan (kulit normal). Setiap bagian tersebut dibagi menjadi empat area dengan ukuran 2,54 cm x 2,54 cm. Tiap area diberi perlakuan sebagai berikut; area 1: tanpa perlakuan (kelompok normal), area 2: diolesi khitin 1% 0,25 ml, area 3: diolesi khitin 5% 0,25 ml dan area 4: diolesi dengan kompetitor (hidrokortison 2,5%) 0,2 gram. Kedua bagian punggung diperlakukan sama untuk setiap seri perlakuan, yang membedakan adalah pada saat praperlakuan yaitu dengan pemberian phenol 50% terlebih dahulu pada bagian punggung pertama dan tanpa pemberian phenol 50% pada bagian punggung kedua. Pengolesan bahan uji dilakukan dengan menggunakan kuas secara hati-hati dan merata. Setelah pengolesan selesai, area yang diolesi ditutup dengan kain kasa steril dan diberi plester untuk menghindari kontaminasi dari luar serta menjaga agar bahan uji tidak tertelan oleh hewan uji. Pelaksanan uji iritasi kulit terdiri atas uji efek iritasi kulit terhadap khitin pada pemakaian sekali dan pemakaian berulang dan penilaian indeks iritasi kulit punggung kelinci. Data diambil dengan cara cara pemberian skor penilaian adanya eritema (kemerahan pada kulit) dan edema (penimbunan cairan dalam cairan kulit). Penilaian eritema dan edema ada lima klarifikasi dengan angka skor 0-8 (normal sampai ada perubahan lebih parah). Indeks iritasi dilakukan dengan cara menjumlahkan notasi pada setiap kelinci pada 1 jam dan 24 jam setelah perlakuan. Selanjutnya dihitung indeks iritasi primer masing-masing konsentrasi sample uji untuk mengetahui ada tidaknya iritasi kulit. Nilai indeks iritasi dinyatakan dengan iritasi ringan jika nilai indeks iritasi 0 – 2, iritasi sedang jika nilai indeks 2-5 dan iritasi kuat nilainya > 6.

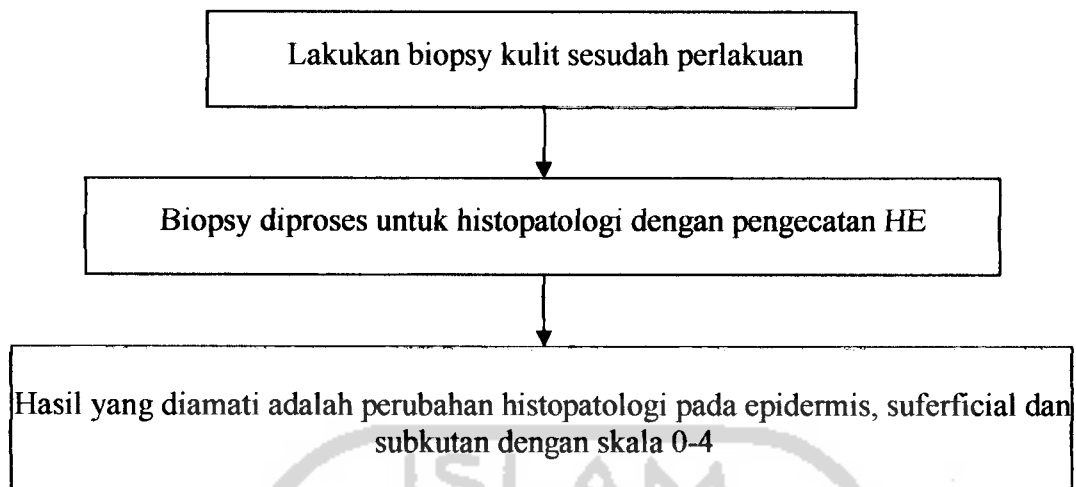
6. Histopatologi kulit (Bhol *et al.*, 2003)

Biopsy kulit dilakukan setelah perlakuan, biopsy diproses untuk histopatologi dengan pengecatan HE. Hasil yang diamati adalah perubahan histopatologi pada epidermis, superficial dan subkutan dengan nilai 0-4 skala (normal sampai perubahan yang parah).





Gambar 2. Skema kerja uji iritasi khitin



Gambar 3. Skema kerja histopatologi kulit (Bhol *et al.*, 2003).

C. Analisis Hasil

1. Kuantitatif

Daerah perlakuan diamati setiap 1 dan 24 jam. Pengamatan dilanjutkan dengan mengelompokkan ke dalam skor eritema dan edema.

Tabel I. Skor eritema dan edema (Khan *et al.*, 2000) :

Respon kulit	skor
Eritema dan pembentukan kerak :	
Tanpa eritema	0
Eritema sangat sedikit (hampir tidak ada)	1
Eritema berbatas jelas	2
Eritema moderat sampai berat	3
Eritema berat (merah bit) sampai sedikit membentuk kerak (luka dalam)	4
Pembentukan edema :	
Tanpa edema	0
Edema sangat sedikit (hampir tidak jelas)	1
Edema sedikit (tepi daerah berbatas jelas)	2
Edema moderat (tepi naik kira-kira 1mm)	3
Edema berat (naik lebih dari 1mm dan meluas keluar daerah pejanan)	4
Total skor iritasi yang mungkin terjadi	8

Rumus perhitungan indeks iritasi primer (Lu,1995) :

$$\text{Rata-rata eritema normal} = \frac{{}^0\text{eritema kulit normal 24j} + {}^0\text{eritema kulit normal 72j}}{2}$$

$$\text{Rata-rata eritema iritasi} = \frac{{}^0\text{eritema kulit insisi 24j} + {}^0\text{eritema kulit insisi 72 j}}{2}$$

$$\text{Rata-rata edema normal} = \frac{{}^0\text{edema kulit normal 24 j} + {}^0\text{edema kulit normal 72 j}}{2}$$

$$\text{Rata-rata edema iritasi} = \frac{{}^0\text{edema kulit insisi 24 j} + {}^0\text{edema kulit insisi 72 j}}{2}$$

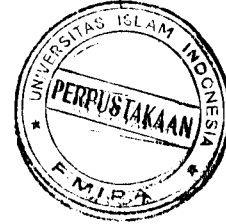
$$\text{Indeks eritema primer} = \frac{\text{rata-rata eritema normal} + \text{rata-rata eritema insisi}}{2}$$

$$\text{Indeks edema primer} = \frac{\text{rata-rata edema normal} + \text{rata-rata edema insisi}}{2}$$

$$\text{Indeks iritasi primer} = \text{indeks eritema primer} + \text{indeks edema primer}$$

2. Kualitatif

Daya iritasi primer dan gambaran histopatologi antar kelompok perlakuan dibandingkan secara kualitatif dengan melakukan perhitungan indeks eritema primer.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Melihat kecenderungan konsumsi udang yang meningkat di tahun-tahun mendatang, maka perlu mengantisipasi peningkatan jumlah limbah udang berupa kulit yang bila dibuang saja akan mengganggu lingkungan. Oleh sebab itu, alternative pemanfaatan limbah udang yakni dengan memberi nilai tambah terhadap produk perikanan tersebut, melalui pengolahan wastenya untuk kebutuhan komersial. Desakan ini makin diperkuat dengan pemakaian polimer khitin dan khitosan yang sangat luas dibidang industri, pertanian, biomedis, bioteknologi dan kesehatan. Tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk meningkatkan kemanfaatan khitin dari segi kesehatan yaitu sebagai agen antiketombe dengan melihat daya antiinflamasinya terhadap perbaikan sel-sel kulit.

Menurut Trihasoro (2003) bahan penyebab dermatitis kontak alergik pada umumnya adalah bahan kimia yang terkandung dalam alat-alat yang dikenakan atau dipakai oleh penderita (asesoris, pakaian, sepatu, kosmetika, obat topical, dan lain-lain) atau yang berhubungan dengan pekerjaan atau hobi (semen, sabun cuci, pestisida, bahan pelarut, bahan cat, dan lain-lain) dapat pula oleh bahan yang berada disekitarnya (debu semen, bulu binatang, atau polutan yang lain). Disamping bahan penyebab ada factor penunjang yang mempermudah timbulnya dermatitis kontak tersebut yaitu suhu udara, kelembaban, gesekan dan oklusi.

Dikenal dua macam jenis dermatitis kontak yaitu dermatitis kontak iritan yang merupakan respon non imunologik dan dermatitis kontak alergik yang diakibatkan oleh mekanisme imunologik spesifik, keduanya dapat bersifat akut maupun kronis (Trihasoro, 2003). Penelitian ini menggunakan metode uji iritasi primer dengan rancangan dua faktor yaitu faktor obat dan praperlakuan yang dilakukan pada hewan uji yang sama sehingga lebih terkendali. Penelitian dilakukan secara berulang (kronis) selama tiga hari. Dalam penelitian ini digunakan hewan uji yaitu kelinci jantan putih. Pemilihan ini dikarenakan pada uji iritasi primer biasanya hewan uji yang digunakan adalah kelinci, tikus atau mencit. Dikarenakan juga pada penelitian ini dilakukan adanya pencukuran yang memerlukan permukaan tubuh yang lebih luas karena dalam satu hewan uji dibuat

menjadi dua bagian besar secara horizontal, kemudian dibagi lagi masing-masing menjadi empat area dengan ukuran 2,54 cm x 2,54 cm, dimana tiap area diberi perlakuan sebagai berikut; area satu tanpa perlakuan (normal), area dua diolesi khitin 1%, area tiga diolesi khitin 5% dan area empat diolesi dengan competitor yaitu hidrokortison 2,5%. Hal yang membedakannya adalah pada saat praperlakuan dimana salah satu bagian punggung kelinci (empat area) terlebih dahulu disensitisasi dengan menggunakan phenol 50% sebanyak 0,25 ml yang dioleskan pada area dengan menggunakan kuas, yang dimaksudkan untuk membuat bagian punggung tersebut menjadi dermatitis alergi terlebih dahulu. Praperlakuan ini dimaksudkan untuk melihat respon imun terhadap adanya iritan dari luar.

Pencukuran dilakukan pada daerah punggung kelinci, karena daerah ini merupakan daerah yang diperkirakan paling sukar dijangkau oleh hewan uji, sehingga dapat dipastikan bahan uji coba yang dioleskan tidak tertelan oleh hewan uji tersebut. Dengan demikian efek yang ditimbulkan merupakan efek yang benar-benar akibat dari penggunaan bahan uji secara dermal.

Dipilihnya phenol sebagai iritan (allergen/iritan kontak), karena phenol merupakan salah satu material yang banyak digunakan dalam pembuatan suatu produk, misalnya pada beberapa produk obat seperti salep dan lotion, pada beberapa makanan, asap rokok, maupun pada produk kosmetik seperti shampoo, deodorant, parfum, pengering rambut, maupun hairspray yang kadang keberadaannya dapat menimbulkan iritasi.

Dalam penelitian ini, setiap bahan uji dioleskan pada permukaan kulit dengan menggunakan kuas sebanyak 0,25 ml untuk bahan uji dalam bentuk larutan atau suspensi dan 0,2 gram dalam bentuk cream. Pengolesan dilakukan secara hati-hati dan merata, kemudian ditutup dengan kasa steril agar cream maupun suspensi tidak tersepar dan tidak dijilati oleh hewan uji. Pembuatan suspensi khitin 1% maupun 5% adalah dengan menambahkan PEG 400 (polietilenglikol) sebagai pelarutnya.

Pembuatan khitin 1% dan 5% dimulai dengan penghalusan limbah kulit atau cangkang udang dengan menggunakan alat yang disebut grinder. Serbuk yang dihasilkan harus bisa melewati ayakan dengan nomer 40 tetapi tidak bisa

melewati ayakan dengan nomer 60. Serbuk yang dihasilkan diproses secara demineralisasi dan deproteinisasi untuk menghasilkan khitin. Proses demineralisasi dilakukan dengan maksud untuk mengikat, memutus dan melepaskan mineral-mineral yang masih terdapat pada serbuk cangkang udang. Sedangkan proses deproteinisasi dilakukan untuk menghilangkan protein yang ada pada cangkang udang, sehingga hasilnya merupakan khitin yang tidak dipengaruhi oleh komponen-komponen lain dari cangkang udang (khitin murni). Dari 200 gram serbuk cangkang udang yang diproses dengan demineralisasi dan deproteinisasi, maka khitin yang dihasilkan adalah sebanyak ± 12 gram dan yang digunakan untuk penelitian ini adalah 6 gram serbuk khitin untuk pembuatan khitin 1% dan 5%.

Pengamatan efek lokal dermal dilakukan pada jam ke 1 dan 24 setelah pengolesan. Data kuantitatif dalam penelitian ini adalah skor eritema dan edema yang terjadi pada kulit hewan uji, lalu dari skor ini akan ditentukan indeks iritasi primer dari masing-masing bahan uji. Kemudian dari indeks iritasi primer ini akan ditentukan sifat iritan dari bahan uji. Sedangkan data kualitatif dari penelitian ini berupa perubahan gejala klinis pada hewan uji, yaitu timbulnya eritema dan edema serta dilihat efek pemakaian bahan uji secara sistemik melalui histopatologi kulit, dengan maksud untuk melihat apakah perlakuan secara topical ini dapat mempengaruhi bagian kulit seperti subcutan, epidermis dan superficial.

Ujud kelainan primer adalah berupa lesi yang timbul, mula-mula akibat kelainan kulit. Eritema merupakan macam ujud kelainan kulit primer, dimana terjadi perubahan warna kulit menjadi merah, disebabkan vasodilatasi kapiler daerah kulit. Sedangkan yang disebut edema yaitu ujud kelainan primer yang merupakan pembengkakan yang terjadi pada kulit. Iritasi kulit merupakan akibat yang terjadi karena kontak kulit dengan bahan kosmetik atau bahan lain yang bersifat iritan.

Perhitungan indeks iritasi primer dihitung dari skor eritema dan edema keseluruhan dalam bacaan 1 dan 24 jam selama 3 hari karena uji ketoksikan akut dermal biasanya merupakan uji tiga hari, dan skor rata-rata uji kulit utuh dan iritasi digabungkan, rata-rata dari gabungan ini disebut dengan indeks iritasi primer. Senyawa yang menghasilkan rata-rata gabungan 2 atau kurang berarti

senyawa tersebut hanya sedikit merangsang, sementara senyawa dengan indeks iritasi 2 sampai 5 merupakan iritan moderat atau sedang, dan senyawa dengan skor di atas 6 dianggap iritan berat.

Dari table pengamatan skor ternyata kulit kelinci hanya menunjukkan timbulnya reaksi yang berupa eritema, sedangkan edema tidak ditemukan pada reaksi kulit kelinci. Dan reaksi berupa eritema pun hanya ditemukan pada kulit kelinci yang diberi iritan terlebih dahulu atau dibuat dermatitis terlebih dahulu. Sedangkan pada kulit normal atau utuh tidak ditemukan adanya reaksi eritema. Adapun hasil perhitungan indeks iritasi primer dapat dilihat dari table berikut ini :

Tabel V. Hasil Indeks Eritema Primer Kelompok Normal

No.	Perlakuan	Indeks Eritema \pm SE		
		Hari 1	Hari 2	Hari 3
1.	Tanpa perlakuan	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
2.	Khitin 1%	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
3.	Khitin 5%	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
4.	Hidrokortison 2,5%	0 \pm 0	0,58 \pm 0,17	1 \pm 0

Tabel VI. Hasil Indeks Eritema Primer Kelompok Perlakuan dengan Penambahan Phenol 50%

No.	Perlakuan	Indeks Eritema \pm SE		
		Hari 1	Hari 2	Hari 3
1.	Tanpa perlakuan	2,67 \pm 0,21	2,67 \pm 0,21	2,67 \pm 0,21
2.	Khitin 1%	2,5 \pm 0,22	2,5 \pm 0,22	2,5 \pm 0,22
3.	Khitin 5%	2,5 \pm 0,22	2,5 \pm 0,22	2,5 \pm 0,22
4.	Hidrokortison 2,5%	2,33 \pm 0,21	2,33 \pm 0,17	1,92 \pm 0,33

Keterangan :

N = Normal ; I = Iritasi ; X \pm SE = purata \pm *Standart Error of Mean*

Skor respon kulit:

Eritema dan pembentukan kerak :

- a. 0 = Tanpa eritema
- b. 1 = Eritema sangat sedikit (hampir tidak ada)
- c. 2 = Eritema berbatas jelas
- d. 3 = Eritema moderat sampai berat
- e. 4 = Eritema berat (merah bit) sampai sedikit membentuk kerak (luka dalam)

1. Data kuantitatif

Data pengamatan kulit kelinci hanya menunjukkan terjadinya timbulnya reaksi yang berupa eritema, sedangkan edema tidak ditemukan pada reaksi kulit kelinci, sehingga pengambilan keputusan hanya berdasarkan indeks eritema primer.

a. Kulit tanpa perlakuan (utuh/normal)

Dari hasil pengamatan dan perhitungan yang dilakukan, nilai indeks eritema primer untuk kulit utuh tanpa perlakuan pada kelompok normal adalah 0 yang menunjukkan tidak terjadinya eritema (tanpa eritema). Sedangkan nilai indeks eritema untuk kulit utuh pada kelompok perlakuan dengan penambahan phenol 50% bernilai 2,67 yang berarti bahwa phenol 50% dapat menyebabkan eritema terbatas jelas. Hal ini menunjukkan bahwa phenol 50% memang bisa digunakan untuk uji inflamasi yaitu sebagai senyawa yang menyebabkan peradangan, karena hasil indeks eritema menunjukkan nilai 2,67 yang artinya phenol dapat menyebabkan eritema terbatas jelas, dimana eritema merupakan salah satu ciri kejadian peradangan. Dari tabel indeks eritema, dapat dilihat bahwa variabel hari tidak mempengaruhi hasil indeks eritema untuk kulit utuh saja dan kulit utuh dengan penambahan phenol 50%.

b. Kulit dengan perlakuan khitin 1%

Dari hasil pengamatan dan perhitungan yang dilakukan, nilai indeks eritema primer untuk kulit dengan perlakuan khitin 1% pada kelompok normal adalah 0 yang berarti khitin 1% tidak menimbulkan eritema. Sedangkan nilai indeks eritema untuk kelompok perlakuan khitin 1% dengan penambahan phenol 50% bernilai 2,5 yang berarti respon kulit menunjukkan terjadinya eritema terbatas jelas. Eritema yang timbul dikarenakan oleh penambahan phenol 50% bukan karena perlakuan dengan khitin 1%, berdasarkan fakta bahwa khitin 1% pada kulit utuh tidak menunjukkan timbulnya eritema. Hal ini berarti bahwa bahan uji yaitu khitin 1% bila digunakan pada kulit utuh atau normal tidak akan menimbulkan eritema. Sedangkan perlakuan khitin 1% pada kulit yang teriritasi oleh phenol 50%, menunjukkan tidak memberikan efek antiinflamasi karena tidak bisa menurunkan indeks eritema. Dari tabel indeks eritema, dapat dilihat bahwa variabel hari tidak mempengaruhi hasil indeks eritema untuk kelompok normal dengan perlakuan khitin 1% maupun kelompok perlakuan khitin 1% dengan penambahan phenol 50%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian berulang khitin 1% selama tiga hari tidak bisa mengurangi iritasi akibat phenol 50%.

c. Kulit dengan perlakuan khitin 5%

Dari hasil pengamatan dan perhitungan yang dilakukan, nilai indeks eritema primer untuk kulit dengan perlakuan khitin 5% pada kelompok normal adalah 0 yang berarti khitin 5% tidak menimbulkan eritema. Sedangkan nilai indeks eritema untuk kelompok perlakuan khitin 5% dengan penambahan phenol 50% bernilai 2,5 yang berarti respon kulit menunjukkan terjadinya eritema terbatas jelas. Hal ini berarti bahwa bahan uji yang berupa khitin 5% bila digunakan pada kulit utuh atau normal tidak akan menimbulkan eritema. Sedangkan penggunaannya pada kulit yang telah teriritasi oleh phenol 50%, maka khitin 5% belum bisa menyembuhkan atau mengurangi iritasi tersebut (tidak memberikan efek antiinflamasi), yang dilihat dari tidak adanya penurunan nilai indeks eritema. Peradangan yang terjadi diakibatkan pemberian phenol 50%, berdasarkan fakta bahwa khitin 5% pada kulit utuh tidak menunjukkan timbulnya eritema. Dari tabel indeks eritema, dapat dilihat bahwa variabel hari tidak mempengaruhi hasil indeks eritema untuk kelompok normal dengan perlakuan khitin 5% maupun kelompok perlakuan khitin 5% dengan penambahan phenol 50%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian berulang khitin 5% selama tiga hari tidak bisa mengurangi iritasi akibat phenol 50%.

d. Kulit dengan perlakuan Hidrokortison 2,5%

Dari hasil pengamatan dan perhitungan yang dilakukan, nilai indeks eritema primer untuk kelompok normal dengan perlakuan hidrokortison 2,5% adalah 0 (tanpa eritema) untuk indeks eritema pada hari pertama, 0,58 (tanpa eritema) untuk nilai indeks hari kedua dan 1 (eritema sangat sedikit atau hampir tidak ada) untuk nilai indeks hari ketiga, yang berarti telah terjadi peningkatan nilai indeks eritema dengan pemberian berulang hidrokortison 2,5% selama tiga hari. Hal ini berarti bahwa bahan uji yang berupa hidrokortison 2,5% bila digunakan pada kulit normal dapat menyebabkan eritema sangat sedikit atau hampir tidak ada. Sedangkan nilai indeks eritema untuk kelompok perlakuan hidrokortison 2,5% dengan penambahan phenol 50% bernilai 2,33 (eritema terbatas jelas) untuk nilai indeks eritema pada hari pertama dan kedua serta bernilai 1,92 (tanpa eritema) untuk indeks eritema hari ketiga. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian hidrokortison 2,5% secara berulang selama tiga hari dapat menurunkan nilai

indeks eritema dan tidak menutup kemungkinan dapat menyembuhkan iritasi akibat phenol 50% tersebut jika digunakan dalam waktu lebih dari tiga hari. Hal lain yang perlu diperhatikan adalah bahwa nilai indeks eritema kulit dengan perlakuan hidrokortison 2,5% terus menaik hingga hari ketiga, membuktikan bahwa hidrokortison 2,5% yang merupakan obat steroid topikal justru dapat menyebabkan iritasi bila digunakan pada kulit utuh atau normal. Sehingga penggunaannya perlu diperhatikan terutama efek sampingnya yang dapat menyebabkan atrofi kulit.

Bila dibandingkan antara nilai indeks eritema primer kelompok perlakuan dengan penambahan phenol 50% dengan nilai indeks eritema primer kelompok normal, maka nilainya lebih besar dari nilai indeks eritema primer kelompok normal tetapi perbedaannya tidak terlalu signifikan, yang dilihat dari hasil statistik non parametrik. Sehingga dapat disimpulkan bahwa penggunaan khitin 1% dan 5% pada kulit utuh atau normal tidak menimbulkan eritema, sehingga bisa digunakan untuk obat topikal. Nilai indeks eritema primer untuk kelompok normal dengan perlakuan khitin 1% dan khitin 5% nilainya adalah 0, yang berarti pada kulit normal khitin 1% dan 5% tidak menimbulkan eritema. Sedangkan pada kelompok perlakuan dengan penambahan phenol 50%, khitin 1% dan 5% tidak bisa mengurangi iritasi yang terjadi karena tidak bisa menurunkan nilai indeks eritema. Berbeda dengan hidrokortison 2,5%, nilai indeks eritema hidrokortison 2,5% pada kelompok normal meningkat dengan pemberian berulang, sehingga hidrokortison 2,5% pada kulit normal dapat menimbulkan eritema. Tetapi untuk pemberian hidrokortison 2,5% pada kelompok perlakuan dengan penambahan phenol 50%, menunjukkan penurunan nilai indeks eritema dengan pemberian berulang, sehingga dapat disimpulkan bahwa hidrokortison 2,5% dapat mengurangi iritasi akibat phenol 50%.

2. Data Kualitatif

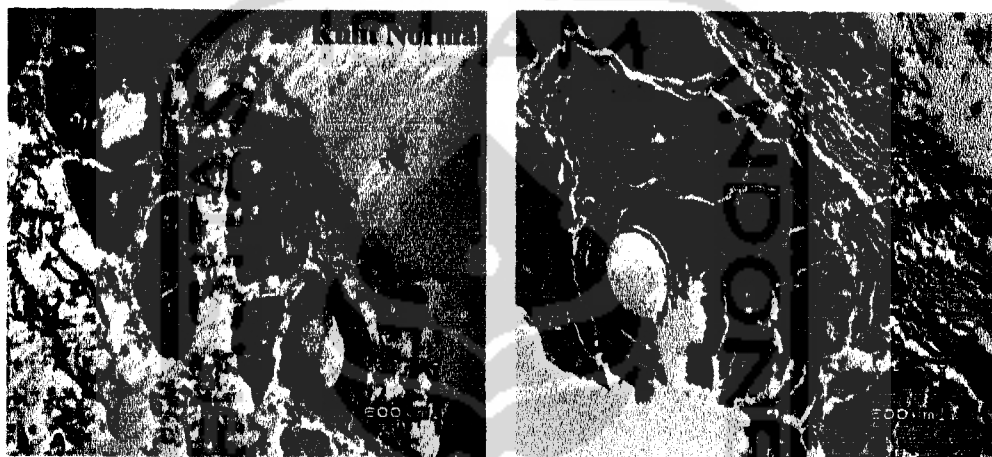
a. Eritema dan edema

Dari hasil penelitian dapat dilihat bahwa reaksi kulit yang terjadi adalah hanya berupa eritema atau kemerahan karena vasodilatasi pembuluh kapiler

daerah kulit dan tidak terjadi edema atau penimbunan cairan pada kulit kelinci baik pada kulit utuh ataupun kulit yang diiritasi.

b. Histopatologi kulit

Efek bahan yang diujikan terhadap sistemik bisa dilihat secara histopatologi kulit. Preparat histopatologi kulit diambil dengan cara memotong bagian kulit dengan diameter 0,3mm (< 0,5mm) tidak terlalu tebal dan tidak terlalu tipis agar pengamatannya lebih mudah. Berikut gambar hasil histopatologi kulit :

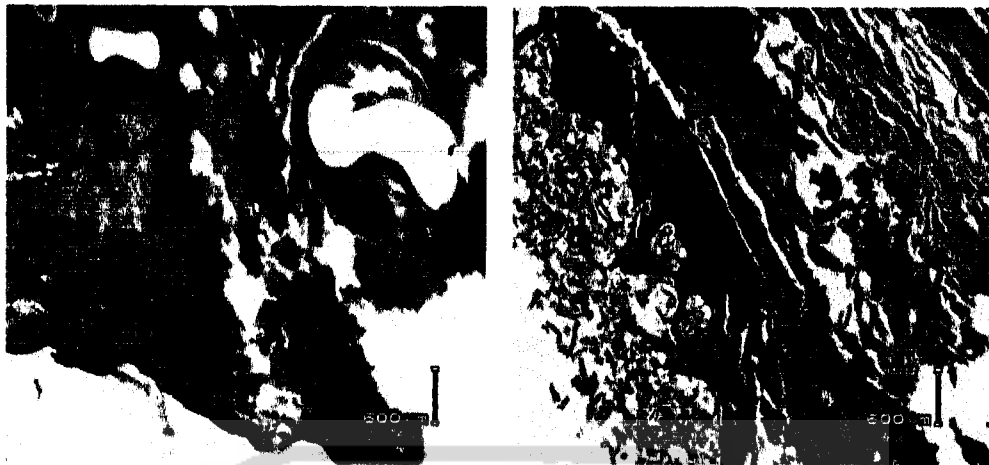


Keterangan :

- a. kulit normal
- b. peradangan pada otot karena pemberian phenol 50% (b).

Gambar 4. Histopatologi irisan membujur kulit normal dengan pengecatan HE dan gambaran histopatologi terjadinya peradangan.

Gambar 4 diatas merupakan gambaran histopatologi sel-sel kulit secara normal dan gambaran sel-sel kulit yang mengalami peradangan akibat pemberian phenol 50% yang ditunjukkan dengan poin b. Peradangan yang terjadi yaitu peradangan pada sel-sel otot di kulit.

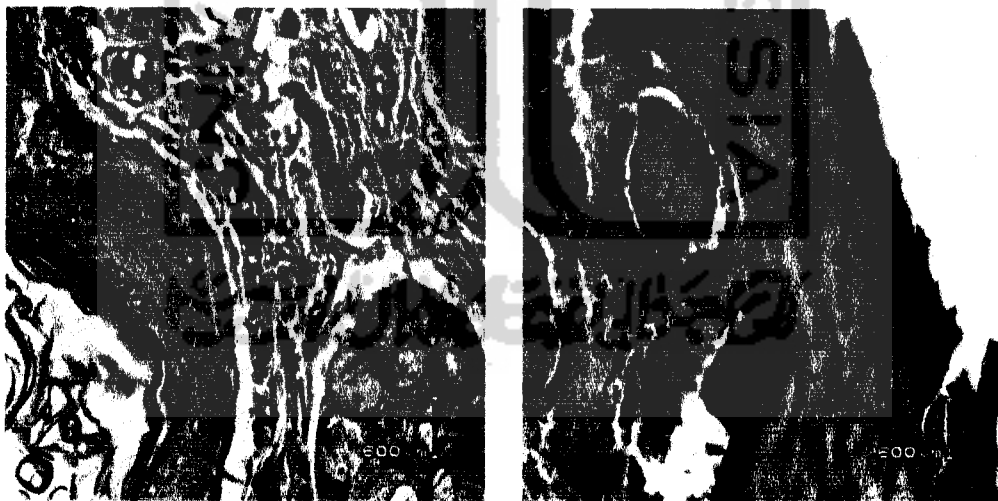


Keterangan :

- a. Nekrosis (kematian sel) (c)
- b. Erosi epidermis (d)
- c. Peradangan (e)

Gambar 5. Histopatologi irisan membujur kulit dengan pengecatan HE dimana terjadi nekrosis, erosi dan peradangan akibat pemberian phenol 50%.

Gambar 5 merupakan gambaran histopatologi sel-sel kulit yang mengalami nekrosis atau kematian sel, terjadinya erosi atau pengikisan lapisan epidermis, dan peradangan pada sel-sel kulit akibat pemberian phenol 50%.

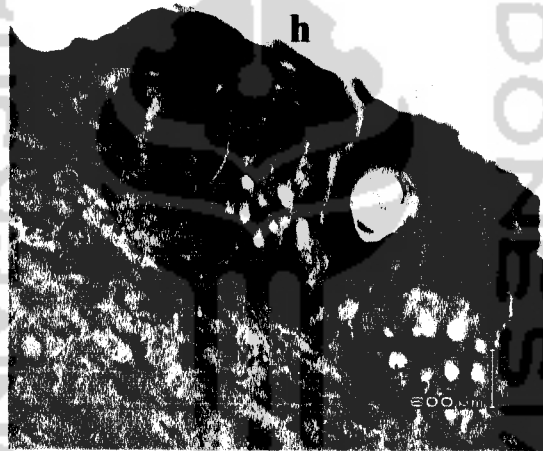


Keterangan :

- a. Peradangan pada heterotel (f)
- b. Hemoragi (g)

Gambar 6. Histopatologi irisan melintang kulit dengan pengecatan HE dimana terjadi peradangan pada heterotel tanpa pemberian phenol 50% (kulit normal + khitin 1%) dan hemoragi dengan pemberian phenol 50%.

Gambar 6 merupakan gambaran histopatologi sel-sel kulit yang mengalami peradangan pada heterotel tetapi tanpa adanya pemberian phenol 50%, sehingga peradangan yang ditunjukkan dengan poin f adalah peradangan yang tidak diakibatkan oleh phenol 50%. Peradangan ini terjadi pada perlakuan khitin 1% tanpa pemberian phenol, tetapi dapat dipastikan bahwa peradangan yang terjadi bukan dikarenakan perlakuan khitin 1%, karena fenomena ini hanya ditemukan pada satu hewan uji dan diduga peradangan terjadi akibat pencukuran pada hewan uji yang kurang hati-hati. Poin g menunjukkan gambaran histopatologi sel-sel kulit yang mengalami hemoragi atau pendarahan. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian phenol 50% tidak hanya mengiritasi sel-sel kulit, tetapi dapat pula menimbulkan luka .



Keterangan :

a. Regenerasi epidermis (h)

Gambar 7. Histopatologi irisan kulit membujur yang diberi phenol 50% memulai regenerasi epidermis.

Gambar 7. merupakan gambaran histopatologi sel-sel kulit yang menunjukkan terjadinya regenerasi atau pembentukan lapisan epidermis yang baru. Fenomena ini terjadi ketika hewan uji diberi perlakuan dengan hidrokortison 2,5% 0,2 gram selama 3 hari secara berulang.

Berikut adalah hasil pemeriksaan kulit kelinci yang diberi berbagai perlakuan adalah sebagai berikut :

Tabel VII. Hasil pengamatan histopatologi kulit kelinci

No.	Tanpa perlakuan	Khitin 1%	Khitin 5%	Hidrokortison 2,5%
	Iritasi (dengan phenol)			
1.	R	E, H	E, N	E, N
2.	E, R	E, H, R	E, R, EP	E, R, EP
3.	E, R	E, H, R	E, R	E, R
4.	E, R	E, R	E, R	E, R
	Utuh (tanpa phenol)			
1.	E, N>	-/S	-	HP
2.	-	-	-	-
3.	-	-	-	N
4.	-	N, R	-	-/S

Keterangan :

- | | | | |
|---|-------------------------|----|-------------------------|
| E | : erosi epidermis | EP | : pembentukan epidermis |
| N | : nekrosis | HP | : hiperkeratosis |
| H | : hemoragi | S | : infeksi ektoparasit |
| R | : infiltrasi sel radang | | |

Tabel diatas menunjukkan hasil histopatologi dari kulit kelinci. Hasil histopatologi menunjukkan terjadinya peradangan atau infiltrasi sel radang, erosi epidermis, hemoragi atau pendarahan, nekrosis atau kematian sel dan adanya pembentukan epidermis baru pada kulit kelinci yang diberi perlakuan dengan phenol 50%. Peradangan, hemoragi dan erosi epidermis terjadi lebih dikarenakan pemberian phenol 50% bukan karena perlakuan dengan khitin 1% dan 5%. Hal ini

menunjukkan bahwa pengobatan topikal dengan khitin 1% dan 5% tidak mempengaruhi iritasi dan gambaran histopatologi akibat pemberian phenol. Adanya pembentukan atau regenerasi epidermis pada kulit kelinci yang teriritasi oleh phenol 50% yang diberi perlakuan hidrokortison 2,5%, menunjukkan adanya efek antiinflamasi dan penghambatan antigen phenol pada sel-sel kulit oleh hidrokortison 2,5%.

Sedangkan pada praperlakuan tanpa phenol 50%, hasil histopatologi menunjukkan adanya erosi epidermis pada kulit tanpa perlakuan; adanya infeksi ektoparasit, nekrosis dan peradangan pada kulit dengan perlakuan khitin 1%; adanya hiperkeratosis, nekrosis dan infeksi ektoparasit pada kulit dengan perlakuan hidrokortison 2,5%; sedangkan pada kulit dengan perlakuan khitin 5% hasil histopatologi menunjukkan tidak terjadi perubahan pada kulit. Adanya nekrosis dan peradangan pada kulit akibat perlakuan khitin 1% lebih dikarenakan akibat pencukuran yang mungkin melukai hewan uji, sedangkan adanya infeksi ektoparasit lebih dikarenakan lingkungan yang kurang memadai terutama suhu dan kelembaban aserta kebersihan kandang dan hewan uji. Adanya hiperkeratosis yang merupakan salah satu tanda terjadinya dermatitis kontak pada perlakuan hidrokortison 2,5%, menunjukkan bahwa hidrokortison yang digunakan pada kulit normal justru dapat menyebabkan terjadinya dermatitis.

Dari hasil penelitian seluruhnya, dapat disimpulkan bahwa khitin 1% dan 5% tidak menyebabkan iritasi sehingga bisa digunakan pada topikal, tetapi dengan kadar seperti itu maka khitin 1% dan 5% belum bisa menyembuhkan atau mengurangi iritasi akibat phenol 50%. Maka dapat dikatakan bahwa khitin dengan kadar 1% dan 5% belum memberikan efek antiinflamasi pada iritasi akibat phenol 50% karena hasil histopatologi tidak memberikan gambaran perbaikan sel-sel kulit akibat pemberian khitin 1% maupun khitin 5% terhadap iritasi akibat phenol 50%, sehingga kemungkinan kadarnya harus ditingkatkan. Hasil histopatologi dan gejala klinis menunjukkan khitin 1% dan 5% tidak menyebabkan perubahan pada sel-sel kulit normal dan termasuk dalam kategori senyawa yang tidak menyebabkan eritema sehingga dapat digunakan pada kulit normal atau untuk pengobatan topikal, tetapi tidak efektif untuk pengobatan akibat iritasi phenol 50%. Berbagai perubahan yang terjadi pada kulit secara histopatologi lebih

dikarenakan oleh pemberian phenol 50% bukan karena perlakuan khitin 1% dan 5%. Berdasarkan hasil histopatologi kulit kelinci, maka khitin 5% lebih bagus daripada khitin 1% karena tidak menyebabkan perubahan apapun pada sel-sel kulit normal.

Pengambilan keputusan dibantu dengan menggunakan analisis statistik non parametrik dengan taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$). Hasil analisis statistik menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan antara setiap area perlakuan dengan rata-rata eritema yang dihasilkan dari percobaan, karena nilai signifikansinya lebih besar dari 0,025 (sig 2 tailed). Perbedaan yang tidak signifikan antara setiap area perlakuan dengan rata-rata eritema yang dihasilkan menunjukkan bahwa setiap perlakuan baik khitin 1%, 5% maupun perlakuan dengan hidrokortison 2,5% mempunyai nilai rata-rata terjadinya eritema yang hampir sama, sehingga bahan uji termasuk kategori senyawa yang menyebabkan eritema sangat sedikit atau hampir tidak ada. Perbedaan yang tidak signifikan ini, juga menunjukkan bahwa perlakuan khitin 1% dan 5% serta hidrokortison 2,5% tidak berpengaruh terhadap iritasi akibat phenol 50%.

Dari hasil keseluruhan penelitian, menunjukkan bahwa khitin tidak dapat memberikan efek antiinflamasi karena hasil penelitian baik secara kuantitatif menunjukkan bahwa khitin tidak bisa mengurangi nilai indeks eritema akibat pemberian phenol 50%, maupun secara kualitatif dengan gambaran histopatologi menunjukkan bahwa khitin tidak bisa mengurangi peradangan yang terjadi akibat phenol 50%. Hal tersebut dimungkinkan terjadi karena kadar khitin yang digunakan terlalu kecil atau waktu pemberiannya kurang lama.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang efek antiinflamasi topikal khitin s pada kelinci jantan putih , maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

Khitin tidak dapat memberikan efek antiinflamasi karena hasil penelitian baik secara kuantitatif menunjukkan bahwa khitin tidak bisa mengurangi nilai indeks eritema akibat pemberian phenol 50%, maupun secara kualitatif dengan gambaran histopatologi menunjukkan bahwa khitin tidak bisa mengurangi peradangan yang terjadi akibat phenol 50%.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek antiinflamasi khitin dalam waktu yang lebih lama dan kadar yang lebih besar.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut yang terkait dengan uji aktivitas khitin sebagai agen antiketombe terhadap jamur dan bakteri penyebab ketombe.

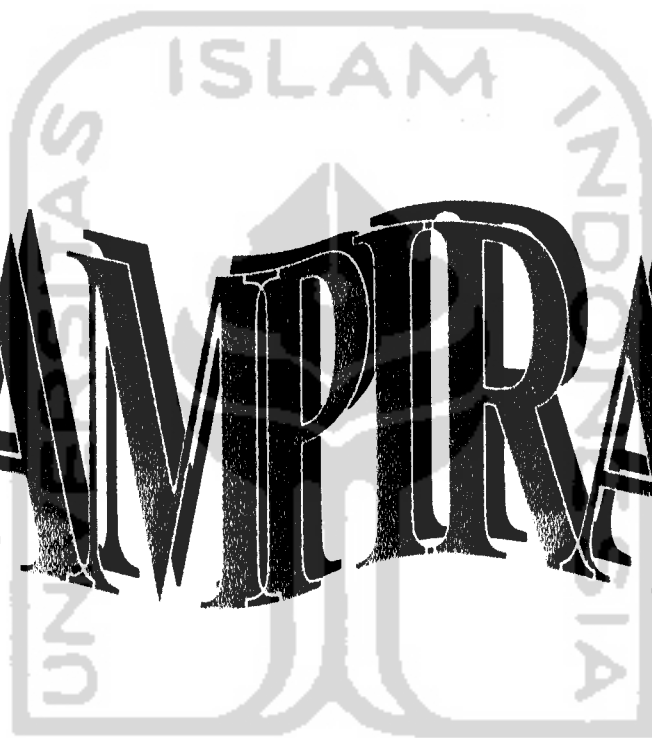
DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2000, *Chitin Research*, <http://www.ocean.udel.edu/horsescrab/research/chitin.html> (diakses 19 September 2005)
- Anonim, 2001, About Chitin, <http://www.chitin.com.cn/english.jkssj.htm> (diakses 19 September 2005)
- Anonim, 2002, *What is chitin*, http://wywy.essortment.com/whatischitin_nkkh.htm (diakses 19 September 2005)
- Anonim, 2004, *Eritema dan Edema*, (URL) <http://www.intelihealth.com> (diakses agustus 2006)
- Anonim, 2005, *Dandruff, Moondragon's Health & wellnes*, <http://www.moondragon.org> (diakses 11 Juli 2005)
- Anonim, 2005, *Allergic Contact Dermatitis*, http://dermnetnz.org/dermatitis/contact_allergy.html (diakses 14 Desember 2005)
- Anonim, 2005, *Chitin; Poly-N-acetyl-D-glukcosamine Fact Sheet*, http://www.epa.gov/pestisides/biopestisides/ingredient/factsheet/factsheet_128991.htm (diakses 19 September 2005)
- Anonim, 2005, *Chitin*, <http://en.wikipedia.org/wiki/chitin> (diakses 19 September 2005)
- Bhol, KC., Alroy J., Schecter, PJ., 2003, *Anti-Inflamantory Effect of Topical Nanocrystalline Silver Cream on Allergic Contact Dermatitis in a Guinea Pig Model*, NUCRYST Pharmaceuticals inc., USA, 1-9.
- Brossia, Robin L., 1988, *Primary Skin Irritation Test in The Rabbit of Watergel Burn Dressing*, www.waterjel.com (diakses Agustus 2006)
- Buehler, E.V, 1994, *Occlusive patch method for skin sensitization in guinea pigs: the Buehler method*. *Food and Chemical Toxicology* 32:97– 101
- Chen, AS, Taguchi, T, Sakai, K, Kikuchi, K, Wang, MW, and Miwa, I, 2003, *Antioxidant Activities of Chitobiose and Chitotriose*, *Biol. Pharm. Bull.* 26(9) 1326—1330
- Choi, Y, Jung, HS, Kim, HR, Lee, EJ, Lee, EH, Shin, TY, Kim, HM, and Hong, SH, 2004, *OK205 Regulates Production of Inflammatory Cytokines in HMC-1 Cells*, *Biol. Pharm. Bull.* 27(11) 1871—1874
- Choy, E. H. S., and Fanayi G. S., 2001, *Chytokin Pathway and Joint Inflammatory in Rheumatoid Arthritis*, *N Engl.J.,Med*, Vol., 344, No 12.
- Focher, B., Naggi, A., Tarri, G., Cosami, A. And Terbojevich, M., 1992, *Structural Differences Between Chitin Polymorphs and Their Precipitates from Solution Evidance from CP-MAS 13 C-NMR, FT-IR and FT-Raman Spectroscopy*, *Carbohidrat Polymer*, 17 (2) : 97-102.
- Fukada Y, Kimura K and Ayaki' Y, 1991, *Effect of Chitosan Feeding on Intestinal Bile Acid Metabolism in Rats*, *Lipids* 26 , 395-399

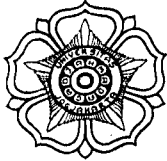
- Ganiswarna, Sulistia., 2004, *Farmakologi dan Terapi*, edisi keempat, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran UI, Gaya Baru, Jakarta.
- Habibie, S., 2000, *Polimer Khitosan dan Penggunaannya*, Majalah Ilmiah Pengkajian Industri (Topik : Material), Edisi No. : 11/Agustus/2000 ISSN : 1410-3680 Penerbit : Deputi Teknologi Industri Rancang Bangun dan Rekayasa, BPPT.
- Hirano, S., 1986, *Chitin and Chitosan*, Ulmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Republika of Germany 5th ed, A 6: 231-232.
- Loomis, T. A., 1987, *Toksikologi Dasar*, Edisi ketiga, diterjemahkan Imono Argo Donatus, IKIP Semarang Press, Semarang.
- Lu, F. C., 1995, *Toksikologi Dasar, Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian resiko*, Edisi II, diterjemahkan oleh Edi Nugroho, UI Press, Jakarta.
- Lang, G., 1995, *Chitosan Derivates-Preparation and Potential Uses*, Collection of Working Papers 28, University Kebangsaan Malaysia, 11 : 109-114.
- Khan, Tanveer Ahmad., Peh, Kok Kiang., Ch'ng, Hung Seng., 2000, *Mechanical, Bioadhesive Strength and Biological Evaluations of Chitosan film for Wound Dressing*, *J.Pharm.*, School of Pharmaceutical Sciences, University of Science Malaysia, 11800 Penang, Malaysia.
- Manjang, Y., 1993, *Analisa Ekstrak Berbagai Jenis Kulit Udang Terhadap Mutu Khitosan*, *Jurnal Penelitian Andalas*, 12 (V) : 138-143.
- Marganof, 2003, *Potensi Limbah Udang sebagai Penyerap Logam Berat (timbal, kadmium dan tembaga) di Perairan*, Makalah Pengantar Falsafah Sains (PPS702), Program Pasca Sarjana/S3, Institut Pertanian Bogor.
- McGinley KJ., Leyden JJ., Marples RR., Path M.R.C. and Kligman AM, 1975, *Quantitative Microbiology of the Scalp in Non-Dandruff, Dandruff, and Seborrheic Dermatitis*, *Journal of Investigative Dermatology* Volume 64 issue 6 page 401.
- Michael, Jhon A., 2005, *Contact Dermatitis*, Department of Emergency Medicine, Northshore Medical Center
<http://www.emedicine.com/EMERG/topic131.htm> (diakses 14 Desember 2005)
- Moehadsjah, O. K., Wongso, S., Nasution, A. R., Adnan, H. M., H Tambunan, H. A. S., Albar, Z., Daud, R., setiyohadi, B., Kasjmir, Y. I., Pramudyo, R., Soenarto., Santoso, G. H., Effendi, Z., Kalim, H., Putra, T. R., Tehupeiory, E., 1996, *Buku Ajar Penyakit Dalam*, Jilid I Edisi ketiga, Balai Penerbit FK UI, Jakarta.
- Muzzarelli, R.A.A., 1986, *Chitin*, Faculty of Medicine University of Ancona, Italy, Pergamon Press, 81-87.
- Neely, M.C.H and William, 1969, *Chitin and Its Derivates in Industrial*, Gums Kelco Company California, 193-212.
- Nweze, E. I. 2001. Etiology of dermatophytoses amongst children in northeastern Nigeria. *Med Mycol.* 39:181-184.

- Nweze, E. I. 2001. Etiology of dermatophytoses amongst children in northeastern Nigeria. *Med Mycol.* 39:181-184.
- Ohlendorf, H.M., 1996, *Selenium*, in Fairbrother, A., (ed)., *Noninfectious diseases of wildlife* (2nd ed.): Ames, Iowa, Iowa State University Press, p. 128–140.
- Okawa Y, Kobayashi M, Suzuki, S, and Suzuki, M, 2003, Comparative Study of Protective Effects of Chitin, Chitosan, and N-Acetyl Chitohexaose against *Pseudomonas aeruginosa* and *Listeria monocytogenes* Infections in Mice, *Biol. Pharm. Bull.* 26(6) 902—904
- Olson, C. T., 2000, *Evaluation of The Dermal Irritancy of Chemist*, CRC PressInc., Florida.
- Prasetyo, K.W., 2004, *Pemanfaatan Limbah Cangkang Udang sebagai Bahan Pengawet Kayu Ramah Lingkungan*, S Hut UPT Balitbang Biomaterial LIPI Cibinong, Bogor.
- Sabota, J., R. Brodell, G. W. Rutecki, and W. L. Hoppes. 1996. *Severe tinea barbae due to Trichophyton verrucosum infection in dairy farmers.* *Clin Infect Dis.* 23:1308-10.
- Seo SB, Jeong HJ, Chung HS, Lee JD, You YO, Kajiuchi T, and Kim HM, 2003, *Inhibitory Effect of High Molecular Weight Water-Soluble Chitosan on Hypoxia-Induced Inflammatory Cytokine Production*, *Biol. Pharm. Bull.* 26(5) 717—721
- Squeo, R. F., R. Beer, D. Silvers, I. Weitzman, and M. Grossman, 1998, *Invasive Trichophyton Rubrum Resembling Blastomycosis Infection in the Immunocompromised Host*, *J Am Acad Dermatol.* 39:379-380.
- Sullivan, Jhon R., 2001, *Dandruff*, Australian collage of Dermatologist.
- Trihapsoro, Iwan, 2003, *Dermatitis Kontak Alergik pada Pasien Rawat Jalan di RSUP Haji Adam Malik Medan*, Bagian Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara.
- Weitzman, I., and Summerbell, R. C.. 1995. The dermatophytes. *Clin Microbiol Rev.* 8:240-59.

LAMPIRAN



لَا إِلَهَ إِلَّا اللَّهُ مُحَمَّدٌ رَسُوْلُهُ

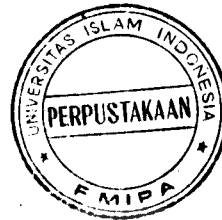


DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
LABORATORIUM PATOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS GADJAH MADA

Jl. Agro, Karangmalang, Yogyakarta 55281, Telp. (0274) 9061103, 9061107, 560862

Hal : hasil histopatologi

Kepada
Yth. Sdri. Yeni Yuliani.
Fakultas MIPA, Jurusan Farmasi
UII, Yogyakarta



Dengan hormat,
Bersama ini disampaikan hasil pemeriksaan kulit tikus ^{kelinci} yang diberi berbagai perlakuan adalah sebagai berikut :

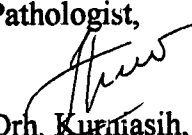
No.	Tanpa perlakuan	Khitin 1%	Khitin 5%	Hidrocortison 2,5%
	LUKA			
1.	R	E, H	E, N	E, N
2.	E, R	E, H, R	E, R, EP	E, R, EP
3.	E, R	E, H, R	E, R	E, R
4.	E, R	E, R	E, R	E, R
	TANPA LUKA			
1.	E, N>	-/S	-	HP
2.	-	-	-	-
3.	-	-	-	N
4.	-	N, R	-	-/S

Keterangan :

E : erosi epidermis
N : nekrosis
H : hemoragi
R : infiltrasi sel radang
EP : pembentukan epidermis
HP : hiperkeratosis
S : infeksi ektoparasit

Demikian hasilnya, diucapkan terima kasih atas kerjasamanya.

Yogyakarta, 10 Juii 2006
Pathologist,


Drh. Kurniasih, MVSc.,PhD.

NIP. 130 610 224

Lampiran 2

1. Data pengamatan iritasi primer secara kualitatif

a. Area I : Tanpa perlakuan (kulit utuh/normal)

Tabel VIII. Rata-rata eritema area I (tanpa perlakuan atau kontrol)

AREA I						
Dengan phenol						
Kelinci	Hari 1		Hari 2		Hari 3	
	1 jam	24 jam	1 jam	24 jam	1 jam	24 jam
I	3	3	3	3	3	3
II	3	3	3	3	3	3
III	3	3	3	3	3	3
IV	2	2	2	2	2	2
V	3	3	3	3	3	3
VI	2	2	2	2	2	2
x	2,67	2,67	2,67	2,67	2,67	2,67
SD	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52
x Eritema	2,67		2,67		2,67	

Tanpa phenol						
Kelinci	Hari 1		Hari 2		Hari 3	
	1 jam	24 jam	1 jam	24 jam	1 jam	24 jam
I	0	0	0	0	0	0
II	0	0	0	0	0	0
III	0	0	0	0	0	0
IV	0	0	0	0	0	0
V	0	0	0	0	0	0
VI	0	0	0	0	0	0
x	0	0	0	0	0	0
SD	0	0	0	0	0	0
x Eritema	0		0		0	

b. Area II : Perlakuan dengan khitin 1%

Tabel IX. Rata-rata eritema area II (perlakuan khitin 1%)

AREA II						
Dengan phenol						
Kelinci	Hari 1		Hari 2		Hari 3	
	1 jam	24 jam	1 jam	24 jam	1 jam	24 jam
I	2	2	2	2	2	2
II	2	2	2	2	2	2
III	3	3	3	3	3	3
IV	3	3	3	3	3	3
V	2	2	2	2	2	2
VI	3	3	3	3	3	3
x	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
SD	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55
x Eritema	2,5		2,5		2,5	

Tanpa phenol						
Kelinci	Hari 1		Hari 2		Hari 3	
	1 jam	24 jam	1 jam	24 jam	1 jam	24 jam
I	0	0	0	0	0	0
II	0	0	0	0	0	0
III	0	0	0	0	0	0
IV	0	0	0	0	0	0
V	0	0	0	0	0	0
VI	0	0	0	0	0	0
x	0	0	0	0	0	0
SD	0	0	0	0	0	0
x Eritema	0		0		0	

c. Area III : Perlakuan dengan khitin 5%

Tabel X. Rata-rata eritema area III (perlakuan khitin 5%)

AREA III						
Dengan phenol						
Kelinci	Hari 1		Hari 2		Hari 3	
	1 jam	24 jam	1 jam	24 jam	1 jam	24 jam
I	2	2	2	2	2	2
II	2	2	2	2	2	2
III	3	3	3	3	3	3
IV	3	3	3	3	3	3
V	2	2	2	2	2	2
VI	3	3	3	3	3	3
x	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
SD	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55
x Eritema	2,5		2,5		2,5	

Tanpa phenol						
Kelinci	Hari 1		Hari 2		Hari 3	
	1 jam	24 jam	1 jam	24 jam	1 jam	24 jam
I	0	0	0	0	0	0
II	0	0	0	0	0	0
III	0	0	0	0	0	0
IV	0	0	0	0	0	0
V	0	0	0	0	0	0
VI	0	0	0	0	0	0
x	0	0	0	0	0	0
SD	0	0	0	0	0	0
x Eritema	0		0		0	

d. Area IV : Perlakuan dengan Hidrokortison 2,5%

Tabel XI. Rata-rata eritema area IV (perlakuan hidrokortison 2.5%)

AREA IV						
Dengan phenol						
Kelinci	Hari 1		Hari 2		Hari 3	
	1 jam	24 jam	1 jam	24 jam	1 jam	24 jam
I	2	2	2	2	1	1
II	2	2	2	2	1	1
III	3	3	3	3	3	3
IV	3	3	3	3	3	2
V	2	2	2	2	2	2
VI	2	2	2	2	2	2
x	2,33	2,33	2,33	2,33	2	1,83
SD	0,52	0,52	0,52	0,52	0,89	0,75
x Eritema	2,33		2,33		1,92	

Tanpa phenol						
Kelinci	Hari 1		Hari 2		Hari 3	
	1 jam	24 jam	1 jam	24 jam	1 jam	24 jam
I	0	0	0	1	1	1
II	0	0	1	1	1	1
III	0	0	0	1	1	1
IV	0	0	0	1	1	1
V	0	0	0	1	1	1
VI	0	0	0	1	1	1
x	0	0	0,17	1	1	1
SD	0	0	0,41	0	0	0
x Eritema	0		0,58		0	

Lampiran 3

2. Keterangan Skor

Respon kulit	skor
Eritema dan pembentukan kerak :	
Tanpa eritema	0
Eritema sangat sedikit (hampir tidak ada)	1
Eritema berbatas jelas	2
Eritema moderat sampai berat	3
Eritema berat (merah bit) sampai sedikit membentuk kerak (luka dalam)	4
Pembentukan edema :	
Tanpa edema	0
Edema sangat sedikit (hampir tidak jelas)	1
Edema sedikit (tepi daerah berbatas jelas)	2
Edema moderat (tepi naik kira-kira 1mm)	3
Edema berat (naik lebih dari 1mm dan meluas keluar daerah pejanan)	4
Total skor iritasi yang mungkin terjadi	8

3. Rumus Perhitungan

$$\text{Rata-rata eritema normal} = \frac{\text{eritema kulit normal 1 jam} + \text{eritema kulit normal 24 jam}}{2}$$

$$\text{Rata-rata eritema iritasi} = \frac{\text{eritema kulit insisi 1 jam} + \text{eritema kulit insisi 24 jam}}{2}$$

$$\text{Rata-rata edema normal} = \frac{\text{edema kulit normal 1 jam} + \text{edema kulit normal 24 jam}}{2}$$

$$\text{Rata-rata edema iritasi} = \frac{\text{edema kulit insisi 1 jam} + \text{edema kulit insisi 24 jam}}{2}$$

$$\text{Indeks eritema primer} = \frac{\text{rata-rata eritema normal} + \text{rata-rata eritema insisi}}{2}$$

$$\text{Indeks edema primer} = \frac{\text{rata-rata edema normal} + \text{rata-rata edema insisi}}{2}$$

$$\text{Indeks iritasi primer} = \text{indeks eritema primer} + \text{indeks edema primer}$$

Lampiran 4

4. Foto kulit kelinci



Gambar 8. Kulit Normal



Gambar 9. Eritema skor 2



Gambar 10. Eritema skor 3

5. Serbuk Khitin



Gambar 11. Khitin

Lampiran 5

RATA-RATA ERITEMA IRITASI**Oneway****Descriptives**

Rata-rata eritema iritasi

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
area 1	3	2.6700	.00000	.00000	2.6700	2.6700	2.67	2.67
area 2	3	2.5000	.00000	.00000	2.5000	2.5000	2.50	2.50
area 3	3	2.5000	.00000	.00000	2.5000	2.5000	2.50	2.50
area 4	3	2.1933	.23671	.13667	1.6053	2.7814	1.92	2.33
Total	12	2.4658	.20602	.05947	2.3349	2.5967	1.92	2.67

Test of Homogeneity of Variances

Rata-rata eritema iritasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
16.000	3	8	.001

ANOVA

Rata-rata eritema iritasi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.355	3	.118	8.443	.007
Within Groups	.112	8	.014		
Total	.467	11			

Robust Tests of Equality of Means^b

Rata-rata eritema iritasi

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch

a. Asymptotically F distributed.

b. Robust tests of equality of means cannot be performed for Rata-rata eritema iritasi because at least one group has 0 variance.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Rata-rata eritema iritasi	12	2.4658	.20602	1.92	2.67
Area	12	2.5000	1.16775	1.00	4.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Rata-rata eritema iritasi	Area
N		12	12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	2.4658	2.5000
	Std. Deviation	.20602	1.16775
	Most Extreme Differences		
	Absolute	.316	.166
	Positive	.184	.166
	Negative	-.316	-.166
Kolmogorov-Smirnov Z		1.094	.574
Asymp. Sig. (2-tailed)		.182	.897

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Rata-rata eritema iritasi	12	2.4658	.20602	1.92	2.67
Area	12	2.5000	1.16775	1.00	4.00

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Area	N	Mean Rank
Rata-rata eritema iritasi	area 1	3	11.00
	area 2	3	6.50
	area 3	3	6.50
	area 4	3	2.00
	Total		12

Test Statistics^{a,b}

	Rata-rata eritema iritasi
Chi-Square	10.866
df	3
Asymp. Sig.	.012

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Area

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Rata-rata eritema iritasi	12	2.4658	.20602	1.92	2.67
Area	12	2.5000	1.16775	1.00	4.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	Area	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rata-rata eritema iritasi	area 1	3	5.00	15.00
	area 2	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Rata-rata eritema iritasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.236
Asymp. Sig. (2-tailed)	.025
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Area

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Rata-rata eritema iritasi	12	2.4658	.20602	1.92	2.67
Area	12	2.5000	1.16775	1.00	4.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	Area	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rata-rata eritema iritasi	area 1	3	5.00	15.00
	area 3	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Rata-rata eritema iritasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.236
Asymp. Sig. (2-tailed)	.025
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Area

NPar Tests**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Rata-rata eritema iritasi	12	2.4658	.20602	1.92	2.67
Area	12	2.5000	1.16775	1.00	4.00

Mann-Whitney Test**Ranks**

Area	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rata-rata eritema iritasi area 1	3	5.00	15.00
area 4	3	2.00	6.00
Total	6		

Test Statistics^b

	Rata-rata eritema iritasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Area

NPar Tests**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Rata-rata eritema iritasi	12	2.4658	.20602	1.92	2.67
Area	12	2.5000	1.16775	1.00	4.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	Area	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rata-rata eritema iritasi	area 2	3	3.50	10.50
	area 3	3	3.50	10.50
	Total	6		

Test Statistics^b

	Rata-rata eritema iritasi
Mann-Whitney U	4.500
Wilcoxon W	10.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Area

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Rata-rata eritema iritasi	12	2.4658	.20602	1.92	2.67
Area	12	2.5000	1.16775	1.00	4.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	Area	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rata-rata eritema iritasi	area 2	3	5.00	15.00
	area 4	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Rata-rata eritema iritasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Area

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Rata-rata eritema iritasi	12	2.4658	.20602	1.92	2.67
Area	12	2.5000	1.16775	1.00	4.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	Area	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rata-rata eritema iritasi	area 3	3	5.00	15.00
	area 4	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Rata-rata eritema iritasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Area

Lampiran 6

RATA-RATA ERITEMA NORMAL**Oneway****Descriptives**

Rata-rata eritema normal

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
area 1	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
area 2	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
area 3	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
area 4	3	.5267	.50213	.28990	-.7207	1.7740	.00	1.00
Total	12	.1317	.32028	.09246	-.0718	.3352	.00	1.00

Test of Homogeneity of Variances

Rata-rata eritema normal

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.502	3	8	.024

ANOVA

Rata-rata eritema normal

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.624	3	.208	3.300	.079
Within Groups	.504	8	.063		
Total	1.128	11			

Robust Tests of Equality of Means^a

Rata-rata eritema normal

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch	.			

a. Asymptotically F distributed.

b. Robust tests of equality of means cannot be performed for Rata-rata eritema normal because at least one group has 0 variance.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Rata-rata eritema normal	12	.1317	.32028	.00	1.00
Area	12	2.5000	1.16775	1.00	4.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Rata-rata eritema normal	Area
N		12	12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.1317	2.5000
	Std. Deviation	.32028	1.16775
Most Extreme Differences	Absolute	.493	.166
	Positive	.493	.166
	Negative	-.340	-.166
Kolmogorov-Smirnov Z		1.707	.574
Asymp. Sig. (2-tailed)		.006	.897

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Rata-rata eritema normal	12	.1317	.32028	.00	1.00
Area	12	2.5000	1.16775	1.00	4.00

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Area	N	Mean Rank
Rata-rata eritema normal	area 1	3	5.50
	area 2	3	5.50
	area 3	3	5.50
	area 4	3	9.50
	Total		12

Test Statistics^{a,b}

	Rata-rata eritema normal
Chi-Square	6.545
df	3
Asymp. Sig.	.088

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Area

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Area	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rata-rata eritema normal	area 1	3	3.50	10.50
	area 2	3	3.50	10.50
	Total	6		

Test Statistics^b

	Rata-rata eritema normal
Mann-Whitney U	4.500
Wilcoxon W	10.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Area

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Area	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rata-rata eritema normal	area 1	3	3.50	10.50
	area 3	3	3.50	10.50
	Total	6		

Test Statistics^b

	Rata-rata eritema normal
Mann-Whitney U	4.500
Wilcoxon W	10.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Area

NPar Tests Mann-Whitney Test

Ranks

	Area	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rata-rata eritema normal	area 1	3	2.50	7.50
	area 4	3	4.50	13.50
	Total	6		

Test Statistics^b

	Rata-rata eritema normal
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	7.500
Z	-1.549
Asymp. Sig. (2-tailed)	.121
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Area

NPar Tests Mann-Whitney Test

Ranks

	Area	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rata-rata eritema normal	area 2	3	3.50	10.50
	area 3	3	3.50	10.50
	Total	6		

Test Statistics^b

	Rata-rata eritema normal
Mann-Whitney U	4.500
Wilcoxon W	10.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Area

NPar Tests Mann-Whitney Test

Ranks

Area	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rata-rata eritema normal area 2	3	2.50	7.50
area 4	3	4.50	13.50
Total	6		

Test Statistics^b

	Rata-rata eritema normal
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	7.500
Z	-1.549
Asymp. Sig. (2-tailed)	.121
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Area

NPar Tests Mann-Whitney Test

Ranks

Area	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rata-rata eritema normal area 3	3	2.50	7.50
area 4	3	4.50	13.50
Total	6		

Test Statistics^b

	Rata-rata eritema normal
ann-Whitney U	1.500
/ilcoxon W	7.500
	-1.549
.symp. Sig. (2-tailed)	.121
:xact Sig. [2*(1-tailed ig.)]	.200 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Area

