

## Pengaruh Pemberian Ozon terhadap Waktu Penyembuhan Luka Insisi pada Tikus Putih Jantan Galur *Wistar*

<sup>1</sup>Ahmad Fauzi, <sup>2</sup> Sutadipura, <sup>3</sup>Tinni Rusmartini

<sup>1,2,3</sup>*Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung,*

*Jl. Hariangbangga No.20 Bandung 40116*

e-mail: <sup>1</sup>phawscumbag@gmail.com

**Abstrak.** Luka sering dapat terjadi di dalam perawatan bidang kedokteran khususnya pada saat pembedahan, sehingga menimbulkan ketidaknyamanan pasien. Tenaga kesehatan memanfaatkan metode perawatan alternatif dalam mempercepat waktu penyembuhan luka. Tujuan penelitian ini mengetahui pengaruh ozon dalam mempercepat waktu penyembuhan luka insisi pada punggung tikus *Wistar*. Penelitian ini ekperimental laboratorik menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Subjek penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus *Wistar* dibagi 5 kelompok yaitu kelompok akuades sebagai kontrol negatif, kelompok akuades diozonisasi diberikan 1 menit, 3 menit, 5 menit, dan kelompok *povidone iodine* 10% sebagai kontrol positif. Punggung tikus dibuat luka insisi sepanjang 2 cm kedalaman 2 mm, kemudian diberi berbagai perlakuan dan parameter yang diukur waktu menutupnya luka sampai sekitar 21 hari dan diukur dalam satuan hari. Data dianalisis menggunakan uji *one way ANOVA*  $\alpha=0,05$  dilanjutkan dengan Tukey HSD. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan sangat signifikan ( $p=0,00$ ) antara rerata waktu penyembuhan luka kelompok yang diberi akuades diozonisasi 3 menit (7,4 hari), akuades diozonisasi 1 menit (7,8 hari), akuades diozonisasi 5 menit (8 hari) dibandingkan kelompok akuades (18,2 hari) dan *povidone iodine* 10% (17,2 hari). Kesimpulan penelitian ini ozon mempercepat waktu proses penyembuhan luka pada punggung tikus *Wistar*.

**Kata kunci :** luka insisi, penyembuhan luka, ozon

### A. Pendahuluan

Tindakan perawatan dalam bidang kedokteran dapat berisiko menimbulkan luka, hal ini yang membuat ketidaknyamanan pasien. Luka dapat terjadi secara sengaja dan tidak sengaja, dan sering dianggap hal sepele tetapi luka dapat menimbulkan akibat yang berbahaya bila tidak di tangani. Luka merupakan rusaknya sebagian dari jaringan tubuh. Berdasarkan penyebabnya, luka dapat dibagi atas luka karena paparan zat kimia, luka termis, dan luka mekanis. Luka mekanis yang terjadi bervariasi dalam bentuk dan dalamnya sesuai dengan benda yang mengenainya. Terdapat tipe - tipe dari luka, diantaranya luka insisi, memar, lecet, gores, tembus, tusuk, dan luka bakar.<sup>1,2</sup>

Masyarakat biasanya mengobati luka menggunakan *povidone iodine* 10% sebagai antiseptik. Ozon juga memiliki kemampuan biologi yang khas sehingga banyak diteliti untuk digunakan dalam dunia medis, selain digunakan sebagai antiseptik, ozon memiliki efek antivirus, antijamur, dan antiprotozoa penggunaan ozon telah lama dikenal sebagai terapi alternatif yang potensial untuk pengobatan beberapa penyakit dan sebagai terapi tambahan dalam mempercepat proses pengobatan penyakit seperti kelainan vaskular, Diabetes Melitus.<sup>3</sup>

Ozon beroksidasi melibatkan banyak komponen darah, seperti lipoprotein, protein plasma, limfosit, monosit, granulasi, trombosit, dan eritrosit yang berperan dalam penyembuhan luka. Ozon memiliki manfaat yang sangat tinggi terhadap proses penyembuhan. Ozon berpotensi sebagai alternatif yang potensial untuk dijadikan agen yang membantu penyembuhan luka pada kulit. Ozon bereaksi pada setiap organ dan permukaan tempat berkontakannya (misalnya sel endotel). Dalam pertahanan terhadap oksidasi dan terjadinya ROS, berbagai sistem anti-oksidan diaktifkan dan terjadilah produksi enzim anti-oksidan.<sup>3</sup>

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui efek pemberian ozon dalam mempercepat waktu penyembuhan luka insisi pada tikus putih galur wistar yang diberi ozon selama 1 menit, 3 menit, 5 menit, di bandingkan dengan povidone iodine 10% dan hanya dengan aquades steril.

Manfaat dalam penelitian ini ditujukan untuk praktisi kesehatan agar dapat menambah pengetahuan tentang pengaruh ozon terhadap waktu penyembuhan luka pada jaringan kulit dan memberikan informasi ilmiah dalam bidang farmakologi mengenai pemberian terapi ozon sebagai alternatif dalam penyembuhan luka pada jaringan kulit dan untuk memberikan informasi alternatif baik kepada masyarakat umum maupun dalam penggunaan ozon dan lama pemaparannya dalam mempercepat waktu penyembuhan luka pada jaringan kulit.

## B. Landasan Teori

Kulit yang menutupi salah satu organ terbesar yaitu sekitar 16% dari seluruh berat badan tubuh. Kulit mempunyai dua lapisan utama yaitu lapisan epitel permukaan atau yang disebut juga *epidermis* yang berasal dari ektoderm dan lapisan ikat dibawahnya yaitu disebut *dermis*. Kulit menurut lapisannya terdiri atas dua golongan yaitu kulit tebal dan kulit tipis.<sup>4</sup>

Luka adalah hilangnya atau rusaknya sebagian jaringan tubuh yang dapat disebabkan oleh trauma benda tajam atau tumpul, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik, atau gigitan hewan.<sup>2</sup>

Proses terjadi pada jaringan yang rusak terbagi menjadi tiga fase, yaitu fase inflamasi, proliferasi, dan remodelling jaringan. Luka dikatakan sembuh jika terjadi kontinuitas lapisan kulit dan kekuatan jaringan parut mampu atau tidak mengganggu untuk melakukan aktifitas normal. Meskipun proses penyembuhan luka sama bagi setiap penderita, namun hasil yang dicapai tergantung pada konsisi biologis masing-masing individu, lokasi serta luasnya luka. Kondisi seperti kekurangan nutrisi, infeksi dan trauma hebat dapat menyebabkan terlambatnya proses penyembuhan luka.<sup>2,6</sup>

Ozon (O<sub>3</sub>) adalah gas yang secara alami terdapat di atmosfer bumi, memiliki bau yang spesifik dan kuat, dan merupakan bentuk alotropik dari oksigen. Beberapa literatur menyebutkan saat ini diketahui bahwa ozon dapat larut dalam plasma atau air atau serum atau salin fisiologis dan menghasilkan ROS (radical oxygen species). Lipid yang ada di plasma menyerupai yang ada di lipoprotein, mengalami peroksidasi yang prosesnya tergantung pada dosis ozon. Produksi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (yang berkaitan dengan ozon) dikatakan penting dalam mengaktivasi tubuh baik secara biokimia maupun imunologis. Ozon menginduksi sitokin (TNF-alfa, IFN-gamma dan IL- 2) ketika darah secara langsung terpapar ozon. Hal ini terjadi secara konsisten walaupun sedikit.<sup>3</sup>

## C. Metode

Penelitian ini menggunakan 30 tikus putih jantan galur *Wistar*. Tikus yang akan diteliti berumur 2 - 3 bulan dan berat badan 200 – 250 gram, Besar sampel per kelompok perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dihitung dengan rumus Federrer dan akan di bagi menjadi 5 kelompok sehingga menjadi 6 per tiap kelompok.

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik secara *in vivo* pada tikus putih *Wistar* jantan. Penelitian ini diawali dengan proses mengurus perizinan kepada pihak laboratorium di Farmakologi dan Terapi Eykman Unpad untuk melakukan penelitian

terhadap tikus *Wistar*, Kemudian dilakukan pengukuran terhadap 30 ekor tikus yang akan di teliti untuk melihat kecocokan antara kriteria inklusi dan eklusi.

Dilakukan pemisahan menjadi 5 kelompok tikus masing-masing berjumlah 6 tikus yang akan di lakukan pembuatan luka di bagian punggung, kelompok akan terbagi menjadi 5 yaitu, kelompok 1 sebagai kontrol negatif dimana luka akan di irigasi menggunakan akuades steril, Kelompok 2 sebagai kontrol positif dimana luka akan di berikan *povidone Iodine* 10%, Kelompok 3 diberikan akuades steril yang telah di ozonisasi selama 1 menit, Kelompok 4 diberikan akuades steril yang telah di ozonisasi selama 3 menit, Kelompok 5 diberikan akuades steril yang telah di ozonisasi selama 5 menit. Untuk masing-masing kelompok 3, 4, dan 5 memiliki kandungan dosis ozon sebesar 50 µg/ml akuades dan diberikan secara irigasi. Pembuatan akuades yang di ozonisasi menggunakan Generator Ozon 0.4 gr/ ml yang akan dilarutkan ke 4 liter akuades steril selama 30 menit dengan tujuan untuk mengurangi kontaminasi air dari zat lain akuades di simpan di wadah gelas dan di alirkan ozon dari generator dengan sistem aerasi.

#### D. Hasil Penelitian

Penelitian mengenai pengaruh ozon dalam mempercepat waktu penyembuhan luka insisi pada punggung telah dilakukan terhadap 30 ekor tikus *Wistar* jantan. Hasil penelitian pada kelompok yang diberikan akuades steril/kontrol negatif terdapat 1 ekor yang mati pada hari ke-3. Hasil perhitungan jumlah sampel per kelompok yaitu 5 ekor tikus, maka dalam menganalisa hasil penelitian hanya akan menghitung data dari 5 ekor tikus per kelompok.

**Tabel 1 Hasil Data Penelitian**

Pada Tabel 1 menunjukkan rata-rata waktu penyembuhan luka tiap kelompok perlakuan yang dihitung dalam hari, memperlihatkan pada perlakuan menggunakan ozon 3 menit memberikan waktu penyembuhan luka paling cepat yaitu 7,4 hari.

Tikus	Waktu (hari)				
	Kel. I	Kel. II	Kel. III	Kel. IV	Kel. V
1	18	16	8	7	8
2	18	17	9	7	8
3	17	17	8	8	8
4	19	18	7	8	7
5	19	18	7	7	9
Rerata	18,2	17,2	7,8	7,4	8

Keterangan

Kel. I : kelompok yang diberikan akuades steril (kontrol negatif)

Kel. II : kelompok yang diberikan *povidone iodine* 10% (kontrol positif)

Kel. III : kelompok yang diberikan akuades steril diozonisasi selama 1 menit

Kel. IV : kelompok yang diberikan akuades steril diozonisasi selama 3 menit

Kel. V : kelompok yang diberikan akuades steril diozonisasi selama 5 menit

**Tabel 2 One Way Anova Test**

Kelompok	Mean ± standar dev.
----------	---------------------

<b>Akuades steril</b>	18,20 ± 0,836
<b><i>Povidone iodine</i> 10%</b>	17,20 ± 0,836
<b>Ozon 1 menit</b>	7,80 ± 0,836
<b>Ozon 3 menit</b>	7,40 ± 0,547
<b>Ozon 5 menit</b>	8,00 ± 0,707
<b><i>p-value</i></b>	0,000

Dari Tabel 2 terlihat bahwa *p-value* = 0,00 < 0,05 yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang sangat bermakna pada sepasang kelompok perlakuan sehingga terdapat perbedaan waktu yang dibutuhkan untuk proses menutupnya luka. Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda dilakukan *post hoc test* dengan menggunakan uji Tukey HSD.

**Tabel 3 Uji Tukey HSD**

		Oz 3'	Oz 1'	Oz 5'	PI	Akuades steril
		7,40	7,80	8,00	17,20	18,20
Oz 3'	7,40					
Oz 1'	7,80	NS				
Oz 5'	8,00	NS	NS			
PI	17,20	**	**	**		
Akuades steril	18,20	**	**	**	NS	

**Keterangan**

- \*\*): sangat signifikan/sangat bermakna ( $p < 0,01$ )
- \*) : signifikan/bermakna ( $p < 0,05$ )
- NS : *non significancy* ( tidak signifikan/bermakna)
- Oz-1 : akuades steril diozonisasi selama 1 menit
- Oz-3 : akuades steril diozonisasi selama 3 menit
- Oz-5 : akuades steril diozonisasi selama 5 menit
- PI : *povidone iodine* 10%

Berdasarkan hasil uji menggunakan Tukey HSD dengan  $\alpha = 0,05$  memberikan hasil yang menunjukkan adanya perbedaan lama waktu penyembuhan luka yang sangat bermakna ( $p < 0,01$ ). Terdapat perbedaan yang sangat bermakna antara kelompok akuades steril dengan akuades steril diozonisasi 1 menit, 3 menit, 5 menit sedangkan antara akuades steril dan *povidone iodine* 10% tidak bermakna. Kelompok perlakuan yang diberikan akuades steril diozonisasi 1 menit, 3 menit, dan 5 menit tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna, tetapi terdapat perbedaan yang sangat bermakna dengan *povidone iodine* 10%. Kelompok perlakuan yang diberikan akuades steril diozonisasi 1 menit, 3 menit, dan 5 menit memiliki potensi yang setara dalam mempersingkat waktu penyembuhan luka. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian akuades steril steril diozonisasi 1 menit, 3 menit, 5 menit dapat mempersingkat waktu penyembuhan luka.

**E. Pembahasan**

Hasil penelitian menunjukkan kelompok yang diberikan akuades steril yang diozonisasi dapat mempercepat proses penyembuhan luka. Pemberian terapi ozon dapat

mempercepat proses penyembuhan luka dibandingkan akuades steril dan *povidone iodine* 10 %, karena ozon memiliki efek antiseptik dan membantu suplai oksigen untuk memperbaiki respon vaskular, dan mempercepat proliferasi epitel baru dalam proses penyembuhan luka sedangkan *povidone iodine* 10% sebagai kontrol positif hanya memberikan efek antiseptik, aquades sebagai kontrol negatif hanya membersihkan luka saja namun tidak memiliki efek antiseptik sehingga pada tikus yang diteliti ditemukan adanya penyembuhan luka tidak sempurna dikarenakan infeksi. Penelitian ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Alvina (2009), menunjukkan bahwa ozon dapat mempercepat waktu proses penyembuhan luka menggunakan *suction cup*.

Proses penyembuhan merupakan proses seluler yang kompleks dan bertujuan untuk mengembalikan keutuhan jaringan beserta fungsinya. Proses penyembuhan luka melalui tiga fase, yaitu fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodeling untuk mencapai keadaan penyembuhan yang optimal. Proses ini dapat dipengaruhi banyak faktor diantaranya vaskularisasi dan tidak adanya infeksi. Bakteri dapat menyebabkan infeksi dan menghambat dalam waktu penyembuhan luka.<sup>12,19</sup>

Ozon dapat digunakan sebagai antiseptik, menginaktivasi bakteri, jamur, dan protozoa. Ozon mengganggu integritas kapsul sel bakteri melalui oksidasi fosfolipid dan lipoprotein, kemudian berpenetrasi ke dalam membran sel, bereaksi dengan sitoplasma dan mengubah bereaksi dengan substansi sitoplasma dan merubah *circular* DNA tertutup menjadi *circular* DNA terbuka, yang dapat mengurangi efisiensi proliferasi bakteri. Ozon dapat berpenetrasi ke kapsul sel bakteri, mempengaruhi secara langsung integritas *cytoplasmic*, dan mengganggu beberapa tingkat kompleksitas metabolik.<sup>4</sup>

Ozon setelah masuk ke dalam tubuh melalui darah akan terpecah menjadi O dan O<sub>2</sub>. Atom tunggal O yang berperan untuk membunuh mikroorganisme, sampah, toksin, di dalam tubuh sedangkan O<sub>2</sub> merupakan oksigen yang bermanfaat bagi kelangsungan hidup sel membantu mempercepat proses penyembuhan luka.<sup>4</sup>

Proses penyembuhan luka memiliki prinsip yang sama bagi setiap penderita (dalam hal ini tikus), namun hasil yang dicapai bervariasi tergantung pada kondisi biologis masing-masing individu, dan adanya faktor-faktor yang mempengaruhi proses penyembuhan luka. Hasil penelitian rerata waktu (hari) berdasarkan perhitungan statistik tidak ada perbedaan antara kelompok akuades steril diozonisasi 1 menit, kelompok akuades steril diozonisasi 3 menit dan kelompok akuades steril diozonisasi 5 menit, maka untuk penyembuhan luka dapat digunakan akuades steril diozonisasi yang paling singkat pemaparannya yaitu 1 menit. Pemaparan terapi ozon yang optimal pada penyembuhan luka dapat diberikan selama 1 menit, karena dengan pemaparan paling singkat telah dapat berperan sebagai antiseptik, memperbaiki vaskularisasi dan menginduksi sitokin sehingga mempercepat proses penyembuhan luka.

Produksi O<sub>3</sub> + H<sub>2</sub>O dilakukan dengan suhu ruangan, dengan tujuan tidak terjadi reaksi kimia antara O<sub>3</sub> dan H<sub>2</sub>O menjadi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + O<sub>2</sub>. Teknik yang digunakan pada pengikatan Ozon dengan H<sub>2</sub>O menggunakan teknik aerasi, yaitu dengan cara menghubungkan langsung selang dari generator ozon ke H<sub>2</sub>O sehingga didapat H<sub>2</sub>O + O<sub>3</sub>.

Kekurangan terapi ozon menggunakan H<sub>2</sub>O sebagai media untuk pemaparan yaitu, ozon tidak dapat bertahan lama karena sifat ozon yang berbentuk gas dan bisa bertahan sekitar 30 menit dengan media H<sub>2</sub>O.<sup>4</sup> Keuntungan pemaparan ozon menggunakan media H<sub>2</sub>O yaitu dapat digunakan sebagai irigasi untuk membersihkan luka, memberikan efek antiseptik serta memperbaiki perfusi jaringan sehingga luka cepat sembuh.

Produksi  $H_2O + O_3$  (yang berkaitan dengan ozon) dikatakan penting dalam mengaktivasi tubuh baik secara biokimia maupun imunologis. Ozon menginduksi sitokin (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  dan IL-2) ketika darah secara langsung terpapar ozon, hal ini terjadi secara konsisten walaupun sedikit sehingga sesuai dengan hasil penelitian pemaparan yang paling singkat yaitu 1 menit. Ozon menginduksi sitokin paling utama berperan penting dalam fase inflamasi merupakan sumber utama faktor penyembuhan berupa *growth factor* dan sitokin. Sitokin berfungsi sebagai monitor dalam setiap fase penyembuhan luka, *sitokin* dan *growth factor* melepaskan *vascular endothelial growth factor (VEGF)*, *TGF- $\alpha$* , *TGF- $\beta$ 1*, *PDGF*, *insulin growth factor (IGF)-I* dan *II*, *TNF- $\alpha$* , *IL-1*, *epithelial growth factor (EGF)*, laktat dan interferon di lokasi luka bertujuan untuk mengeradikasi bakteri, jaringan mati dan membantu proliferasi sel baru, sehingga mempercepat proses penyembuhan luka.

#### F. Simpulan dan Saran

Rerata waktu penyembuhan luka pada kelompok akuades sebagai kontrol negatif adalah 18,2 hari. Rerata waktu penyembuhan luka pada kelompok *povidone iodine* 10% sebagai kontrol positif adalah 17,2. Tidak ada perbedaan kelompok perlakuan ozon dalam penyembuhan luka. Waktu penyembuhan kelompok perlakuan ozon lebih cepat sangat bermakna dibandingkan dengan *povidone iodine* 10%. Waktu penyembuhan kelompok perlakuan ozon lebih cepat sangat bermakna dibandingkan dengan akuades.

Disarankan ke peneliti selanjutnya mengenai dosis yang terkandung dalam akuades steril yang telah di ozonisasi dan unsur tepat dari kandungannya. Disarankan ke peneliti selanjutnya mengenai cara pemberian ozon yang berbeda sebagai proses penyembuhan luka. Disarankan ke peneliti selanjutnya mengenai terapi ozon untuk penyembuhan berbagai jenis luka.

#### Daftar Pustaka

- Dewiyanti A, Ratnawati H, Puradisastira S. Perbandingan Ozon, Getah Jarak Cina dan Povidone iodine 10% Terhadap Waktu Penyembuhan Luka Pada Mencit Betina Galur Swiss Webster. *Jurnal Kedokteran Maranatha* 2009;8(2):132-8.
- Sjamsuhidajat, R., Wim de Jong, 2005. *Buku Ajar Ilmu Bedah edisi 2*. Jakarta: ECG. Hal: 66-88
- Sastroasmoro S. *Terapi Ozon*. HTA Indonesia. 2004.p. 1-29.
- Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. *Basic Histology*. 11<sup>th</sup> ed. London: Mc Graw Hill. 2010.p. 360 - 372.
- Brunnicardi FC, Andersen DK, Billiar TR, Dunn DL, Hunter JG, Pollock RE. *Schwartz's Principles of surgery*. New York. Mc Graw Hill Medical. 2004.p. 223-229.