

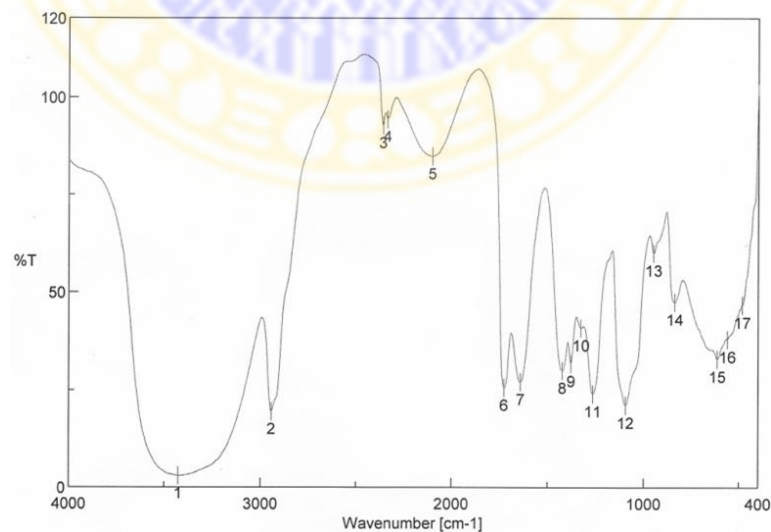
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada bab ini akan disajikan hasil penelitian dan pembahasan yang didapatkan dari uji FT-IR, uji antibakteri, dan observasi patologi anatomi (*in vivo*) untuk masing-masing variasi konsentrasi hidrogel. Hasil penelitian meliputi gambaran kurva yang didapat dari uji FT-IR, luasan zona inhibisi yang didapat dari uji antibakteri, gambaran tingkat kemerahan, edema dan adanya cairan saat fase inflamasi, serta tingkat granulasi dan keadaan tepi luka saat fase proliferasi pada proses penyembuhan luka hewan coba.

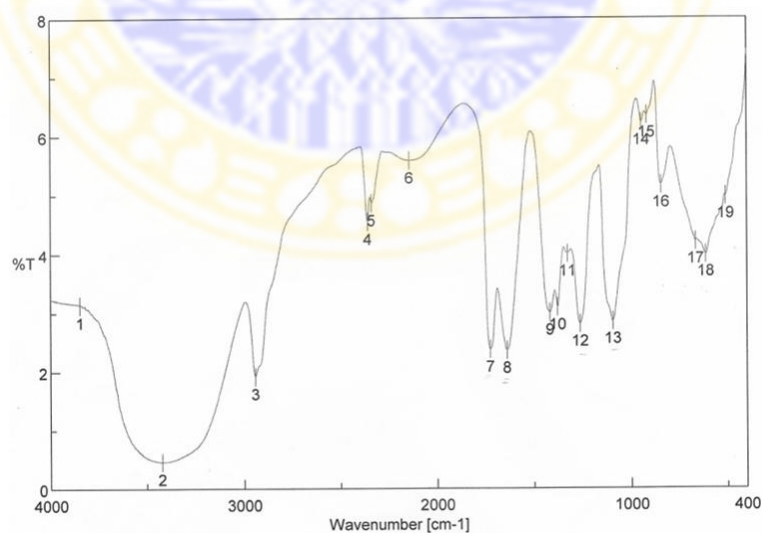
4.1 Hasil Uji FT-IR

Interaksi antara alginat dan PVA dalam paduan dapat ditunjukkan dari ikatan hidrogen yang terdapat pada hasil FT-IR pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Spektrum FT-IR alginat-PVA

Gugus karbonil (C=O) alginat ditunjukkan pada bilangan gelombang 1635 cm^{-1} dan gugus hidroksil (-OH) pada bilangan gelombang 3457 cm^{-1} . Gugus karbonil (C=O) PVA ditunjukkan pada bilangan gelombang 1635 cm^{-1} dan gugus hidroksil (-OH) pada bilangan gelombang 3444 cm^{-1} (Shalumon *et al.*, 2011). Spektrum FT-IR pada Gambar 4.1 merupakan spektrum paduan alginat dan PVA. Paduan alginat-PVA yang diuji mempunyai serapan pada panjang gelombang tertentu dan dari gambar tersebut diketahui gugus karbonil (C=O) alginat-PVA ditunjukkan pada bilangan gelombang 1640 cm^{-1} dan gugus hidroksil (-OH) pada bilangan gelombang 3426 cm^{-1} . Gugus hidroksil yang dihasilkan relatif luas akibat beberapa ikatan antarmolekul hidrogen alginat dan PVA. Dengan demikian paduan hidrogel tersebut positif menunjuk kepada struktur kimia alginat dan PVA. Sedangkan spektrum FT-IR hidrogel alginat-PVA-ZnO nano ditunjukkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Spektrum FT-IR alginat-PVA-ZnO 0,75%

Gambar 4.2 merupakan spektrum FT-IR hidrogel alginat-PVA-ZnO nano 0,75% yang dipilih untuk mewakili uji FT-IR hidrogel dengan berbagai variasi konsentrasi ZnO nano yang dibuat. Gugus karbonil (C=O) alginat-PVA ditunjukkan pada bilangan gelombang 1639 cm^{-1} dan gugus hidroksil (-OH) pada bilangan gelombang 3423 cm^{-1} . Sedangkan ZnO ditunjukkan pada bilangan gelombang 560 cm^{-1} (Shalumon *et al.*, 2011), pada Gambar 4.2 keberadaan ZnO ditunjukkan pada bilangan gelombang 613 cm^{-1} . Terdapat sedikit pergeseran bilangan gelombang yang menunjukkan bahwa ZnO telah berikatan dengan senyawa lain dalam hidrogel. Dengan demikian paduan hidrogel tersebut positif menunjuk kepada struktur kimia alginat, PVA, dan ZnO nano.

4.2 Hasil Uji Antibakteri

4.2.1 Metode Cakram Kertas (*Disc Diffusion Method*)

Hasil uji daya hambat hidrogel alginat-PVA-ZnO nano dengan metode cakram kertas yang ditandai dengan diameter zona inhibisi pada kultur mikroba uji *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Data Diameter Zona Inhibisi Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada Variasi Konsentrasi ZnO

Mikroba	Ulangan	Alginat - PVA - ZnO nano konsentrasi -			
		0%	0,25%	0,50%	0,75%
S. aureus		Diameter Zona Inhibisi (mm)			
	1	0	8,95	14,85	15,2
	2	0	5,7	7,5	10,35
	3	0	9,2	7,45	10,05
	Rerata	0	7,95	9,93	11,87
	SD	0	1,95	4,26	2,89

Keterangan : 0% = hidrogel alginat-PVA tanpa ZnO nano

SD : simpangan deviasi

Hasil uji cakram kertas menunjukkan bahwa hidrogel alginat-PVA tanpa ZnO nano sebagai kontrol tidak menunjukkan sifat antibakteri karena tidak terbentuk *halo* atau zona inhibisi. Sedangkan uji antibakteri hidrogel alginat-PVA-ZnO nano pada mikroba uji *Staphylococcus aureus* menggunakan metode cakram kertas menunjukkan hasil positif yang berarti terdapat aktivitas penghambatan pada pertumbuhan mikroba uji. Aktivitas penghambatan ditunjukkan dengan terbentuknya zona inhibisi di sekitar cakram kertas (*paper disc*) yang telah diinjeksi hidrogel dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam.

Rata-rata diameter zona inhibisi hidrogel alginat-PVA-ZnO nano 0,25% sebesar $(7,95 \pm 1,95)$ mm, rata-rata diameter zona inhibisi hidrogel alginat-PVA-ZnO nano 0,5% sebesar $(9,93 \pm 4,26)$ mm, rata-rata diameter zona inhibisi hidrogel alginat-PVA-ZnO nano 0,75% sebesar $(11,87 \pm 2,89)$ mm. Hasil pengamatan zona inhibisi secara pengukuran pada uji cakram kertas diperkuat menggunakan uji statistik *One-Way ANOVA* dengan taraf kemaknaan $\alpha = 0.05$. Sebelum dilakukan uji statistik seluruh kelompok, sebelumnya dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas untuk menentukan kenormalan dan keseragaman hasil penelitian pada setiap kelompok. Nilai p yang didapat dari uji normalitas adalah sebesar > 0.150 , karena nilai $p > 0.05$ artinya data berdistribusi normal. Nilai p yang didapat dari uji homogenitas adalah sebesar 0.623, karena nilai $p > 0.05$ artinya data bervariasi homogen. Berdasarkan uji *One-Way ANOVA* didapatkan nilai p sebesar 0.004 yang berarti $p < 0.05$ sehingga hipotesis dapat diterima, artinya ada pengaruh yang signifikan dari variabel perlakuan yang diberikan.

4.2.2 Metode Pengenceran dalam Tabung (*Tube Dilution Method*)

Konsentrasi ZnO nano dalam hidrogel yang diuji aktivitas antibakteri pada *tube dilution method* sama dengan konsentrasi yang diujikan pada metode cakram kertas, yaitu 0,25%, 0,5%, dan 0,75%. Larutan hidrogel sebanyak 1 ml dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan media MHB 1 ml dan 0,1 ml mikroba uji kemudian dihomogenkan dengan *vortex*. Pengamatan setelah 24 jam inkubasi pada suhu ruang sulit dilakukan karena perbedaan kekeruhan antar sampel tidak begitu terlihat. Sehingga pengamatan dilakukan secara kuantitatif dimana masing-masing konsentrasi dicawankan dan dihitung jumlah koloni yang terbentuk dari kultur uji setelah inkubasi selama 24 jam.

Tingkat kekeruhan masing-masing kultur uji dengan menggunakan metode pengenceran dalam tabung dapat dilihat pada Tabel 4.2. Sedangkan penurunan jumlah koloni setelah dicawankan dapat dilihat pada Tabel 4.3 dan Gambar 4.3.

Tabel 4.2 Data Tingkat Kekeruhan pada Kultur Uji Dilusi *Staphylococcus aureus* dengan Penambahan Hidrogel Berbagai Variasi Konsentrasi dan Inkubasi Selama 24 jam

Sampel	Tingkat Kekeruhan
Kontrol	Kuning kehijauan (++)
A	Kuning (+)
B	Kuning
C	Kuning

Keterangan :

Kontrol = Suspensi Mikroba Uji

A = hidrogel alginat-PVA-ZnO nano 0,25%

B = hidrogel alginat-PVA-ZnO nano 0,5%

C = hidrogel alginat-PVA-ZnO nano 0,75%

(+) = Sedikit Keruh

(++) = Semakin Keruh

Tabel 4.3 Data Jumlah Koloni Bakteri pada Cawan Petri Hasil Kultur Uji Dilusi *Staphylococcus aureus* dengan Penambahan Hidrogel Berbagai Variasi Konsentrasi dan Inkubasi Selama 24 jam

Sampel	Jumlah Koloni (titik)
Kontrol	Menyebar
A	10
B	1
C	0

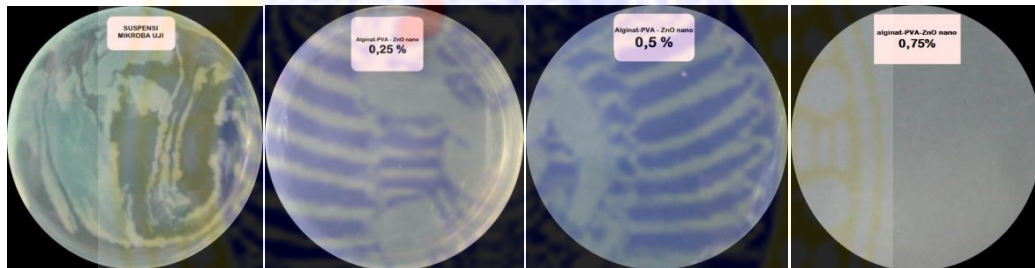
Keterangan :

Kontrol = Suspensi Mikroba Uji

A = hidrogel alginat-PVA-ZnO nano 0,25%

B = hidrogel alginat-PVA-ZnO nano 0,5%

C = hidrogel alginat-PVA-ZnO nano 0,75%



Gambar 4.3 Koloni Bakteri pada Cawan Petri Hasil Kultur Uji Dilusi *Staphylococcus aureus* dengan Penambahan Hidrogel Berbagai Variasi Konsentrasi dan Inkubasi Selama 24 jam

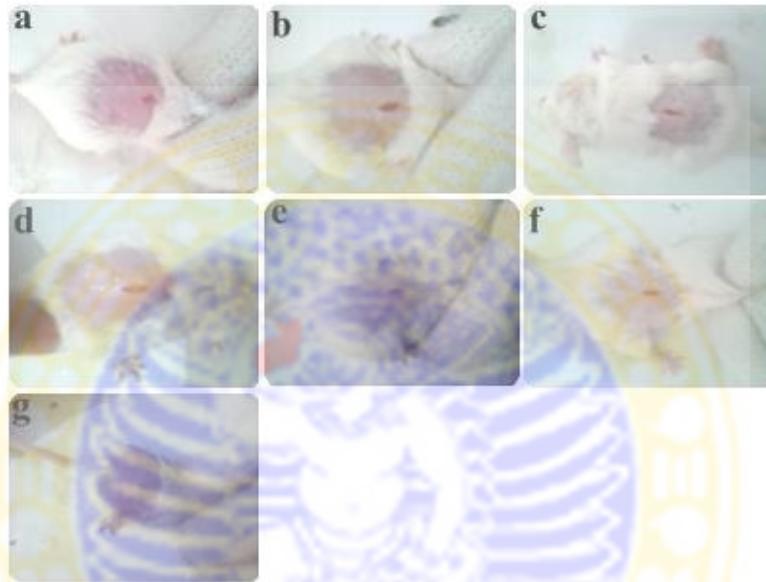
4.3 Hasil Uji *In Vivo*

4.3.1 Hasil Pengamatan Patologi Anatomi

Hasil penelitian ini menjelaskan kondisi luka insisi pada hari ke-3, ke-5, dan ke-7 karena pada hari tersebut secara umum terjadi fase penyembuhan luka. Selain kondisi luka, dijelaskan pula mengenai perbandingan fase inflamasi (kemerahan, edema, dan cairan luka) serta fase proliferasi (granulasi dan tepi luka) pada setiap kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol (luka insisi diberi kasa steril + NaCl 0,9%), P₁ (luka insisi diberi hidrogel alginat – PVA – ZnO

nano 0,25%), P₂ (luka insisi diberi hidrogel alginat – PVA – ZnO nano 0,5%), dan P₃ (luka insisi diberi hidrogel alginat – PVA – ZnO nano 0,75%).

4.3.1.1 Penyembuhan Luka Mencit Kelompok Kontrol Negatif (Luka Insisi Diberi Kasa Steril + NaCl 0,9%)

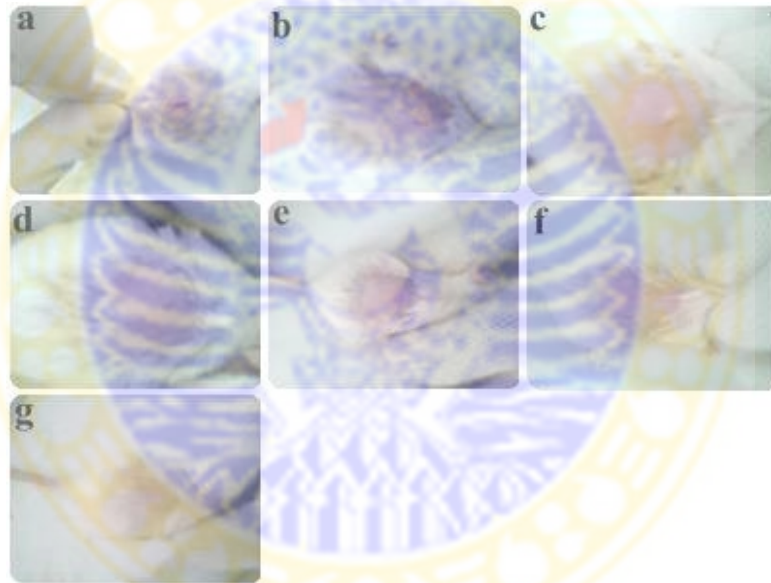


Gambar 4.4 Kondisi luka mencit kelompok kontrol. (a) hari ke-1, (b) hari ke-2, (c) hari ke-3, (d) hari ke-4, (e) hari ke-5, (f) hari ke-6, dan (g) hari ke-7

Gambar 4.4 menunjukkan proses penyembuhan luka pada kelompok kontrol negatif pada hari ke-1 sampai hari ke-7. Gambar 4.4 (c) menunjukkan kondisi luka pada hari ke-3, pada tepi luka masih terdapat kemerahan, tidak terjadi edema di sekeliling luka, terdapat cairan pada luka, jaringan granulasi tidak terlihat pada luka, dan luka masih terbuka. Kondisi luka pada hari ke-5 ditunjukkan pada Gambar 4.4 (e), kondisi luka tidak menunjukkan penyembuhan yang signifikan karena masih terdapat kemerahan, tidak terjadi edema di sekeliling luka, masih terdapat cairan pada luka, jaringan granulasi tidak terlihat

pada luka, dan luka masih terbuka. Kondisi luka pada hari ke-7 pada Gambar 4.4 (g) mulai menunjukkan tanda awal penyembuhan ditandai dengan sudah tidak ada kemerahan pada tepi luka, tidak terdapat edema di sekeliling luka, sudah tidak terdapat cairan pada luka, terdapat sedikit jaringan granulasi pada sebagian luka, dan tepi luka menyatu sebagian (masih terbuka sebagian).

4.3.1.2 Penyembuhan Luka Mencit Kelompok P₁ (Luka Insisi Diberi Hidrogel Alginat – PVA – Zn Nano 0,25%)

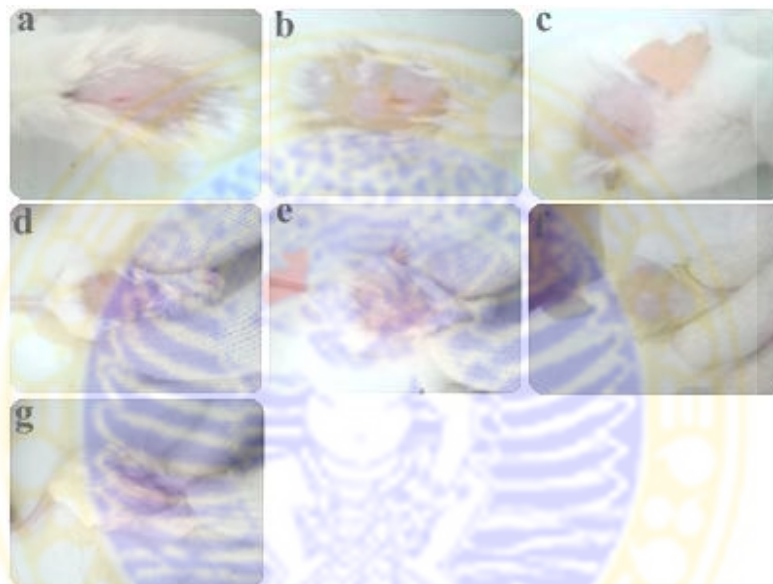


Gambar 4.5 Kondisi luka mencit kelompok P₁. (a) hari ke-1, (b) hari ke-2, (c) hari ke-3, (d) hari ke-4, (e) hari ke-5, (f) hari ke-6, dan (g) hari ke-7

Gambar 4.5 menunjukkan proses penyembuhan luka pada kelompok P₁ pada hari ke-1 sampai hari ke-7. Gambar 4.5 (c) menunjukkan kondisi luka pada hari ke-3, pada tepi luka tidak terdapat kemerahan, tidak terjadi edema di sekeliling luka, tidak terdapat cairan pada luka, jaringan granulasi terlihat pada seluruh bagian luka, dan luka sudah tertutup sempurna. Penyembuhan luka pada

kelompok P₁ merupakan penyembuhan tercepat diantara semua kelompok, penyembuhan sempurna terjadi pada hari ke-3, dan pada hari ke-7 hampir seluruh kulit mencit yang dicukur untuk perlukaan sudah mulai tumbuh bulu.

4.3.1.3 Penyembuhan Luka Mencit Kelompok P₂ (Luka Insisi Diberi Hidrogel Alginat – PVA – Zno Nano 0,5%)

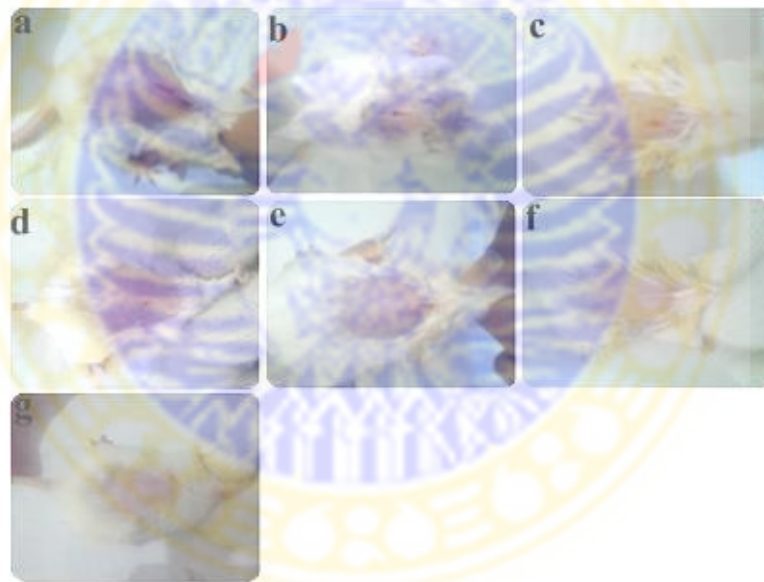


Gambar 4.6 Kondisi luka mencit kelompok P₂. (a) hari ke-1, (b) hari ke-2, (c) hari ke-3, (d) hari ke-4, (e) hari ke-5, (f) hari ke-6, dan (g) hari ke-7

Gambar 4.6 menunjukkan proses penyembuhan luka pada kelompok P₂ pada hari ke-1 sampai hari ke-7. Gambar 4.6 (c) menunjukkan kondisi luka pada hari ke-3, pada tepi luka kemerahan sudah memudar, tidak terjadi edema di sekeliling luka, tidak terdapat cairan pada luka, jaringan granulasi terlihat pada sebagian besar bagian luka, dan sebagian besar luka sudah tertutup. Gambar 4.6 (e) dan (g) menunjukkan kondisi luka pada hari ke-5 dan ke-7, nampak bahwa luka pada mencit telah sembuh ditandai dengan tidak terdapat kemerahan pada

tepi luka, tidak terjadi edema di sekeliling luka, tidak terdapat cairan pada luka, jaringan granulasi terlihat pada seluruh bagian luka, dan luka sudah tertutup sempurna. Penyembuhan luka pada kelompok P₂ merupakan penyembuhan tercepat kedua setelah kelompok P₁. Penyembuhan sempurna terjadi pada hari ke-4, pada hari ke-7 sebagian kulit mencit yang dicukur untuk perlukaan sudah mulai tumbuh bulu.

4.3.1.4 Penyembuhan Luka Mencit Kelompok P₃ (Luka Insisi Diberi Hidrogel Alginat – PVA – Zno Nano 0,75%)



Gambar 4.7 Kondisi luka mencit kelompok P₃. (a) hari ke-1, (b) hari ke-2, (c) hari ke-3, (d) hari ke-4, (e) hari ke-5, (f) hari ke-6, dan (g) hari ke-7

Gambar 4.7 menunjukkan proses penyembuhan luka pada kelompok P₃ pada hari ke-1 sampai hari ke-7. Gambar 4.7 (c) menunjukkan kondisi luka pada hari ke-3, pada tepi luka masih terdapat sedikit kemerahan, tidak terjadi edema di sekeliling luka, tidak terdapat cairan pada luka, jaringan granulasi terlihat pada

sebagian besar bagian luka, dan sebagian luka sudah tertutup. Gambar 4.7 (e) dan (g) menunjukkan kondisi luka pada hari ke-5 dan ke-7, nampak bahwa luka pada mencit telah sembuh ditandai dengan tidak terdapat kemerahan pada tepi luka, tidak terjadi edema di sekeliling luka, tidak terdapat cairan pada luka, jaringan granulasi terlihat pada seluruh bagian luka, dan luka sudah tertutup sempurna. Penyembuhan luka pada kelompok P₃ merupakan penyembuhan terlama diantara kelompok perlakuan. Penyembuhan sempurna kelompok P₃ terjadi pada hari ke-5, pada hari ke-7 sebagian kecil kulit mencit yang dicukur untuk perlakuan sudah mulai tumbuh bulu.

Fase inflamasi pada proses penyembuhan luka ditandai dengan adanya kemerahan pada tepi luka, edema dan cairan luka. Sedangkan pada fase proliferasi ditandai dengan adanya granulasi dan penyatuan tepi luka. Data yang diperoleh dari tanda fase inflamasi dan tanda fase proliferasi setiap kelompok pada hari ke-3, ke-5, dan ke-7 setelah diberi luka insisi dicatat pada lembar observasi. Hasil pengamatan patologi anatomi diperkuat dengan uji statistik *Two-Way ANOVA* dengan taraf kemaknaan $\alpha = 0.05$. Sumber keragaman (*source of variability*) pada analisis *One-Way ANOVA* hanya ada satu dalam variabel terikat (dependen variabel), yakni kelompok dalam populasi yang sedang dikaji. Terkadang identifikasi adanya dua faktor yang menyebabkan perbedaan dalam variabel terikat juga diperlukan. Pada uji *Two-Way ANOVA* terdapat dua atau lebih variabel independen, sedangkan pada penelitian ini variabelnya adalah perlakuan dan hari.

Tabel 4.4 Hasil Uji Statistik *Two-Way ANOVA* untuk Pengamatan Patologi Anatomi

Fase	Tanda	<i>p value</i>			
		normalitas	homogenitas	variabel	
				perlakuan	hari
Inflamasi	Kemerahan	> 0.150	0.638	0.000	0.002
	Cairan luka	> 0.150	0.964	0.000	0.007
Proliferasi	Granulasi	> 0.150	0.966	0.000	0.013
	Tepi Luka	> 0.150	0.964	0.000	0.007

Sebelum dilakukan uji statistik seluruh kelompok, sebelumnya dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas untuk menentukan kenormalan dan keseragaman hasil penelitian pada setiap kelompok dan hasilnya tertera pada Tabel 4.4. Nilai p yang didapat dari uji normalitas seluruh kelompok adalah sebesar > 0.150 , karena nilai $p > 0.05$ artinya data berdistribusi normal. Nilai p yang didapat dari uji homogenitas bervariasi akan tetapi masih > 0.05 , nilai $p > 0.05$ artinya data bervariasi homogen. Berdasarkan uji *Two Way ANOVA* didapatkan nilai p untuk perlakuan pada seluruh kelompok sebesar 0.000 dan p untuk hari pada seluruh kelompok bervariasi akan tetapi masih < 0.05 , nilai $p < 0.05$ sehingga hipotesis dapat diterima, artinya ada pengaruh yang signifikan dari variabel perlakuan dan hari yang diberikan.

Pada penelitian ini tidak dapat dilakukan uji statistik untuk respon edema karena mulai hari ke-3, ke-5, sampai hari ke-7 tidak terjadi edema sehingga tidak ada nilai yang dimunculkan. Penyebab edema adalah meningkatnya permeabilitas pembuluh darah pada daerah peradangan dan mengakibatkan kebocoran protein (Price dan Wilson, 2006). Berdasarkan penelitian, tidak ada edema pada semua kelompok.

4.4 Pembahasan

Pertimbangan dalam menutup dan membalut luka sangat tergantung pada penilaian kondisi luka. Penutup luka selain berfungsi untuk melindungi jaringan baru, juga diharapkan dapat mempercepat proses penyembuhan luka. Berdasarkan cara pembuatan, penutup luka dibagi menjadi produk tenun (kasa perban) dan produk *non-woven* (lembaran, membran, dan komposit), sedangkan berdasarkan cara penggunaan dibagi menjadi *primary dressing* (kontak dengan luka) dan *secondary dressing* (digunakan setelah pembalut utama). *Primary dressing* harus memiliki kemampuan menyerap cairan luka, menjaga suhu sekitar luka, mampu mengatur uap air dan gas yang keluar dari luka, sehingga luka menjadi lembab dan penyembuhan menjadi lebih cepat (Edward *et al.*, 2006).

Pembalut luka primer umumnya merupakan produk komposit yang dilapisi oleh lapisan tipis yang berfungsi sebagai pelindung luka agar mudah dilepaskan sehingga tidak merusak jaringan baru. Produk yang sesuai dengan persyaratan tersebut salah satunya adalah alginat karena mempunyai daya absorpsi yang tinggi, dapat menjaga keseimbangan lembab di sekitar luka, elastis, non-toksik, non-alergenik, non-karsinogenik, biodegradabel dan biokompatibel (Heenan, 2007).

Viskositas larutan alginat akan bertambah setelah disimpan selama satu hari, hal ini terjadi karena larutan polisakarida dalam air akan membentuk hidrokoloid yang bersifat non-Newtonian yang pseudoplastis, sehingga untuk mendapatkan viskositas tinggi dan rata diperlukan waktu satu hari (Mathur *and* Paras, 2006). Pada penelitian ini, untuk mendapatkan hidrogel yang siap

digunakan, dilakukan pengeringan selama 3 hari untuk memastikan hidrogel telah memadat.

Membran alginat akan membentuk suatu gel apabila kontak dengan luka yang basah, karena terjadinya pertukaran ion kalsium dari dalam bahan tersebut dengan ion natrium dari cairan luka (Mury *et al.*, 2005). Pada tahun 1998, Shogren *et al.* menambahkan PVA untuk meningkatkan kekuatan, fleksibilitas, dan ketahanan *foam* berbasis pati. Hal itu dilakukan karena *foam* berbasis pati memiliki sifat yang rapuh dan sensitif terhadap air sehingga membutuhkan perlakuan lebih lanjut. Penambahan PVA tidak mempengaruhi biodegradabilitas *foam* karena PVA adalah bahan plastik yang mampu terurai di alam (Lee *et al.*, 2008).

Alginat merupakan salah satu kelompok polisakarida yang juga memiliki sifat yang rapuh dan sensitif terhadap air sehingga pada penelitian ini alginat dipadukan dengan PVA agar suasana di sekitar luka tetap lembab saat alginat mengabsorpsi cairan luka, serta sifat mekanik tetap terjaga oleh adanya PVA meskipun produk akhir yang dihasilkan nantinya akan digunakan sebagai penutup luka yang relatif tidak memerlukan kekuatan tarik yang tinggi.

Dari penelitian terdahulu diketahui membran alginat bersifat antibakteri, tetapi tidak anti jamur dan bukan merupakan antibiotik (Theresia, 2009). Dalam upaya memperbaiki kualitas produk, maka ditambahkan ZnO berupa antibiotik yang diharapkan dapat mengobati luka yang terinfeksi, baik oleh bakteri Gram-positif maupun negatif. Sifat resistensi terhadap bakteri dibuktikan dengan metode cakram kertas dan metode dilusi menggunakan bakteri patogen, yaitu *S. aureus*.

Pemilihan terhadap bakteri tersebut antara lain adalah karena banyak terdapat di sekeliling kita dan menyebabkan berbagai penyakit, antara lain infeksi pada jaringan kulit (Schlegel dan Hans, 1994). Hasil uji cakram kertas menunjukkan bahwa bakteri tidak dapat tumbuh ditandai dengan adanya zona inhibisi di sekitar cakram hidrogel alginat-PVA yang mengandung ZnO nano. Hidrogel dengan persen konsentrasi ZnO yang berbeda menunjukkan aktivitas antibakteri yang berbeda pula. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ZnO yang diberikan, semakin besar diameter zona inhibisi.

Sifat antibakteri dari hidrogel berasal dari adanya ZnO nano. Zona inhibisi yang terbentuk pada uji cakram kertas diakibatkan oleh kemampuan ZnO berukuran nano yang mudah berdifusi dari cakram kertas menuju media agar yang berpori, metode ini juga dikenal dengan *disc diffusion method*. Hal tersebut berbeda dengan alginat dan PVA yang berukuran besar karena merupakan polimer (rantai panjang), maka dari itu keduanya tidak dapat berdifusi. Besar zona inhibisi dipengaruhi oleh konsentrasi ZnO nano, semakin banyak ZnO yang terdapat pada cakram kertas, maka semakin banyak pula ZnO nano yang berdifusi sehingga menghasilkan diameter zona inhibisi yang semakin besar. Bentuk dari zona inhibisi yang dihasilkan tergantung dari bentuk cakram yang digunakan, karena pada penelitian ini cakram yang digunakan berbentuk lingkaran, maka zona inhibisi yang dihasilkan juga berbentuk lingkaran karena ZnO dalam hidrogel berdifusi secara merata pada segala arah. Pada penelitian ini terdapat kesalahan saat mencampurkan media dengan suspensi bakteri, akibatnya pertumbuhan bakteri tidak homogen meskipun zona inhibisi (*halo*) dapat diamati.

Salah satu cara untuk mengetahui pengaruh aktivitas antibakteri ZnO nano terhadap *S. aureus* adalah dengan cara uji dilusi (*test tube serial dilution method*). Penelitian menggunakan metode dilusi dilakukan untuk menentukan nilai MIC dan MBC. Pengamatan dilakukan dengan melihat perubahan kekeruhan pada tabung uji yang telah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Konsentrasi ZnO terkecil yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dari hasil pengamatan adalah 0,25 %, akan tetapi perbedaan antar hidrogel dengan beberapa variasi konsentrasi ZnO susah dibedakan.

Dilusi merupakan suatu proses mengurangi densitas (kekentalan) suatu bahan. Pada uji dilusi, OD bakteri dalam campuran seharusnya dihitung pada saat sebelum dan setelah inkubasi, sehingga didapatkan nilai penurunan densitasnya. Pada penelitian ini penulis melewati prosedur tersebut, maka dari itu penurunan densitas bakteri sebelum dan setelah inkubasi tidak diketahui, sehingga pengamatan sebatas perhitungan penurunan jumlah koloni bakteri setelah dicawakan. Peningkatan konsentrasi ZnO nano menyebabkan penurunan jumlah koloni yang terbentuk. Jumlah koloni mulai menurun dari keadaan menyebar (tidak dapat dihitung) menjadi 10 koloni pada sampel alginat-PVA-ZnO nano 0,25%, sehingga pada konsentrasi tersebut dinyatakan sebagai nilai MIC hidrogel alginat-PVA-ZnO nano, artinya dosis tersebut sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Koloni bakteri mulai tidak nampak pada sampel alginat-PVA-ZnO nano 0,75%, artinya tidak ada bakteri yang tumbuh atau dosis tersebut sudah dapat membunuh bakteri, sehingga pada konsentrasi tersebut dinyatakan sebagai nilai MBC hidrogel alginat-PVA-ZnO nano.

ZnO nano merupakan salah satu logam berat, kebanyakan logam berat mempunyai efek yang merugikan terhadap mikroorganisme. Logam mempunyai aktivitas antibakteri apabila bereaksi menjadi garam yang tidak larut dan terionisasi. Garam dari logam berat dan senyawanya bereaksi sebagai antimikroba dengan cara berkombinasi dengan protein sel dan enzim kemudian menginaktivasi bakteri tersebut (Michel *and* Peltzer, 1986). Hal tersebut didukung oleh pernyataan Fanny dan Silvia (2012) bahwa mekanisme antibakteri dapat dilihat dari interaksi ZnO nano dengan gugus fosfor dalam DNA, mengakibatkan inaktivasi DNA replikasi, bereaksi dengan sulfur yang mengandung protein, sehingga menyebabkan penghambatan fungsi enzim pada bakteri.

Kulit manusia dewasa merupakan sekitar 10% dari berat badan normal. Fungsi kulit adalah sebagai pengatur suhu tubuh, mengatur hilangnya air tubuh melalui keringat, tempat penyimpanan nutrisi untuk sementara, tempat sintesis vitamin, dan fungsi utamanya adalah untuk proteksi. Infeksi kulit dapat disebabkan oleh bakteri Gram-positif, bakteri Gram-negatif, jamur, atau virus. Pada infeksi kulit dapat terjadi kemerahan, bengkak, dan terbentuk nanah. Oleh karena itu pada uji antimikroba untuk pengobatan kulit, reduksi kemerahan, bengkak, dan terbentuknya nanah dapat digunakan sebagai parameter kesembuhan luka pada kulit (Hayes, 1989).

Pengujian terhadap hewan coba mencit menunjukkan hasil yang positif, hidrogel alginat-PVA-ZnO nano dengan berbagai variasi konsentrasi memberikan respon penyembuhan lebih cepat dibandingkan dengan kelompok kontrol yang hingga hari ke-7 pengamatan, luka masih belum sembuh. Jika dibandingkan

dengan pemakaian obat komersial povidine iodine yang memberikan respon penyembuhan luka pada hari ke-13 (Zulaehah, 2010), hidrogel alginat-PVA-ZnO nano masih lebih unggul dalam mempercepat penyembuhan luka. Alginat, PVA, dan ZnO nano memiliki peran masing-masing dalam mempercepat proses penyembuhan luka. ZnO nano dengan sifat antibakteri yang dimiliki berfungsi menghambat bahkan membunuh bakteri sehingga bakteri tidak dapat penetrasi masuk ke dalam luka dan menimbulkan infeksi. Alginat dan PVA tidak memiliki sifat menyembuhkan luka secara langsung, akan tetapi secara tidak langsung keduanya membantu percepatan penyembuhan luka dikarenakan sifat-sifat yang dimiliki.

Alginat memiliki kemampuan absorpsi cairan luka yang tinggi, sehingga suasana di sekitar luka tidak basah dan dipertahankan lembab. Antisipasi agar saat alginat berubah menjadi gel, suasana di sekitar luka tidak kembali basah diperankan oleh PVA dengan mempertahankan elastisitas dan fleksibilitas (sifat mekanik) hidrogel. Struktur alginat dan PVA yang berpori berfungsi untuk meneruskan gas (oksigen, dan lainnya) dari udara atau dari luka. Selain itu, apabila ukuran porinya sekitar 1 μm , maka membran cukup untuk melindungi luka dari penetrasi bakteri dan sangat efisien untuk penyerapan cairan luka (Heenan, 2007).

Pada penelitian ini terdapat perbedaan kecenderungan dari hasil aktivitas antibakteri dan percepatan penyembuhan luka yang diakibatkan oleh adanya penambahan ZnO dalam hidrogel alginat-PVA. Semakin tinggi konsentrasi ZnO nano, semakin tinggi aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan semakin besar

diameter *halo* (zona inhibisi) dan pada hidrogel alginat-PVA dengan penambahan ZnO nano 0,75% menunjukkan nilai MBC yang berarti pada dosis tersebut sudah dapat membunuh bakteri. Hasil yang didapat dari uji antibakteri berkebalikan dengan percepatan penyembuhan luka, semakin tinggi konsentrasi ZnO nano justru menyebabkan proses penyembuhan luka pada mencit menjadi sedikit lebih lama.

Perbedaan kecenderungan ini dimungkinkan karena semakin tinggi konsentrasi ZnO nano yang diberikan, menyebabkan semakin menurun tingkat biokompatibilitas hidrogel yang ditunjukkan dari penurunan nilai OD (*optical density*) sel yang hidup pada uji toksisitas (Shalumon *et al.*, 2011). Meskipun hidrogel alginat-PVA-ZnO nano 0,75% memberikan respon penyembuhan yang paling lama dibandingkan dengan variasi konsentrasi dibawahnya (luka sembuh pada hari ke-5), akan tetapi jauh lebih cepat dibandingkan dengan kelompok kontrol dan pemakaian obat komersial povidine iodine.

Penelitian selanjutnya dapat dilakukan untuk melengkapi dan memperbaiki kekurangan yang ada pada penelitian ini, pengujian tahap *in vitro* untuk menguji sifat mekanik dan memperkaya uji resistensi terhadap bakteri lain selain *S. aureus* dapat menjadi pertimbangan. Perbaikan metode sintesis juga dapat dilakukan untuk menciptakan *wound dressing* yang siap diuji dan diaplikasikan secara klinis. Pengujian *in vivo* pada luka selain luka akut juga perlu dilakukan agar tepat guna saat diaplikasikan.