

EKSTRAK CACING TANAH SEBAGAI INOVASI PENYEMBUHAN ULKUS DIABETIK BERBASIS INDUKSI DENSITAS AKSON

Ni Putu Jeny Mardiaty¹, Arinda Nur Yunitasari², Dwi Astika Sari³,
I Wayan Gede Saraswasta⁴, Fetreo Negeo Putra⁵, Heri Kristianto⁶

¹Program Studi Ilmu Keperawatan, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya
email: niputu_jeny@yahoo.com

²Program Studi Ilmu Keperawatan, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya
email: arinda.tiar@yahoo.co.id

³Program Studi Ilmu Keperawatan, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya
email: dastikasari@gmail.com

⁴Program Studi Ilmu Keperawatan, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya
email: yandesaraswasta@yahoo.co.id

⁵Program Studi Ilmu Keperawatan, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya
email: fetreonegeo@gmail.com

⁶Spesialis Keperawatan Medikal Bedah, Jurusan Keperawatan, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya
email: herik26@yahoo.com

Abstract

*Reduction of nerve growth factor expression in diabetic ulcer affects overall wound healing. Earthworm (*Pheretima aspergillum*) can stimulate schwann cell proliferation and migration to support axonal elongation. The objective of this study is to compare wound healing functions in diabetic ulcer of rats using earthworm extract, hydrogel, and conventional dressing. This study applied a true-experimental posttest only controlled group design. 21 days after treatment, the group receiving earthworm extract had a significantly higher percentage of wound contraction and axonal density compared to the control group ($p < 0.05$). These results show that earthworm extract can promote wound healing in diabetic ulcer.*

Keywords: Diabetic Ulcer, Earthworm (*Pheretima aspergillum*), Wound Contraction, Peripheral Nerve Regeneration.

1. PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) menyebabkan komplikasi menahun yang berpengaruh pada penurunan *quality of life* pasien. Kejadian DM telah menempatkan Indonesia di urutan ke-4 dunia setelah negara India, China dan Amerika. Jumlah Diabetesi sebesar 8,4 juta jiwa dan diperkirakan oleh WHO akan terus meningkat sampai 21,3 juta jiwa di tahun 2030 (Perkeni, 2006).

Ulkus dan ganggrein diabetik merupakan komplikasi pada ekstremitas bawah yang dapat berakhir amputasi. Menurut data Perkeni (2009), angka kematian karena ulkus mencapai 17-23% karena tindakan amputasi. Angka kematian satu tahun paska amputasi berkisar 14,8% dan meningkat pada tiga tahun paska amputasi 37% dengan rerata umur pasien hanya 23,8 bulan paska amputasi.

Nerve Growth Factor (NGF) adalah molekul alami dalam tubuh yang merangsang pertumbuhan dan diferensiasi saraf sensorik (Muangman *et al.*, 2009). Penderita DM memiliki karakteristik yaitu terjadi penurunan dan gangguan produksi NGF (Karamoysoyly *et al.*, 2008). Pasien DM apabila kadar glukosa darah tidak terkontrol akan menimbulkan kerusakan jaringan saraf akibat adanya penimbunan sorbitol dan fruktosa sehingga mengakibatkan akson menghilang, penurunan kecepatan induksi, penurunan reflek otot, kulit kering dan hilang rasa atau neuropati (Waspadji, 2006).

Regenerasi saraf merupakan respon fisiologis kompleks yang terjadi setelah adanya injuri. Sistem saraf terbagi menjadi sistem saraf pusat (*central nervous systems*) dan sistem saraf perifer (*peripheral nervous systems*), dimana terdapat perbedaan struktur anatomi dan

kemampuan regenerasi. *Central nervous systems* (CNS) tidak memiliki selubung mielin sehingga sulit untuk beregenerasi. Sebaliknya, *Peripheral nervous systems* (PNS) memiliki selubung mielin sehingga mudah beregenerasi. Regenerasi akson merupakan hasil dari aktivitas sel schwan yang menyediakan aktivitas penting bagi regenerasi saraf perifer. Sel schwan berdiferensiasi menjadi selubung mielin dan berproliferasi hingga bagian distal dari area saraf yang mengalami injuri untuk mendukung pemanjangan akson (Chang *et al.*, 2011a). NGF memberikan respon mayor dalam meregulasi proliferasi, diferensiasi, dan remielin sel schwan (Chen *et al.*, 2007).

Pheretima aspergillum atau lebih populer dengan sebutan cacing tanah memiliki komponen bioaktif yaitu enzim fibrinolitik (sebagai anti trombus dan anti koagulan), polifenol (sebagai anti inflamasi dan anti oksidan), dan G-90 glycolipoprotein (sebagai stimulan proliferasi dan anti mikroba) yang terdiri dari *insulin like growth factors* (IGF-I), *immunoglobulin like growth factor* (IgGF-I), *epidermal growth factor* (EGF), dan *serine protease* (sebagai fibrinolisis) (Chang *et al.*, 2011b).

Studi *in vitro* dan *in vivo* ekstrak *Pheretima aspergillum* memiliki efek terhadap regenerasi saraf pada injuri saraf perifer. Ekstrak *Pheretima aspergillum* menginduksi NGF pada sel PC12 yang berhubungan dengan protein 43 dan sinapsin I (Chen *et al.*, 2010). Ekstrak *Pheretima aspergillum* menstimulasi migrasi sel schwan melalui jalur *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) (Chang *et al.*, 2011a). Ekstrak *Pheretima aspergillum* dapat menginduksi proliferasi sel schwann melalui jalur *phosphatidylinositol 3 kinase* (PI3K) dan mengaktivasi *protein expression of cell nuclear antigen* (PCNA) (Chang *et al.*, 2011b).

Terapi perawatan ulkus diabetik yang ideal diharapkan dapat mempercepat proses penyembuhan ulkus diabetik dan menghambat kelanjutan proses neuropati. Penelitian terkait pengaruh ekstrak *Pheretima aspergillum* terhadap proses penyembuhan injuri saraf perifer telah banyak dilakukan, namun pengaruhnya terhadap proses penyembuhan ulkus diabetik pada penderita DM masih belum banyak dilakukan kajian lebih lanjut.

Tujuan penelitian ini adalah untuk membandingkan proses penyembuhan ulkus

diabetik pada tikus model DM dengan menggunakan ekstrak cacing tanah, *hydrogel* dan *conventional dressing*.

2. METODE

Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain *true experimental in vivo* dengan metode *Post-test Only Controlled Group Design*.

Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perawatan ulkus diabetik yang dibagi dalam beberapa kelompok.

Kelompok A : Kontrol Negatif (tikus DM yang diberi perawatan ulkus dengan *conventional dressing* yaitu cairan Normal Salin atau NaCl 0,9%).

Kelompok B : Kontrol Positif (tikus DM yang diberi perawatan ulkus dengan Hidrogel yang mengandung *sodiumcarboxymethylcellulose*).

Kelompok C : Perlakuan 1 (tikus DM yang diberi perawatan ulkus dengan ekstrak cacing tanah secara topikal pada konsentrasi 100 mg/ml).

Kelompok D : Perlakuan 2 (tikus DM yang diberi perawatan ulkus dengan ekstrak cacing tanah secara oral pada dosis 100 mg/kgBB).

Kelompok E : Perlakuan 3 (tikus DM yang diberi perawatan ulkus dengan ekstrak cacing tanah secara topikal dan oral pada konsentrasi 100 mg/ml dan dosis 100mg/kgBB).

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah: (a) persentase kontraksi luka dan (b) densitas (kepadatan) akson saraf perifer

Sample Penelitian

Sampel penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar jantan, berusia 10-12 minggu, berat badan 150-200 gram. Penelitian ini menggunakan 5 pengulangan sehingga total sampel yang digunakan adalah 25 ekor.

Ekstraksi *Pheretima aspergillum*

Cacing tanah 500 gram dikeringkan dengan suhu 50° C kemudian dihancurkan dengan cara

ditumbuk atau dihaluskan dengan blender dan disaring untuk memisahkan partikel yang relative besar dan tepung bahan. Tepung bahan yang diperoleh selanjutnya diekstrak dengan metode maserasi (Chang *et al.*, 2011a). Timbang tepung bahan yang akan diekstrak. Masukkan kedalam *baker glass* dan tuangkan pelarut dengan perbandingan (1:3) 1 kg bahan dalam 3 liter pelarut etanol 70%. Rendam bahan dan diamkan pada suhu kamar selama minimal 2x24 jam kemudian saring bahan menggunakan kertas saring *whatman* no 40. Evaporasi untuk menghilangkan sisa pelarut. Oven sisa pelarut yang masih tersisa pada suhu 40°C hingga benar-benar tidak mengandung pelarut. Hasil ekstraksi pada penelitian ini berbentuk pasta sebanyak 36 gram dan diencerkan dengan aquades sesuai dengan konsentrasi yang dibutuhkan.

Induksi Diabetes Melitus

Tikus diinduksi DM dengan injeksi Streptozotocin (STZ) intraperitoneal *single dose* 40mg/kgBB dalam pelarut buffer sitrat 0,1 M pH 4.5 setelah sebelumnya dipuasakan selama 12 jam. Tiga hari setelah injeksi STZ, glukosa darah diukur melalui vena ekor dengan menggunakan glukometer (Multi-check, NESCO, Taiwan) dan tikus dengan glukosa darah diatas 200 mg/dL dinyatakan sebagai diabetik (Zangiabadi *et al.*, 2011). Tikus di tunggu selama 4 minggu setelah induksi DM untuk proses neuropati (Kappelle *et al.*, 1993).

Pembuatan Ulkus Diabetik

Tikus dianastesi ketamine intraperitoneal dengan dosis 25 mg/kgBB, kemudian difiksasi dalam posisi pronasi. Bulu daerah punggung dicukur, lalu dilakukan desinfeksi dengan alkohol 70%. Pembuatan ulkus diabetik melalui luka eksisi berukuran 1,5x1,5 cm pada kulit dengan menggunakan pisau bedah pada epidermis hingga hipodermis/lapisan subkutan (ulkus derajat 2) (Li *et al.*, 2011).

Perawatan Ulkus Diabetik

Perawatan ulkus diabetik dilakukan 1 kali sehari selama 21 hari (Juraneck *et al.*, 2013). Teknik perawatan secara topikal menggunakan teknik steril dengan perawatan luka tertutup kasa untuk mencegah terjadinya infeksi. Teknik perawatan secara oral menggunakan sonde. Pemberian ekstrak topikal menggunakan konsentrasi rendah 100 mg/ml sedangkan pemberian ekstrak oral

menggunakan dosis rendah 100 mg/kgBB. Pemberian konsentrasi tinggi ekstrak *Pheretima aspergillum* diketahui dapat menimbulkan efek yang berkebalikan (Chang *et al.*, 2011a; Liu *et al.*, 2013).

Pembuatan Preparat Jaringan Kulit

Tikus dieutanasia dengan inhalasi ether pada hari ke-21. Kulit pada daerah ulkus dan sekitarnya dieksisi menggunakan pisau bedah mencapai batas lapisan otot. Jaringan direndam dalam larutan fiksatif formalin 10% selama 24 jam, selanjutnya dilakukan pembuatan preparat jaringan kulit. Pengeringan dilakukan untuk menghilangkan air dari potongan jaringan dengan cara merendam berturut-turut secara bertahap dalam larutan etanol (70% sampai 100%). Larutan kemudian diganti dengan larutan xylene. Setelah jaringan dipenuhi dengan larutan, jaringan dimasukkan dalam parafin cair di dalam oven pada suhu 58-60°C. Blok keras yang berisi jaringan kemudian diiris longitudinal dengan pisau kaca mikrotom setebal 10 µm (Junqueira dan Carneiro, 2004).

Pengukuran Kontraksi Luka

Ulkus diabetik didokumentasikan dengan *digital camera* 16 Mpixel. Luas luka yang tidak sembuh setelah perawatan luka selama 21 hari diukur menggunakan program *AutoCAD 2009*. Kontraksi luka dihitung dengan menggunakan rumus: persentase kontraksi luka = [(luas luka awal – luas luka yang tidak sembuh) / luas luka awal] x 100% (Li *et al.*, 2011).

Penghitungan Densitas Akson

Preparat jaringan kulit dipulas dengan menggunakan impregnasi perak (*silver impregnation*) (Switzer, 2000; Grant, Hollander, dan Aldskogius, 2004). Jaringan terlebih dahulu dibasahi dengan aquades, homogenasi 5 tetes reagen *potassium permanganate* dengan 5 tetes reagen *acid activation buffer* dan teteskan selama 5 menit kemudian bilas dengan aquades. Untuk selanjutnya teteskan reagen sesuai urutan kemudian bilas dengan aquades. Reagen tersebut adalah *oxalic acid* selama 3 menit, *iron ammonium sulphate* selama 2 menit, *ammoniacal buffer* selama 2 menit, *formic aldehyde buffer* selama 2 menit, *sodium thiosulphate* selama 4 menit, kemudian bilas dengan air mengalir selama 5 menit. Dehidrasi dengan segera, bersihkan dengan xylol, dan

rekatkan (*mounting*) dengan balsam serta tutup dengan *coverslip*. Hasil pemulasan impregnasi perak adalah berwarna hitam untuk serabut saraf (*nervous fibers*) (Diapath, 2013). Migrasi serabut saraf diamati disekitar folikel rambut (Gagnon *et al.*, 2011). Slide kulit hasil pemeriksaan Silver diamati menggunakan program *Scan Dot Slide OlyVIA*. Jumlah akson dihitung dengan pembesaran 20x obyektif pada tiap slide dari masing-masing tikus sebanyak 10 lapang pandang kemudian dirata-rata.

Prosedur Pengumpulan dan Analisa Data

Hasil pengukuran tikus kontrol dan perlakuan dianalisa secara statistik dengan menggunakan program *SPSS 18.0 for Windows* dengan tingkat kebermaknaan 0,05 ($p < 0,05$) dan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Langkah-langkah uji hipotesis adalah uji normalitas data, uji homogenitas varian, uji *One-way ANOVA* dan uji *Post hoc* (Dahlan, 2004).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

HASIL

Karakteristik Sampel

Rerata berat badan hewan coba dalam penelitian ini adalah 182,96 pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (standar deviasi=15,85). Berat badan terendah 156 gram dan berat badan tertinggi 212 gram. Hasil estimasi interval menunjukkan 95% berat badan hewan coba dalam penelitian pada rentang 176,42-189,50 gram.

Rerata glukosa darah pre-induksi diabetes melitus hewan coba dalam penelitian ini adalah 92,00 mg/dL pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (standar deviasi=14,23). Glukosa darah terendah 70 mg/dL dan glukosa darah tertinggi 121 mg/dL. Hasil estimasi interval menunjukkan 95% glukosa darah hewan coba dalam penelitian pada rentang 86,12-97,87 mg/dL.

Rerata glukosa darah post-induksi diabetes melitus hewan coba dalam penelitian ini adalah 374,92 mg/dL pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (standar deviasi=60,22). Glukosa darah terendah 304 mg/dL dan glukosa darah tertinggi 526 mg/dL. Hasil estimasi interval menunjukkan 95% glukosa darah hewan coba dalam penelitian pada rentang 350,06-399,78 mg/dL.

Hasil uji normalitas *kolmogorov-smirnov* dan *shapiro-wilk* menunjukkan persebaran data normal pada berat badan dan glukosa darah pre-induksi ($p > 0,05$). Sedangkan glukosa darah post-induksi menunjukkan nilai $p < 0,05$. Hal tersebut tidak bermakna oleh karena secara klinis glukosa darah post-induksi dinyatakan sebagai diabetik pada level diatas 200 mg/dL.

Hasil uji homogenitas sampel menunjukkan terdapat kesamaan atau tidak berbeda secara signifikan pada karakteristik berat badan ($p = 0,910$; $\alpha = 0,05$), glukosa darah pre-induksi ($p = 0,629$; $\alpha = 0,05$), dan glukosa darah post-induksi ($p = 0,154$; $\alpha = 0,05$).

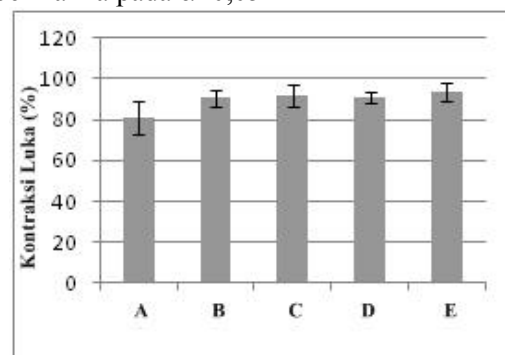
Rerata Perbedaan Persentase Kontraksi Luka Setelah Perawatan 21 Hari Pada Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan

Hasil analisis data menunjukkan rerata persentase kontraksi luka pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (Tabel 1 dan Gambar 1). Uji *one-way ANOVA* menunjukkan terdapat perbedaan persentase kontraksi luka yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ($p = 0,13$; $\alpha = 0,05$). Uji *Post Hoc Bonferroni* menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol (-) dengan kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak topikal-oral ($p = 0,015$; $\alpha = 0,05$).

Tabel 1. Rerata Persentase Kontraksi Luka

Kelompok	Mean	SD	p
A. Kontrol (-)	81,3%	8,02	0,13*
B. Kontrol (+)	90,8%	4,09	
C. Topikal	91,6%	5,25	
D. Oral	91,1%	2,68	
E. Topikal Oral	93,5%	4,71	

*bermakna pada $\alpha = 0,05$



Gambar 1. Efek ekstrak *Pheretima aspegillum* terhadap persentase kontraksi luka

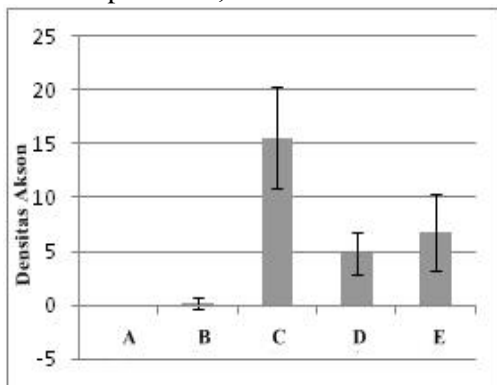
Rerata Perbedaan Densitas Akson Setelah Perawatan 21 Hari Pada Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan

Hasil analisis data menunjukkan rerata densitas akson pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (Tabel 2 dan Gambar 2). Hasil uji *one-way ANOVA* menunjukkan terdapat perbedaan densitas akson yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ($p=0,000$; $\alpha=0,05$). Uji *Post Hoc Bonferroni* menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak topikal ($p=0,000$; $\alpha=0,05$). Gambaran kontraksi luka dan histologi kulit dengan pemulasan impregnasi perak pada pengamatan densitas akson tersaji pada gambar 3.

Tabel 2. Rerata Densitas Akson

Kelompok	Mean	SD	p
A. Kontrol (-)	0	0	0,00*
B. Kontrol (+)	0,2	0,45	
C. Topikal	15,6	4,78	
D. Oral	4,8	1,92	
E. Topikal Oral	6,8	3,63	

*bermakna pada $\alpha=0,05$



Gambar 2. Efek ekstrak *Pheretima aspergillum* terhadap densitas akson

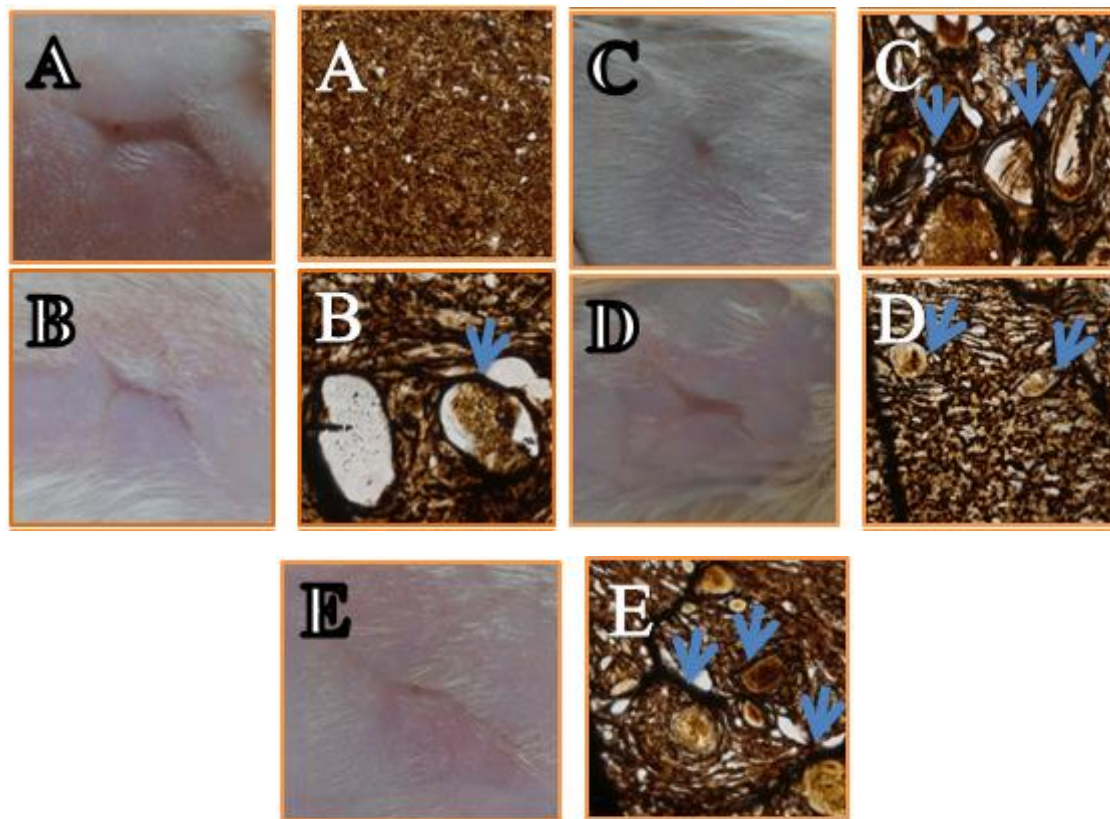
PEMBAHASAN

Peningkatan persentase kontraksi luka dan densitas akson saraf perifer disebabkan adanya perlakuan perawatan ulkus diabetik dengan menggunakan ekstrak cacing tanah (*Pheretima aspergillum*). Faktor lain seperti berat badan, glukosa darah pre-induksi dan gula darah post-induksi tidak berpengaruh dalam penelitian. Hal ini didukung adanya kehomogenan karakteristik sampel antar kelompok berdasarkan uji statistik.

Proses penyembuhan luka terdiri dari fase homeostasis, fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase *remodelling* (Diegelmann dan Evans, 2004). Setiap fase pada proses ini saling berpengaruh satu sama lain, dan menentukan hasil perbaikan luka. *Pheretima aspergillum* yang memiliki efek antiinflamasi, antioksidan, dan antimikroba mampu mencegah terjadinya perpanjangan masa inflamasi pada ulkus diabetik, sehingga pada kelompok perlakuan ekstrak *Pheretima aspergillum* secara makroskopis memiliki persentase kontraksi luka yang tinggi pada fase proliferasi.

Pada kelompok kontrol, cairan Normal Salin tidak dapat memberikan prognosis penyembuhan luka yang baik karena pada kelompok kontrol yang diberikan cairan Normal Salin hanya mampu menghasilkan persentase kontraksi luka yang rendah pada fase proliferasi. Cairan Normal Salin merupakan jenis cairan yang bersifat isotonik dengan kandungan NaCl 0,9%. Cairan ini memiliki tekanan osmotik sama dengan cairan tubuh, sehingga dapat bercampur dengan baik bersama serum darah (Fernandez *et al.*, 2010; Salami *et al.*, 2006). Cairan Normal Salin kurang dapat berfungsi menjaga kelembaban luka atau luka dalam kondisi kering. Keadaan luka yang kurang lembab dan kering ini dapat memicu mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang. Risiko infeksi sebagai salah satu masalah keperawatan masih belum dapat teratasi dengan maksimal jika perawatan ulkus diabetik hanya menggunakan Normal Salin. Cairan Normal Salin tidak memiliki efek antimikroba, sehingga ulkus diabetik yang terjadi masih rentan terhadap adanya proses infeksi.

Penggunaan Hidrogel sebagai salah satu teknik balutan modern memiliki fungsi menjaga luka dalam kondisi lembab. Mekanisme kondisi lembab membantu proses penyembuhan luka melalui jalur fibrinolisis, angiogenesis, pembentukan *growth factor*, dan stimulasi sel aktif (Bryan, 2004). Namun Hidrogel tidak memiliki komponen bioaktif yang berpengaruh secara langsung terhadap proliferasi sel schwann pada proses penyembuhan ulkus diabetik, sehingga secara mikroskopis akson yang terbentuk bersifat acak dan kepadatannya berkurang. Diabetik neuropati terjadi akibat adanya proses stress oksidatif. Mekanisme yang mendasari stress oksidatif pada pasien DM adalah keadaan hiperglikemia yang berlangsung



Gambar 3. Perbedaan Kontraksi Luka dan Densitas Akson Setelah 21 Perawatan Ulkus Diabetik Pada Kontrol Negatif Normal Salin (A), Kontrol Positif Hidrogel (B), Perlakuan Topikal 100 mg/ml (C), Perlakuan Oral 100 mg/kgBB (D), Perlakuan Topikal-Oral 100 mg/ml dan 100 mg/kgBB (E).

kronik. Hiperglikemia mengaktivasi empat jalur utama yang mengarah pada kerusakan sel yaitu jalur polioliol yang menghasilkan akumulasi sorbitol, jalur autooksidasi yang menghasilkan *advanced glycosylation end products* (AGEs) dengan *reactive oxygen species* (ROS) sebagai *second messengers*, jalur aktivasi *protein kinase C* (PKC), dan jalur aktivasi oksidasi *nicotinamide adenine dinucleotide* (NADH) yang menghasilkan O_2^- . Stress oksidatif menyebabkan gangguan produksi neurotropin dan ekspresi gen. Kondisi ini menyebabkan apoptosis neuron dan mengarah pada kerusakan sistem saraf pada kondisi DM (Vincent *et al.*, 2004).

Terdapat tiga respon mayor yang meregulasi proliferasi, diferensiasi, dan remielin sel schwan yaitu faktor neurotropin, protein *extracellular matrix* (ECM), dan hormon (Chen *et al.*, 2007). Empat anggota famili neurotropin pada mamalia meliputi *nerve growth factor* (NGF), *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF), *neurotrophin-3*

(NT-3), dan *neurotrophin-4* (NT-4) (Davoli *et al.*, 2001). Faktor neurotropin NGF merupakan molekul alami dalam tubuh yang merangsang pertumbuhan dan diferensiasi saraf sensorik. NGF terdiri dari sebuah protein yang terdiri dari 3 jenis rantai polipeptida alpha, beta, dan gamma yang berinteraksi untuk membentuk protein (Muangman, et.al 2009).

Cacing tanah memiliki komponen bioaktif yaitu *nerve growth factor-like* (NGF-I) (Davoli *et al.*, 2001). Studi *in vitro* menunjukkan bahwa NGF dapat mencegah stress oksidatif pada neuron melalui peningkatan konsentrasi *glutathione* (GSH) intraselular. GSH merupakan antioksidan penting yang berperan pada sel mamalia. NGF juga menghambat regulasi dari *nitric oxide synthase* (NOS) pada injuri neuron (Vincent *et al.*, 2004). Selain NGF-I, cacing tanah khususnya *Pheretima aspergillum* memiliki komponen aktif *insulin like growth factor* (IGF-I). IGF-I merupakan polipeptida yang disintesis dari proliferasi sel schwan. IGF-I secara langsung dapat menginduksi

pertumbuhan neuron melalui jalur *phosphatidylinositol 3-kinase/ serine-threonine kinase* (PI3K/Akt). (Chang *et al.*, 2011b). *Neurotropic signaling* NGF diperantarai oleh dua tipe reseptor yaitu *tropomyosine kinase receptors* (Trk) khususnya TrkA yang selektif mengikat NGF dan p75^{NTR}. Setelah berikatan dengan reseptornya, NGF akan mengaktifasi *phosphatidylinositol 3 kinase* (PI3K) dan selanjutnya mendukung pertumbuhan akson pada sistem saraf perifer (Chen *et al.*, 2007).

4. KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah pemberian ekstrak cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) dapat meningkatkan persentase kontraksi luka dan densitas akson saraf perifer pada ulkus diabetik. Dengan demikian, *Pheretima aspergillum* memiliki potensi sebagai standar perawatan ulkus diabetik dan sebagai makanan tambahan (*supplement*) bagi penderita DM untuk mempercepat proses penyembuhan luka dan menghambat kelanjutan proses neuropati. Rencana jangka panjang dari penelitian ini adalah pengujian preklinis lainnya dan nantinya dilanjutkan penelitian pada manusia dan diproduksi secara luas.

Penulis merekomendasikan penelitian lebih lanjut terkait keadaan densitas akson saraf perifer hingga fase *remodelling* untuk memperkuat hasil penelitian ini. Eksplorasi dosis terkait formulasi ekstrak cacing (*Pheretima aspergillum*) secara topikal, oral, dan topikal-oral perlu dilakukan untuk mengetahui *therapeutic window*. Penelitian pengembangan diperlukan terkait efek perawatan ekstrak cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) pada jenis ulkus diabetik dengan komplikasi infeksi atau ganggrein yaitu pada ulkus derajat 3 atau derajat 4.

5. REFERENSI

Bryan, J. 2004. Moist Wound Healing: A Concept that Changed our Practice. *Journal of Wound Care*. 13 (6): 245-252.
Chang, Yung-Ming *et al.* 2011a. RSC96 Schwann Cell Proliferation and Survival Induced by Dilong through P13K/Akt Signaling Mediated by IGF-1. *Evidence-*

Based Complementary and Alternative Medicine. Article ID 216148.
Chang, Yung-Ming *et al.* 2011b. Schwann Cell Migration Induced by Earthworm Extract via Activation of PAs and MMP2/9 Mediated through ERK1/2 and p38. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Article ID 395458.
Chen, Chao-Tsung *et al.* 2010. Earthworm Extracts Facilitate PC12 Cell Differentiation and Promote Axonal Sprouting in Peripheral Nerve Injury. *The American Journal of Chinese Medicine*. 38 (3): 547-560.
Chen, Zu-Lin, Wei-Ming Yu, & Sidney Strickland. 2007. Peripheral Regeneration. *The Annual Review of Neuroscience*. 30:209-233.
Dahlan, S. M. 2004. *Seri Statistik: Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan: Uji Hipotesis dengan Menggunakan SPSS Program 12 Jam*. Jakarta. Arkans.
Davoli C *et al.* 2001. *Expression of Nerve Growth Factor-Like Polypeptides and Immunoreactivity Related to The Two Types of Neurotrophin Receptors in earthworm Tissues*. Research Article.
Diapath S.p.A. 2013. *Diapath Special Stains Handbook*. <http://www.diapath.com/diapath-special-stains.aspx>. Diakses tanggal 10 Mei 2013.
Diegelmann RF dan Evans MC. 2004. Wound Healing : An Overview of Acute, Fibrotic and delayed Healing. *Biosciences*. 9: 283-289.
Fernandez R, Griffiths R dan Ussia C. 2010. Water for Wound Cleansing (review). *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 1: 1-9.
Gagnon, Vicky *et al.* 2011. Hair Follicles Guide Nerve Migration In Vitro and In Vivo in Tissue-Engineered Skin. *Journal of Investigative Dermatology* 13: 1375–1378.
Grant G, Hollander H, & Aldskogius H. 2004. *Suppressive Silver Methods : A Tool For Identifying Axotomy-Induced Neuron Degeneration*. *Brain Res Bull*. 62 (4) : 261-269.
Junqueira, Luiz Carlos & Jose Carneiro. 2004. *Histologi Dasar: Teks dan Atlas*. Jakarta. EGC.
Juranek, Judyta K *et al.* 2013. *RAGE Deficiency Improves Postinjury Sciatic Nerve Regeneration in Type 1 Diabetic Mice*.

- American Diabetes Association. 62 : 931-934.
- Kappelle *et al.* 1993. Amelioration by The Ca²⁺ Antagonist, Nimodipine of An Existing Neuropathy in The Streptozotocin-Induced, Diabetic Rats. *J Pharmacol* 108: 780-785.
- Karamoysoyli *et al.* 2008. Neuritin Mediates Nerve Growth Factor-Induced Axonal Regeneration and Is Deficient in Experimental Diabetic Neurophaty. Original Article. *Diabetes*. 57 : 181-189.
- Li, Kun *et al.* 2011. Tannin Extract From Immature Fruits of Terminalia Chebula Fructuz Retz. Promote Cutaneous Wound Healing In Rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 11: 86-95.
- Liu, Chung Hsiang *et al.* 2013. Effect of Oral Administration of Pheretima Aspergillum (Earthworm) In Rats With Cerebral Infarction Induced By Middle-Cerebral Artery Occlusion. *African Journal of Traditional, Complementary & Alternative Medi*. 10 (1): 66-75.
- Muangman, P *et al.* 2009. Nerve growth factor accelerates wound healing in diabetic mice. *Wound Repair and Regeneration*. 12:44–52.
- Perkeni. 2006. *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia*. Jakarta. PB Perkeni.
- Perkeni. 2009. *Pedoman Penatalaksanaan Kaki Diabetik*. Jakarta. PB Perkeni.
- Salami, AA, Imosemi IO, dan Olatunde OO. 2006. A Comparison of the Effect of Chlorhexidine, Tap Water and Normal Saline on Healing Wounds. *Int. Journal Morphol*. 24 (4): 673-676.
- Switzer R.C. 2000. Application of Silver Degeneration Stains For Neurotoxicity Testing. *Toxicol Pathol*. 28(1):70-83.
- Vincent *et al.* 2004. Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews* 25(4):612–628.
- Waspadji S. 2006. *Komplikasi Kronik Diabetes : Mekanisme Terjadinya, Diagnosis dan Strategi pengelolaan*. Edisi ke-4. Jakarta. Penerbit FK UI.
- Zangiabadi, Nasser *et al.* 2011. Effects of Melatonin in Prevention of Neuropathy in STZ-Induced Diabetic Rats. *American Journal of Pharmacology and Toxicology* 6 (2): 59-67.