

Black Soldier Fly (*Hermetia illucens* L.) Larvae Oil Ointment to Accelerate Incision Wound Healing in Mice

Yona Afriani¹, Resti Rahayu^{1*}, Putra Santoso¹

¹Biology Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Andalas, Padang, Indonesia;

Article History

Received : June 01th, 2024

Revised : July 01th, 2024

Accepted : July 23th, 2024

*Corresponding Author:

Resti Rahayu, Biology Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences; Universitas Andalas, Padang, Indonesia;

Email:

restirahayu@sci.unand.ac.id

Abstract: Larvae of the Black Soldier Fly (BSF) are a natural material that has the potential to become a new alternative for accelerating wound healing due to their nutritional content. This study aims to analyze the potential of BSF larvae oil ointment in accelerating the healing of incisional wounds in mice. The study was conducted as an experimental research with six treatments and four repetitions, including a control group without treatment, ointment base, gentamicin ointment, BSF larvae oil ointment at 5% concentration, BSF larvae oil ointment at 10% concentration, and BSF larvae oil ointment at 15% concentration. The parameters observed included the percentage of wound healing, area under the curve (AUC) values, and anti-inflammatory efficacy percentage. The results showed no significant differences between groups based on statistical analysis ($P > 0.05$) for the observed parameters. However, the 5% BSF larvae oil ointment showed a 100% healing percentage on the fourteenth day. Based on AUC values and anti-inflammatory efficacy percentage, the 5% BSF larvae oil ointment had values close to commercial gentamicin ointment. This indicates that treatment with BSF larvae oil ointment, especially at the lowest dose, plays a role in accelerating incisional wound healing and has great potential to be developed as a commercial ointment in the future.

Keywords: Antiinflammatory, BSF, gentamicin, incision wound, ointment.

Pendahuluan

Luka merupakan suatu keadaan yang ditandai dengan adanya cedera pada struktural jaringan tubuh, yang timbul dari banyak faktor, seperti disebabkan oleh instrumen runcing, lecet, serangan hewan, dan agen penyebab lainnya (Harsa, 2020). Proses penyembuhan luka melibatkan banyak sel dalam tubuh, yang berkembang melalui tahapan yang berbeda mulai dari inflamasi, proliferasi, dan remodeling. Tahap inflamasi dimulai setelah terjadinya cedera dan bertahan selama dua sampai tiga hari. Jika fase inflamasi tidak terinfeksi, maka proses penyembuhan luka dilanjutkan ke tahap proliferasi. Awal tahap proliferasi terjadi pada hari kedua atau ketiga setelah cedera dan berlanjut hingga akhir minggu ketiga.

Selanjutnya, tahap remodeling terjadi, tahap ini membutuhkan durasi panjang dalam proses penyembuhan luka secara keseluruhan (Dewi *et al.*, 2013).

Proses penyembuhan luka merupakan proses yang kompleks dan dipengaruhi oleh banyak faktor yang berkontribusi pada penyembuhan dan penutupan luka. Faktor-faktor ini meliputi pembekuan darah, peradangan, fibroplasia, deposisi kolagen, dan kontraksi luka (Lindley *et al.*, 2016). Usia, nutrisi, infeksi, hematoma, iskemia, diabetes, kondisi luka, dan pengobatan merupakan faktor-faktor yang memberikan pengaruh pada proses penyembuhan luka (Maryunani, 2014). Kehadiran infeksi dapat menghambat penyembuhan luka karena kemampuannya untuk menginduksi peradangan dan menyebabkan kerusakan pada jaringan.

Eritema (kemerahan), edema (pembengkakan), panas, dan nyeri adalah tanda-tanda yang dapat diidentifikasi dari proses inflamasi (Suwiti, 2010).

Antibiotika diperlukan untuk menekan tingkat infeksi pada luka. Gentamisin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida yang efektif terhadap bakteri gram negatif dan gram positif yang masih digunakan secara luas untuk mengobati luka. Namun obat ini memiliki efek samping berupa iritasi dan rasa gatal pada kulit (Katzung, 2010). Oleh karena itu, sangat penting untuk mengeksplorasi alternatif baru yang dapat menghasilkan dampak substansial dalam mempercepat proses penyembuhan luka. Salah satu alternative yang dapat digunakan adalah larva *Black Soldier Fly* (BSF).

Larva BSF memiliki kandungan protein yang tinggi, berkisar antara 58% hingga 61% (Rahayu *et al.*, 2023). Selanjutnya, larva BSF juga mengandung asam lemak, polisakarida, dan potensi senyawa tambahan lainnya yang memiliki signifikansi nutrisi substansial (Zulkifli *et al.*, 2022). Penelitian sebelumnya telah mendokumentasikan beragam aplikasi untuk larva BSF, yang meliputi pemanfaatannya sebagai biokonverter untuk limbah organik (Rahayu *et al.*, 2023), efektivitasnya dalam penyembuhan luka pada tikus putih (Mangunsong & Marsela, 2021), antimikroba (Moretta *et al.*, 2020), sumber kitin (Triunfo *et al.*, 2021), dan sumber lipid (Franco *et al.*, 2021). Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi salep minyak larva BSF dalam meningkatkan penyembuhan luka sayat pada mencit.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei sampai bulan Juni 2023 di Laboratorium Fisiologi Hewan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat, Indonesia.

Metode penelitian

Penelitian ini akan dilakukan dengan

metode eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan desain sebagai berikut:

- A. tanpa perlakuan
- B. salep gentamisin
- C. basis salep
- D. salep minyak larva 5%
- E. salep minyak larva 10%
- F. salep minyak larva 15%.

Pengaplikasian salep dilakukan pada pagi dan sore dengan bobot 0,15 g setiap pengaplikasian.

Prosedur penelitian

Ekstraksi minyak larva BSF

Sampel larva BSF kering dikoleksi dari Minagot Sumbar, Kuranji, Padang. Kemudian sampel dihaluskan dan dimaserasi menggunakan n-heksana selama \pm 24 jam dan disaring menggunakan kertas saring. Setelah itu, ekstrak yang didapatkan disaring menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh minyak larva BSF. Minyak yang didapatkan berwarna kuning pekat dan berbau khas. Kemudian minyak larva BSF disimpan di lemari pendingin dengan suhu 4°C.

Preparasi salep minyak larva BSF

Pembuatan salep diawali dengan proses pembuatan basis salep yang berasal dari campuran vaselin album dan adeps lanae dengan perbandingan 17:3 (Agoes, 2006). Basis salep dileburkan di atas penangas air dengan suhu 60°C dan diaduk hingga homogen. Selanjutnya ditambahkan minyak larva BSF ke dalam basis salep dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15%.

Hewan uji

Mencit putih jantan dewasa (usia 2-3 bulan; berat badan 25-30 gram) diperoleh dari Pondok Tikus, Lubuk Begalung, Padang, Sumatera Barat. Sebelum memulai perlakuan, mencit diaklimatisasi terlebih dahulu di laboratorium selama satu minggu. Mencit dipelihara satu individu perkandang. Kandang dilapisi dengan serbuk gergaji yang diganti setiap dua hari sekali. Mencit diberi pakan standar Rat-Bio dan air secara ad libitum.

Pengondisian luka sayat

Rambut disekitar punggung mencit

dicukur menggunakan gunting hingga tipis, kemudian dioleskan krim merk *veet* dengan luas sekitar 3x3 cm. Setelah rambut rontok, punggung mencit dibersihkan dengan alkohol 70%. Mencit kemudian dianestesi secara inhalasi menggunakan ether 10%. Kemudian luka sayat dibuat pada daerah punggung menggunakan pisau bedah steril sepanjang ±2 cm dan kedalaman ±2 mm. Setelah itu, luka dibersihkan dengan larutan fisiologis NaCl 0,9%. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Penelitian, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, dengan nomor referensi: 195/UN.16.2/KEP-FK/2023.

Perhitungan persentase penyembuhan luka

Panjang luka sayat dikuantifikasi melalui gambar menggunakan software ImageJ, kemudian persentase penyembuhan luka sayat dihitung dengan rumus pada persamaan 1.

$$P\% = \frac{lo-lx}{lo} \times 100\% \quad (1)$$

Keterangan:

P% = Persentase Penyembuhan

lo = Panjang Luka Awal

lx = Panjang Luka Akhir

Pengitungan Nilai Area Under Curve (AUC) dan persentase daya antiinflamasi

Data panjang penyembuhan luka sayat akan dicari nilai AUC (*Area Under Curve*) yaitu luas daerah di bawah kurva antara rata – rata panjang penyembuhan luka terhadap waktu pengamatan. AUC dihitung dari rata – rata panjang luka hari ke-0 sampai hari ke-14. Perhitungan nilai AUC dengan metode trapezoid dengan rumus pada persamaan 2.

$$AUC_{0-14} = \sum_0^{14} \left[\frac{(Pt_{n-1} + Pt_n)(X_n - X_{n-1})}{2} \right] \quad (2)$$

Keterangan:

AUC0-14 : nilai area di bawah kurva dari hari ke-0 sampai hari ke-14 (mm.hari)

Ptn-1 : panjang luka hari ke-(n-1) (mm)

Ptn : panjang luka pada hari ke-n (mm)

Xn : hari ke-n

Xn-1 : hari ke-(n-1)

Persentase daya antiinflamasi dihitung dengan rumus pada persamaan 3.

$$\%DAI = \frac{AUC_{(0-14)K} - AUC_{(0-14)P}}{AUC_{(0-14)K}} \times 100\% \quad (3)$$

Keterangan :

% DAI :Persentase Daya Anti-inflamasi

AUC(0-14)K :AUC kurva panjang penyembuhan luka rata – rata terhadap waktu untuk kontrol negatif

AUC(0-14)P : AUC kurva panjang penyembuhan luka terhadap waktu untuk kelompok perlakuan pada tiap individu

Analisis data

Data nilai AUC dan daya antiinflamasi dianalisis menggunakan uji Shapiro Wilk dan uji Levene Statistic Test untuk mengetahui distribusi dan homogenitas data. Data yang terdistribusi normal dan homogen dianalisis one way anova dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil yang signifikan diuji lanjut menggunakan Duncan's multiple range test (DNMRT).

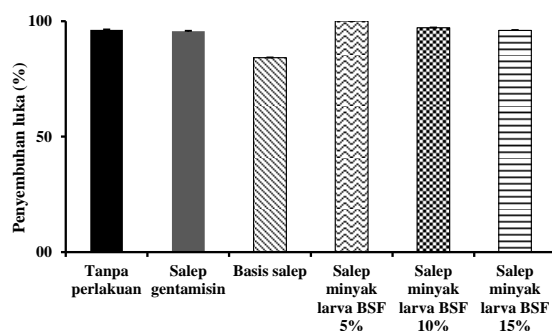
Hasil dan Pembahasan

Persentase penyembuhan luka

Hasil pengamatan terhadap persentase penyembuhan luka (Gambar 1) menunjukkan bahwa pengaplikasian salep minyak larva BSF 5% memiliki persentase tertinggi sebesar 100%, cenderung lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan salep minyak larva 10% dan 15% sebesar 97,1% dan 96%. Hal ini mengindikasikan bahwa salep minyak larva pada dosis terkecil menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dosis yang lebih besar. Besarnya persentase penyembuhan luka dengan pengaplikasian salep minyak larva BSF ini terlihat mengecil seiring bertambahnya dosis yang diberikan.

Aktivitas penyembuhan luka dapat terlihat dari durasi proses penyembuhan luka. Salep minyak larva BSF memiliki persentase penyembuhan luka tertinggi disebabkan karena larva BSF mengandung asam lemak yang tinggi dengan persentase terbesar adalah asam laurat (Wang & Shelomi 2017). Asam lemak memiliki

peranan yang sangat penting karena membantu proses pembentukan kolagen (Naveh *et al.*, 2011).



Gambar 1. Persentase penyembuhan luka pada mencit yang diaplikasikan salep minyak larva BSF selama 14 hari

Penyebabnya karena adanya peran miofibroblas yang memainkan peran penting dalam mengerahkan kekuatan pada kedua tepi kulit yang rusak, sehingga mengurangi panjang luka. Myofibroblas adalah subset fibroblas yang berbeda yang memiliki kemampuan untuk berkontraksi jaringan dan berkontribusi pada proses remodeling (Sgonc dan Gruber, 2013). Prasetyo *et al.* (2010) juga menyatakan bahwa semakin banyak jaringan ikat pada luka maka akan semakin memperkuat daya kontraksi luka sehingga sisi luka akan tertarik yang berasal dari pembentukan serat-serat kolagen yang akan membentuk sel-sel baru akan menggantikan sel lama yang telah rusak sehingga terjadi pengurangan daerah luka akan semakin mengecil.

Nilai area *under curve* (AUC) dan persentase daya antiinflamasi

Nilai AUC dan persentase daya antiinflamasi (Tabel 1) menggambarkan kemampuan salep uji dalam mengatasi inflamasi. Kelompok perlakuan yang memiliki nilai AUC tertinggi adalah basis salep. Sementara itu, pengaplikasian salep minyak larva yang memiliki nilai AUC cenderung mendekati salep komersil gentamisin adalah pada dosis 5%. Meskipun tidak ada perbedaan yang signifikan berdasarkan analisis statistik dengan kelompok lainnya, salep minyak larva 5% menjadi dosis terbaik diantara dua dosis salep minyak larva BSF lainnya dalam menyembuhkan luka. Semakin tinggi nilai

AUC, maka semakin rendah kemampuan suatu sampel sebagai antiinflamasi, dan sebaliknya.

Kelompok perlakuan yang diaplikasikan dengan salep minyak larva BSF 5%, menunjukkan persentase daya antiinflamasi yang paling besar dan mendekati produk komersial gentamisin. Hal ini mengindikasikan bahwa pemberian salep minyak larva BSF 5% memiliki kemampuan dalam mempercepat penyembuhan luka lebih baik dibandingkan dua dosis lainnya.

Tabel 1. Perbandingan nilai area under curve (AUC) dan persentase daya antiinflamasi antar kelompok selama 14 hari

Perlakuan	Nilai AUC (cm.hari) ± SE	Daya Antiinflamasi (%) ± SE
Tanpa Perlakuan	0.84 ± 0.15 ^a	-
Basis Salep	1.09 ± 0.15 ^a	-
Gentamisin	0.93 ± 0.18 ^a	26.55 ± 7.12 ^a
Salep 5%	0.98 ± 0.18 ^a	21.97 ± 8.25 ^a
Salep 10%	1.04 ± 0.18 ^a	13.40 ± 6.78 ^a
Salep 15%	1.04 ± 0.17 ^a	11.26 ± 4.79 ^a

Keterangan: Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan

Kemajuan penyembuhan diharapkan meningkat seiring dengan peningkatan dosis atau konsentrasi obat. Namun, telah ditemukan bahwa ketika menggunakan dosis salep minyak larva 10% dan 15%, terjadi penurunan potensi daya antiinflamasinya. Fenomena ini dapat dikaitkan dengan fakta bahwa obat-obatan tertentu pada dosis yang lebih tinggi memicu pelepasan histamin langsung dari sel mast, akibatnya menyebabkan peningkatan permeabilitas pembuluh darah terhadap cairan plasma dan inisiasi proses inflamasi (Fitriyani *et al.*, 2011). Selain itu, perlu dicatat bahwa semakin tinggi konsentrasi, semakin besar kandungan zat aktif dalam ekstrak, yang pada gilirannya berpotensi mengakibatkan toksisitas dosis ekstrak (Darma *et al.*, 2013).

Kesimpulan

Pengaplikasian salep minyak larva BSF dosis 5% memiliki persentase penyembuhan luka tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya

pada hari ke-14. Salep minyak larva BSF 5% juga memiliki nilai AUC dan persentase daya antiinflamasi tertinggi yang mendekati produk komersial dibandingkan dosis 10% dan 15%. Hal ini membuktikan bahwa minyak larva BSF sangat berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai alternatif baru obat luka dimasa mendatang.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada Departemen Biologi, FMIPA, Universitas Andalas yang telah mendukung terlaksananya penelitian ini dengan baik.

Referensi

- Agoes. (2006). Ilmu Pengembangan Sediaan Farmasi. Penerbit ITB. Jakarta
- Darma, B, Sudira, I. W., Mahatami H. (2013). Efektivitas perasan akar kelo (*Moringa oleifera*) sebagai pengganti antibiotik pada ayam broiler yang terkena kolibasilosis. *Indonesia Medicus Veterinus*. 2(3): 331-46. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/imv/article/view/5544>
- Dewi, I. A. L. P., Damriyasa, I. M. and Dada, I. K. A. (2013). Bioaktivitas ekstrak daun tapak dara (*Catharanthus roseus*) terhadap periode epitelisasi dalam proses penyembuhan luka pada tikus wistar. *Indonesia Medicus Veterinus*. 2(1): 58-75. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/imv/article/view/4521>
- Fitriyani, A., Winarti, L., Muslichah, S., & Nuri, N. (2011). Uji Anti Inflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav) Pada Tikus Putih. *Majalah Obat Tradisional*, 16(1), 34-42. DOI: <https://doi.org/10.22146/tradmedj.8020>
- Franco, A., Scieuzo, C., Salvia, R., Petrone, A. M., Tafi, E., Moretta, A., ... & Falabella, P. (2021). Lipids from *Hermetia illucens*, an innovative and sustainable source. *Sustainability*, 13(18), 10198. DOI: <https://doi.org/10.3390/su131810198>
- Harsa, I. M. (2020). Efek Pemberian Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) terhadap Penyembuhan Luka Sayat pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*. 9(1): 21–27. DOI: <https://doi.org/10.30742/jikw.v9i1.664>
- Katzung, B. G. (2010). Farmakologi Dasar dan Klinik. Ed 10. Nirmala windriya K, Yesdelita N, Susanto D, Dany F, editors. Jakarta: EGC. 783-4
- Lindley, L. E., Stojadinovic, O., Pastar, I., & Tomic-Canic, M. (2016). Biology and biomarkers for wound healing. *Plastic and reconstructive surgery*, 138(3S), 18S-28S. DOI: <http://doi.org/10.1097/PRS.00000000000002682>
- Mangunsong, S., & Marsela, L. (2021). Efek Ekstrak Metanol Maggot (*H. Illucens*) Terhadap Penyembuhan Luka Terbuka Pada Tikus (*Rattus novergicus*). *Jurnal Kesehatan Farmasi*, 99-104. DOI: <https://doi.org/10.36086/jkpharm.v3i2.1083>
- Maryunani, A. (2014). Perawatan Luka Seksio Caesarea (SC) dan Luka Kebidanan Terkini (dengan Penekanan “Moist Wound Healing”). Bogor: IN MEDIA.
- Moretta, A., Salvia, R., Scieuzo, C., Di Somma, A., Vogel, H., Pucci, P., ... & Falabella, P. (2020). A bioinformatic study of antimicrobial peptides identified in the Black Soldier Fly (BSF) *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *Scientific reports*, 10(1), 16875. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74017-9>
- Naveh, H.R, Jafari, Taghavi, M. M, Shariati, M., Vazeirnejad, R., & Rezvani M. E. (2011). Both Omega-3 And Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acids Stimulate Foot Wound Healing In Chronic Diabetic Rat. *Afr J of Pharm and Pharmacol*. 5(14):1713-1717. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJPP11.402>
- Prasetyo, B. F., Wientarsih, I., & Priosoeryanto, B. P. (2010). Aktivitas sediaan gel ekstrak batang pohon pisang ambon dalam proses penyembuhan luka pada mencit. *Jurnal veteriner*, 11(2), 70-73. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/article/view/3385>
- Rahayu, R., Rahmawati, R., Mairawita, Devianto, D, Putra, R.E. (2023).

- Performance of Tropical Fruit Wastes as Oviposition Attractants and Growing Substrates in Rearing Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*). *International Journal of Agriculture and Biology*. 30(3): 221-228. DOI: <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.2079>
- Sgonc, R. & Gruber, J. (2013). Age-Related Aspects of Cutaneous Wound Healing: A Mini-Review. *Gerontology*. (59):159-164. DOI: <https://doi.org/10.1159/000342344>
- Suwiti, N. K. (2010). The histological detection of skin wound after treatment with mengkudu leaves (*Morinda citrifolia* Linn.). *Buletin Veteriner Udayana*. 2(1):1-9. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/buletinvet/article/view/2215>
- Triunfo, M., Tafi, E., Guarnieri, A., Scieuzo, C., Hahn, T., Zibek, S., & Falabella, P. (2021). Insect chitin-based nanomaterials for innovative cosmetics and cosmeceuticals. *Cosmetics*, 8(2), 40. DOI: <https://doi.org/10.3390/cosmetics8020040>
- Wang, Y. S & Shelomi M. (2017). Review Of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) As Animal Feed And Human Food. *Foods*. 6:91. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods6100091>
- Zulkifli, N. F. N. M., Seok-Kian, A. Y., Seng, L. L., Mustafa, S., Kim, Y. S., & Shapawi, R. (2022). Nutritional value of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae processed by different methods. *PloS one*, 17(2), e0263924. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0263924>