

**KARYA AKHIR**

**EFEK EKSTRAK IKAN GABUS TERHADAP PENYEMBUHAN  
JARINGAN LUKA AKUT PADA TIKUS HIPERGLIKEMI**

*THE EFFECT OF SNAKEHEAD FISH EXTRACT ON ACUTE WOUND HEALING  
PROCESS IN HYPERGLYCEMIC RATS*

**Caroline Prisilia Marsella**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS GIZI KLINIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2021**

**EFEK EKSTRAK IKAN GABUS TERHADAP PENYEMBUHAN  
JARINGAN LUKA AKUT PADA TIKUS HIPERGLIKEMI**

Karya Akhir  
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Spesialis

Program Studi Ilmu Gizi Klinik  
Pendidikan Dokter Spesialis

**Caroline Prisilia Marsella**

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS GIZI KLINIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

**LEMBAR PENGESAHAN TUGAS AKHIR  
EFEK EKSTRAK IKAN GABUS TERHADAP PENYEMBUHAN  
JARINGAN LUKA AKUT PADA TIKUS HIPERGLIKEMI**

Disusun dan diajukan oleh :

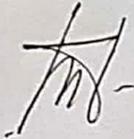
**Caroline Prisilia Marsella**

Nomor Pokok : C175171003

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam  
rangka penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Ilmu Gizi  
Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin  
Pada tanggal 08 Oktober 2021  
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

**Menyetujui**

**Pembimbing Utama**



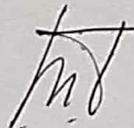
Prof. Dr. dr. Nurpudji A. Taslim, MPH, Sp.GK(K)  
NIP.195610201985032001

**Pembimbing Pendamping**



dr. Agussalim Bukhari, M.Med, Ph.D, Sp.GK(K)  
NIP. 197008211999031001

**Ketua Program Studi**



Prof. Dr. dr. Nurpudji A. Taslim, MPH, Sp.GK(K)  
NIP.195610201985032001



Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M., M.Med.Ed  
NIP. 196612311995031009

## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Caroline Prisilia Marsella  
NIM : C175171003  
Jenjang Pendidikan : PPDS  
Program studi : Ilmu Gizi Klinik

Menyatakan bahwa Karya Akhir yng berjudul **“Efek Ekstrak Ikan Gabus Terhadap Penyembuhan Jaringan Luka Akut Pada Tikus Hiperglikemi”** adalah BENAR merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan isi Karya Akhir ini hasil karya orang lain atau dikutip tanpa menyebut sumbernya, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 5 November 2021



(Caroline Prisilia Marsella)

## **PRAKATA**

Puji syukur saya ucapkan pada Tuhan Yang Maha Esa atas pemeliharaan dan karunia-Nya sehingga karya akhir ini dapat diselesaikan. Karya akhir ini merupakan salah satu persyaratan untuk menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Spesialis 1 Ilmu Gizi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.

Penulis menyadari bahwa karya akhir ini tidak dapat diselesaikan tanpa bantuan dari berbagai pihak. Oleh sebab itu dalam kesempatan ini, penulis dengan tulus menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. dr. Nurpudji A. Taslim, MPH, Sp.GK(K) sebagai Ketua Komisi Penasehat, Ketua Program Studi Ilmu Gizi Klinik, dan Pembimbing I pada Penelitian ini atas bimbingan, motivasi, masukan, dan arahan dalam proses menyelesaikan tugas PPDS dan karya akhir ini.
2. dr. Agussalim Bukhari, M.Med, Ph.D, Sp.GK(K) sebagai sekretaris komisi penasihat dalam tugas karya akhir saya yang senantiasa mendukung penulis dengan bimbingan dan nasihat selama menyelesaikan tugas PPDS dan karya akhir ini.
3. Dr. dr. A. Makbul Aman, Sp.PD-KEMD sebagai dosen pembimbing dan penilai untuk semua masukan dan bimbingan selama proses penelitian dan penyelesaian karya akhir.
4. dr. Aminuddin, M.Nut&Diet, Ph.D, Sp.GK sebagai dosen pembimbing statistik untuk semua masukan dan bimbingan selama proses penelitian dan penyelesaian karya akhir.
5. Dr. M. Husni Cangara, Ph.D, Sp.PA, DFM sebagai dosen pembimbing patologi anatomi untuk semua masukan dan bimbingan selama proses penelitian, penyelesaian karya akhir, dan penyusunan draft jurnal.
6. Prof. Dr.dr. Suryani As'ad, M.Sc, Sp.GK(K) sebagai dosen pengajar dalam mengajar dan membimbing selama menjalani program studi ilmu gizi klinik.
7. Prof. Dr. dr. Haerani A. Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, Sp.GK sebagai dosen pengajar dalam mengajar dan membimbing selama menjalani program studi ilmu gizi klinik.
8. Orang tua tercinta, Rudi Sie dan Vonny Emor serta saudara, Agnes Anastasia untuk dukungan , kesabaran , dan khususnya doa untuk penulis selama Pendidikan.
9. Suami tercinta, dr. Usman Darwis, M.Kes, Sp.A dan anak tercinta, Princeilo Aiden Pang untuk dukungan, kasih sayang, dan motivasi untuk penulis selama Pendidikan.

10. Teman-teman seangkatan saya, dr. Gienna, dr. Nur Fitriana, dr. Maryam, dr. Salmawati, dan dr. Dian untuk kerjasama, bantuan, dan dukungan selama pendidikan.
11. Rekan Penelitian, dr. Nur Fitriana dan dr. Ni Luh Eka atas dukungan dan kerjasamanya selama Penelitian.
12. Bapak Mus dan Bapak Wani selaku staf laboratorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin atas bantuannya selama proses Penelitian.
13. Staf Patologi Anatomi Rumah Sakit Universitas Hasanuddin atas bantuannya selama proses penelitian.
14. Semua rekan-rekan residen Ilmu Gizi Klinik untuk semua dukungan dan kebersamaan selama Pendidikan.

Akhir kata, penulis berharap semoga apa yang tertulis dalam karya akhir ini dapat menjadi bagian dari pengembangan ilmu pengetahuan serta berkontribusi nyata bagi Universitas Hasanuddin dan Indonesia.

Penulis,

Caroline Prisilia Marsella

## DAFTAR ISI

SAMPUL .....	i
HALAMAN JUDUL .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR.....	Error! Bookmark not defined.
PRAKATA.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
ABSTRAK.....	x
ABSTRACT.....	xi
DAFTAR SINGKATAN.....	xii
DAFTAR GAMBAR & TABEL.....	xiv
<b>BAB I : PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>A. Latar Belakang .....</b>	<b>1</b>
<b>B. Rumusan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>C. Tujuan Penelitian .....</b>	<b>4</b>
<b>D. Hipotesis Penelitian .....</b>	<b>4</b>
<b>E. Manfaat Penelitian .....</b>	<b>4</b>
<b>BAB II : TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>6</b>
<b>A. Fisiolofi Penyembuhan Jaringan Luka.....</b>	<b>6</b>

B.	Hiperglikemia.....	16
C.	<i>Channa striata</i> .....	18
D.	Hewan Percobaan Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	24
<b>BAB III : KERANGKA PENELITIAN .....</b>		<b>31</b>
A.	Kerangka Teori.....	31
B.	Kerangka Konsep .....	32
<b>BAB IV : METODE PENELITIAN.....</b>		<b>33</b>
A.	Rancangan Penelitian.....	33
B.	Tempat dan Waktu Penelitian.....	33
C.	Sampel Penelitian .....	33
D.	Perkiraan Besar Sampel.....	33
E.	Kriteria Sampel.....	34
F.	Alat Penelitian.....	34
G.	Prosedur Penelitian .....	35
H.	Izin Penelitian dan <i>Ethical Clearance</i> .....	40
I.	Identifikasi Variabel.....	40
J.	Definisi Operasional .....	41
K.	Rencana Manajemen dan Analisis Data.....	41
<b>BAB V : HASIL.....</b>		<b>43</b>
A.	Jumlah Sampel dan Karakteristik Dasar .....	43

<b>B. Makroskopis</b> .....	44
<b>C. Mikroskopis</b> .....	46
<b>BAB VI : PEMBAHASAN</b> .....	51
<b>BAB VII : KESIMPULAN</b> .....	54
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	55
<b>LAMPIRAN</b> .....	62

## ABSTRAK

Pendahuluan : Penyembuhan luka merupakan proses fisiologi terpadu sebagai respon terhadap cedera jaringan. Kondisi hiperglikemia dapat menyebabkan gangguan proses penyembuhan luka. Ikan gabus (*Channa striata*) adalah ikan air tawar yang umumnya ditemukan di Asia Tenggara yang memiliki kandungan tinggi protein, albumin, dan sejumlah mikronutrien. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi efek ekstrak ikan gabus pada proses penyembuhan luka akut pada tikus Hiperglikemia yang diinduksi streptozotocin.

Metode: Penelitian ini adalah percobaan eksperimental dalam model hewan hiperglikemia. Tiga puluh tikus Wistar jantan yang sebelumnya diinduksi streptozotocin dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok intervensi yang diberi ekstrak ikan gabus (Pujimin Plus®) 81mg/hari selama 10 hari setelah perlukaan dan kelompok kontrol yang diberikan karbokstil skiulosa natrium (Na-CMC). Pada hari 0, hari 3, dan hari ke-10 setelah perlukaan, perubahan histologis (neutrofil, fibroblast, dan vaskular jaringan luka) dari masing-masing kelompok dianalisis. Penilaian juga dilakukan pada gambaran makroskopis luka yang meliputi eritema dan krusta.

Hasil : Penelitian menunjukkan peningkatan jumlah fibroblast hari ke-3 secara signifikan pada kelompok ikan gabus dibandingkan dengan kelompok kontrol ( $40,33 \pm 10,13$  vs  $24,60 \pm 10,25$ ;  $p < 0,04$ ). Tidak ada perbedaan yang signifikan dalam jumlah vaskular dan neutrofil jaringan. Hasil juga menunjukkan kelompok intervensi memiliki skor visual eritema pada hari ke-3 yang lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol ( $3,24 \pm 0,25$  vs  $3,64 \pm 0,35$  Mean $\pm$ SD) dan skor visual krusta pada hari ke-5 kelompok intervensi lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol ( $3,36 \pm 0,75$  vs  $3,44 \pm 0,83$  Mean $\pm$ SD).

Kesimpulan : Ekstrak ikan gabus memiliki manfaat potensial pada proses penyembuhan luka dengan meningkatkan fibroblast, mengurangi eritema dan pembentukan krusta pada luka akut tikus hiperglikemik yang diinduksi streptozotocin.

Kata kunci: Ikan gabus, penyembuhan luka, hiperglikemia, fibroblast, neutrofil, vaskular

## ABSTRACT

**Introduction :** Wound healing is an integrated response to tissue injury. Hyperglycemic state can lead to delayed wound healing process. Snakehead fish (*Channa striata*) is native freshwater fish in South East Asia that contains high protein, albumin, and several micronutrients. The aim of this study is to evaluate the efficacy of Snakehead fish extract on acute wound healing process in streptozotocin-induced hyperglycemic rats.

**Methods :** This study was experimental trial in hyperglycemic animal model. Thirty male Wistar rats that previously streptozotocin-induced were divided into 2 groups which then given Snakehead fish extract (Pujimin Plus®) 81mg a day for 10 days after wound creation in intervention group and carboxymethyl cellulose sodium (Na-CMC) as control group. On day 0, day 3, and day 10 after wound creation, the histological changes (neutrophil, fibroblast and vascular of the wound tissues) of each group were analyzed. Assessments were also made on erythema and crust formation by the visual scores.

**Results :** Our study showed increase number of fibroblast on day 3 of the Snakehead fish extract group significantly compared to control group ( $40.33 \pm 10.13$  vs.  $24.60 \pm 10.25$ ,  $p < 0.04$ ). There were no significant differences in vascular and neutrophil tissue. The results also showed Snakehead fish extract could decrease erythema visual score on day 3 ( $3.24 \pm 0.25$  vs.  $3.64 \pm 0.35$  Mean $\pm$ SD) and decreased crust formation on day 5 ( $3.36 \pm 0.75$  vs  $3.44 \pm 0.83$  Mean $\pm$ SD).

**Conclusions :** Snakehead fish extract has potential effect to accelerate the wound healing process by increasing fibroblast, decreasing erythema and decreasing crust formation in streptozotocin-induced hyperglycemic rats.

**Keywords:** Snakehead fish, wound healing, hyperglycemia, fibroblast, neutrophil, vascular

## DAFTAR SINGKATAN

AA	<i>Arachidonic acid</i>
AMP	<i>Adenosine monophosphate</i>
DHA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DMT-1	<i>Divalent metal transporter-1</i>
EGF	<i>Epidermal growth factor</i>
<i>EGFP-PMN</i>	<i>Enhanced green fluorescence protein-Polymorphonuclear leukocyte</i>
Enos	<i>Endothelial nitric oxide synthase</i>
EPC	<i>Endothelial progenitor cell</i>
FGF	<i>Fibroblast growth factor</i>
GF	<i>Growth factor</i>
HIF	<i>Hypoxia-inducible factor</i>
IGF	<i>Insulin growth factor</i>
IL	<i>Interleukin</i>
IP-10	<i>Interferon-inducible protein of 10 kDa</i>
KGF	<i>Keratinocyte growth factor</i>
MCP-1	<i>Monocyte chemoattractant protein-1</i>
MDA	<i>Malondialdehyde</i>
MMP	<i>Matrix metalloproteinase</i>
NADPH	<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
NK- $\kappa$ B	<i>Nuclear Faktor-kappa B</i>
NO	<i>Nitric oxide</i>
PDGF	<i>Platelet-derived growth factor</i>
PF	<i>Platelet factor</i>
PMN	<i>Polymorphonuclear</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SDF-1 $\alpha$	<i>Stromal cell derived factor-1<math>\alpha</math></i>
SOD	<i>Superoxide Dismutase</i>
STZ	<i>Streptozotocin</i>

TGF	<i>Transforming growth factor</i>
TNF	<i>Tumor necrosis factor</i>
VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i>

## DAFTAR GAMBAR & TABEL

### *Daftar Gambar*

- Gambar 2.1 Fase-fase penyembuhan jaringan luka yang terjadi secara terintegrasi
- Gambar 2.2 Fase-fase penyembuhan jaringan luka berdasarkan waktu
- Gambar 2.3 Fase Hemostasis yang terjadi sesaat setelah terjadinya luka  
Analisa infiltrasi neutrofil pada luka tikus menggunakan EGFP-PMN  
fluorescence signal
- Gambar 2.4 Neutrofil pada proses penyembuhan luka
- Gambar 2.5 Gambar histopatologi neutrofil luka insisi pada jaringan kulit tikus
- Gambar 2.7 Fase inflamasi pada proses penyembuhan luka
- Gambar 2.8 Peran angiogenesis pada proses penyembuhan luka
- Gambar 2.9 Fase proliferasi yang ditandai oleh adanya aktivasi monosit pada area luka
- Gambar 2.10 Fibroblast aktif  
Fase *remodelling* yang awalnya ditandai oleh adanya jaringan skar tak  
beraturan
- Gambar 2.11 Mekanisme penyembuhan luka pada orang sehat dibandingkan pada penderita  
diabetes
- Gambar 2.12 Perubahan vaskular pada kondisi hiperglikemia
- Gambar 2.14 Mekanisme ekstrak *C. striata* pada penanganan diabetes mellitus  
Persentase ratio area luka pada tikus normal, tikus diabetes tipe 1 dan tikus  
diabetes tipe 2
- Gambar 2.15 Kurva skor rata-rata eritema menggunakan skor visual
- Gambar 5.1 Kurva skor rata-rata krusta menggunakan skor visual
- Gambar 5.2 Kurva perubahan neutrophil jaringan luka pada hari 0, III, dan X
- Gambar 5.4 Kurva perubahan fibroblast jaringan luka pada hari 0, III, dan X.
- Gambar 5.5 Kurva perubahan vaskular jaringan luka pada hari 0, III, dan X
- Gambar 5.6 Gambaran mikroskopis jaringan luka akut pada hari 0, III, dan X

## ***Daftar Tabel***

Tabel 2.1	Kandungan asam amino dan asam lemak pada <i>Channa striata</i>
Tabel 2.2	Kandungan nutrisi pada ekstrak <i>Channa striata</i> (Pujimin Plus®)
Tabel 2.3	Estimasi kebutuhan nutrisi harian pada hewan coba tikus
Tabel 2.4	Penelitian penyembuhan luka pada hewan coba secara <i>in vitro</i>
Tabel 2.5	Penelitian penyembuhan luka pada hewan coba secara <i>in vivo</i>
Tabel 2.6	Perbedaan fisiologis kulit manusia dan tikus
Tabel 5.1	Karakteristik dasar kadar glukosa darah tikus setelah induksi STZ
Tabel 5.2	Skor rata-rata eritema menggunakan skor visual
Tabel 5.3	Skor rata-rata krusta menggunakan skor visual
Tabel 5.4	Jumlah neutrophil per LPB pada jaringan luka akut
Tabel 5.5	Jumlah fibroblast per LPB pada jaringan luka akut
Tabel 5.6	Jumlah vaskular per LPB pada jaringan luka akut
Tabel 5.7	Dinamika perubahan gambaran mikroskopis jaringan luka

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Diabetes merupakan permasalahan global dengan jumlah penderita yang meningkat setiap tahunnya. Berdasarkan data *World Health Organization*, penderita diabetes di Indonesia pada tahun 2000 yaitu sebanyak 8,4 juta penduduk dan diperkirakan pada tahun 2030 akan meningkat hingga mencapai 21,3 juta penduduk. Data Riskesdas tahun 2018 menunjukkan terjadi peningkatan prevalensi diabetes di Indonesia dibandingkan data tahun 2013. Prevalensi diabetes di Provinsi Sulawesi Selatan pada tahun 2013 sebesar 1,65% naik menjadi 1,8% pada tahun 2018 (Kemenkes RI, 2018).

Kondisi hiperglikemi yang dialami penderita diabetes akan menyebabkan berbagai komplikasi baik makrovaskular maupun mikrovaskular. Penderita mudah mengalami luka namun luka tersebut umumnya mengalami gangguan proses penyembuhan luka yang dapat berkembang menjadi luka kronik terinfeksi. Adanya luka kronik terinfeksi akan meningkatkan resiko infeksi sistemik dan meningkatkan status inflamasi penderita. Analisa molekular dari biopsi epidermal pasien hiperglikemia, menunjukkan perlambatan penyembuhan luka. Hal ini dapat menurunkan kualitas hidup penderita, meningkatkan angka morbiditas dan mortalitas penderita. Oleh sebab itu, diperlukan pemahaman yang baik perihal proses penyembuhan luka serta intervensi yang tepat untuk mendukung proses penyembuhan luka yang baik (Stojadinovic *et al*, 2005) (Brem, Tomic-canic, 2007).

Secara fisiologis, proses penyembuhan luka terjadi dalam beberapa fase yaitu fase hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan *remodelling*. Fase hemostasis terjadi sesaat setelah terjadinya luka dimana fase ini bertujuan untuk menghentikan proses perdarahan. Fase selanjutnya adalah fase inflamasi yang terjadi hingga 3 hari setelah perlukaan yang ditandai dengan adanya migrasi leukosit seperti neutrofil dan makrofag pada area luka. Selanjutnya akan terbentuk jaringan granulasi pada fase proliferasi yang disertai sintesis matriks ekstraselular dan neovaskularisasi. Tahap akhir proses penyembuhan luka dapat terjadi dalam beberapa hari hingga bertahun-tahun. Pada fase ini, terjadi perubahan struktur, komposisi, dan densitas jaringan (Schultz, Moldawer & Diegelmann, 2011). Seluruh fase ini terjadi secara

terintegrasi dengan menggunakan berbagai sitokin dan kemokin yang dikeluarkan oleh keratinosit, fibroblast, sel endotel, makrofag, dan trombosit dan seluruh fase ini memerlukan lingkungan dan kondisi optimal untuk dapat berlangsung dengan baik. Pada kondisi hiperglikemia, terjadi inflamasi sistemik yang meningkatkan stress oksidatif, terganggunya migrasi dari leukosit pada area luka, disfungsi sel endotel, menurunnya sintesis matriks ekstraselular, dan gangguan pembentukan jaringan granulasi. Kondisi ini dapat menyebabkan proses penyembuhan luka yang terganggu (Brem, Tomic-canic, 2007).

Salah satu pilar utama dalam tatalaksana luka adalah nutrisi. Nutrisi berperan dalam menciptakan lingkungan dan kondisi yang optimal pada proses penyembuhan luka. Penelitian yang dilakukan oleh Said S, Taslim NA, Bahar B tahun 2016 menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara indeks massa tubuh, *nutritional risk index*, dan kadar albumin terhadap proses penyembuhan luka ( $p < 0.05$ ). Pasien dengan indeks massa tubuh yang normal ( $13.8 \pm 5.6$  hari) memiliki lama rawat inap yang lebih singkat dibandingkan pasien kurus ( $27.8 \pm 17.7$  hari) dan pasien gemuk ( $22.4 \pm 11.6$  hari). Terdapat kecenderungan pasien dengan asupan makanan lebih baik menunjukkan penyembuhan luka yang lebih baik (Said S, Taslim NA, Bahar B, 2016).

*Channa striatas* (Ikan gabus) merupakan sumber nutrisi yang mengandung protein dan albumin yang tinggi. Albumin dan protein berperan sebagai antioksidan dan zat pembangun jaringan. Selain itu, *C. striata* kaya akan asam amino yang diperlukan dalam regulasi pembentukan sistem imun (Daud, 2010). Rata-rata *C. striata* mengandung protein  $78.32 \pm 0.23\%$ . Ikan ini juga mengandung glicin, asam arachidonate (AA) 20:4 $\omega$ 6 dan asam dokosaheksaenoic (DHA) 22:6 $\omega$ 3 yang dapat meregulasi sintesis prostaglandin untuk menginduksi proses penyembuhan luka (Rahman *et al*, 2018) (Mat Jais, 2007). Terdapat beberapa penelitian yang melaporkan bahwa *C. striata* dapat mendukung penyembuhan luka dengan menginisiasi sintesis kolagen dan re-epitelisasi jaringan yang rusak sehingga direkomendasikan pada pasien-pasien post operasi untuk penyembuhan luka (Gibson, 1983). Siswanto dkk menunjukkan bahwa pemberian *C. striata* secara signifikan meningkatkan fibroblast pada luka mukosa oral tikus Wistar (Siswanto, Dewi & Hayatie, 2016).

Saat ini, berbagai ekstrak ikan gabus telah dipasarkan untuk memudahkan konsumen dalam mendapatkan manfaat ekstrak ikan gabus. Proses pengolahan ikan sangatlah

penting untuk menjaga kualitas kandungan pada saat proses ekstraksi sehingga didapatkan manfaat yang maksimal (Asfar M & Tawali AB, 2019). Salah satu produk ekstrak ikan gabus dengan merek Pujimin® memiliki sejumlah penelitian yang menunjukkan efikasi produk ini pada kondisi hypoalbuminemia dan pada penyembuhan luka. Pada tahun 2019, produk Pujimin meningkatkan proses pengolahan sehingga mendapatkan kadar albumin yang lebih tinggi dengan kestabilan produk yang lebih baik dengan nama Pujimin Plus® (Fauzan MR, Dahlan CK, Taslim NA, Syam A, 2020).

Walaupun telah ada beberapa penelitian terkait manfaat ekstrak *C. striata* pada penyembuhan luka serta manfaatnya pada penderita diabetes, namun kondisi perlukaan pada berbagai penelitian memiliki ukuran dan kondisi luka yang berbeda. Adanya perbedaan jenis luka, ukuran luka, dan faktor asupan makanan dapat menjadi perancu dalam menilai efek ekstrak ikan gabus terhadap penyembuhan jaringan luka. Pemberian pada perlukaan dengan kondisi hiperglikemi dengan menganalisa mikroskopis jaringan luka masih sangat sedikit dilakukan (Siswanto *et al*, 2016; Cavalcante *et al*, 2011, Hendriati *et al*, 2019).

Oleh karena itu berdasarkan hal tersebut maka penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh efek ekstrak ikan gabus terhadap penyembuhan jaringan luka akut pada tikus hiperglikemi dengan menganalisa perubahan makroskopis dan mikroskopis jaringan luka dengan melakukan homogenisasi pada hewan coba melalui perlukaan dengan metode yang sama.

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah di atas dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut :“Apakah ada hubungan antara pemberian ekstrak *Channa striata* (Ikan Gabus) terhadap penyembuhan luka akut pada tikus hiperglikemi?”

### **C. Tujuan Penelitian**

#### **a. Tujuan Umum**

Mengetahui efek pemberian ekstrak ikan gabus terhadap penyembuhan jaringan luka akut pada tikus hiperglikemi.

#### **b. Tujuan Khusus**

1. Menilai hubungan antara kondisi hiperglikemia terhadap perubahan makroskopis luka pada proses penyembuhan jaringan luka akut pada tikus hiperglikemia.
2. Menilai efek pemberian ekstrak ikan gabus terhadap perubahan histopatologi neutrofil pada proses penyembuhan jaringan luka akut pada tikus hiperglikemia.
3. Menilai efek pemberian ekstrak ikan gabus terhadap perubahan histopatologi fibroblast pada proses penyembuhan jaringan luka akut pada tikus hiperglikemia.
4. Menilai efek pemberian ekstrak ikan gabus terhadap perubahan histopatologi vaskular pada proses penyembuhan jaringan luka akut pada tikus hiperglikemia.

### **D. Hipotesis Penelitian**

Terjadi perubahan jaringan pada proses penyembuhan luka akut pada tikus hiperglikemi yang diberikan ekstrak ikan gabus.

### **E. Manfaat Penelitian**

Adapun manfaat penelitian :

#### **1. Pengembangan ilmu**

Penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi tentang efek ekstrak ikan gabus terhadap proses penyembuhan jaringan luka akut pada tikus hiperglikemi sehingga menjadi informasi tambahan bagi penelitian selanjutnya.

## 2. Aplikasi klinik

Penelitian ini diharapkan dapat memberi pemahaman proses penyembuhan jaringan luka akut, serta efek ekstrak ikan gabus sebagai terapi nutrisi pada proses penyembuhan luka akut khususnya pada kondisi hiperglikemi.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

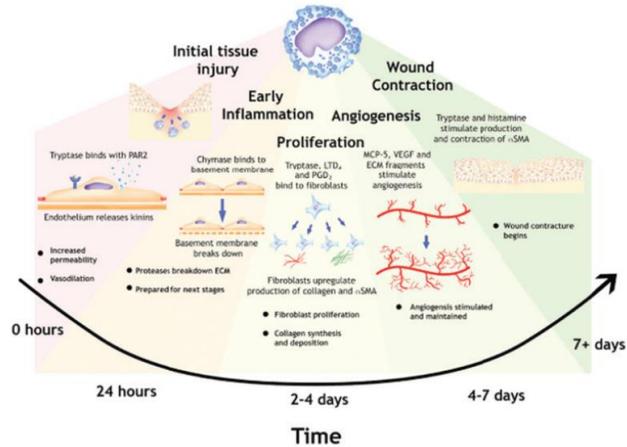
#### A. Fisiologi Penyembuhan Jaringan Luka

Luka didefinisikan sebagai kondisi terganggunya integritas jaringan. Kulit merupakan organ terbesar pada tubuh manusia dengan luas rata-rata pada orang dewasa sebesar 7.620 cm<sup>2</sup>. Terdapat beberapa jenis perlukaan terbuka pada kulit seperti laserasi, luka tusuk, abrasi, avulsi, dan amputasi. Luka akut merupakan kondisi luka yang terjadi sesaat setelah rusaknya integritas jaringan. Pada kondisi normal, proses penyembuhan jaringan terjadi sesuai tahap fisiologi penyembuhan luka. Proses penyembuhan jaringan yang tidak baik misalnya akibat infeksi atau kurangnya nutrisi optimal, dapat menyebabkan gangguan penyembuhan luka sehingga luka berkembang menjadi kronik (Chandan KS, Sashwati R, Gordilo, 2020).

Luka akut secara fisiologi terdiri dari beberapa tahap yaitu fase hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan *remodelling*. Namun pada perkembangan proses penyembuhan jaringan luka, proses tersebut dapat memanjang dan menjadi kronik. Hal ini dapat terjadi pada setiap fase sehingga menyebabkan jaringan fibrosis dan ulserasi yang tidak sembuh. Proses penyembuhan jaringan luka bersifat kompleks dan melibatkan berbagai sel-sel dengan fungsi-fungsi spesifik seperti trombosit, makrofag, fibroblast, sel epitel, dan sel endotel. Sel-sel ini saling berinteraksi antara sel dan matriks ekstraselular (Schultz, Moldawer & Diegelmann, 2011).



Gambar 2.1 : Fase-fase penyembuhan jaringan luka yang terjadi secara terintegrasi (Schultz, Moldawer & Diegelmann, 2011)

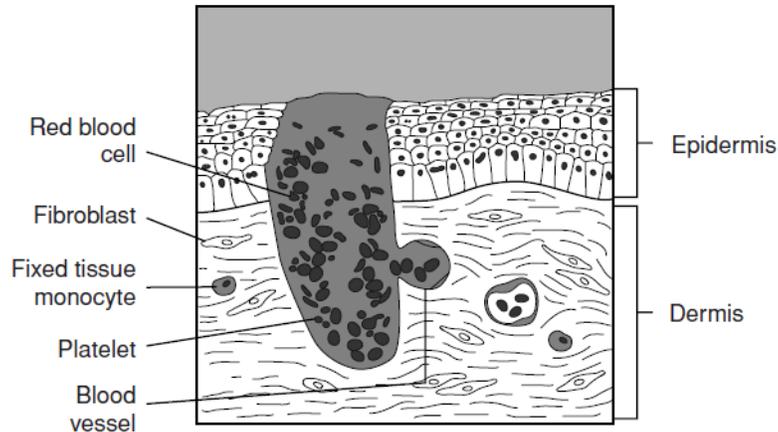


Gambar 2.2 : Fase-fase penyembuhan jaringan luka berdasarkan waktu (Oskeritzian, 2011)

- Fase Hemostasis

Fase hemostasi terjadi sesaat setelah perlukaan. Fase ini bertujuan untuk mencegah eksanguinasi. Pada fase ini terjadi vasokonstriksi dan aktivasi, adhesi, serta agregasi trombosit pada area luka. Trombosit teraktivasi ketika terekspos dengan kolagen ekstraseluler (misalnya kolagen tipe I) via reseptor integrin spesifik pada permukaan sel yang memediasi interaksi terhadap matriks ekstraseluler (Schultz, Moldawer & Diegelmann, 2011).

Pada saat kontak dengan kolagen, trombosit akan mengeluarkan mediator (faktor pertumbuhan (*growth factor*) dan AMP siklik) dan glikoprotein adhesif yang akan membuat agregasi menjadi semakin lengket. Glikoprotein yang dikeluarkan oleh granula alfa trombosit mengandung fibrinogen, fibronectin, thrombospondin, dan faktor von Willebrand. Faktor pertumbuhan juga dikeluarkan oleh granula alfa trombosit mengandung *platelet-derived growth factor (PDGF)*, *transforming growth factor- $\beta$  (TGF $\beta$ )*, *transforming growth factor- $\alpha$  (TGF $\alpha$ )*, *insulin-like growth factor-I (IGF-I)*, dan *vascular endothelial growth factor (VEGF)*. Pada fase hemostasi ini, terjadi agregasi dan deposit trombosit, interaksi dengan mediator dan faktor pertumbuhan dengan matriks ekstraseluler (Schultz, Moldawer & Diegelmann, 2011).



Gambar 2.3 : Fase Hemostasis yang terjadi sesaat setelah terjadinya luka. Pada fase ini terjadi interaksi antara trombosit dan matriks ekstraselular yang membentuk bekuan untuk menghentikan perdarahan dan mengeluarkan berbagai faktor pertumbuhan. (Schultz, Moldawer & Diegelmann, 2011)

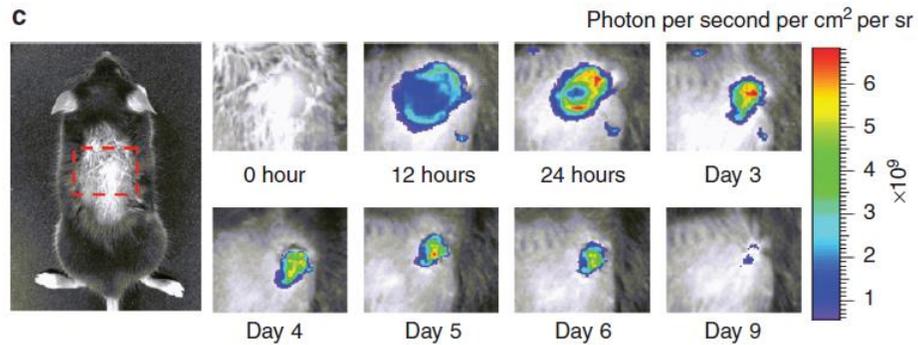
- Fase Inflamasi

Fase inflamasi terjadi dalam 24 jam pertama setelah terjadinya luka. Fase ini dapat memanjang pada kondisi luka kronik. Pada fase ini, sel Mast mengeluarkan granul-granul yang berisi enzim-enzim, histamin, dan amin aktif lainnya. Pada fase ini, secara klinis didapatkan tanda-tanda inflamasi seperti *rubor*, *calor tumor*, dan *dolor* pada area sekitar luka. Neutrofil, monosit, dan makrofag melepaskan sitokin pro-inflamasi seperti IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , dan faktor pertumbuhan (PDGF, TGF $\beta$ , TGF $\alpha$ , IGF-I, FGF) yang terlibat pada aktivasi fibroblasi dan sel epitel. Selain itu, dikeluarkan pula kemokin seperti *monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)*, *macrophage inflammatory protein-1 (MIP-1)*, *platelet factor-4 (PF-4)*, dan *interferon-inducible protein of 10 kDa (IP-10)*. Kemokin akan menarik dan mengaktifasi neutrofil, limfosit, makrofag, eosinofil, dan basofil selama fase inflamasi (Schultz, Moldawer & Diegelmann, 2011).

- *Neutrofil*

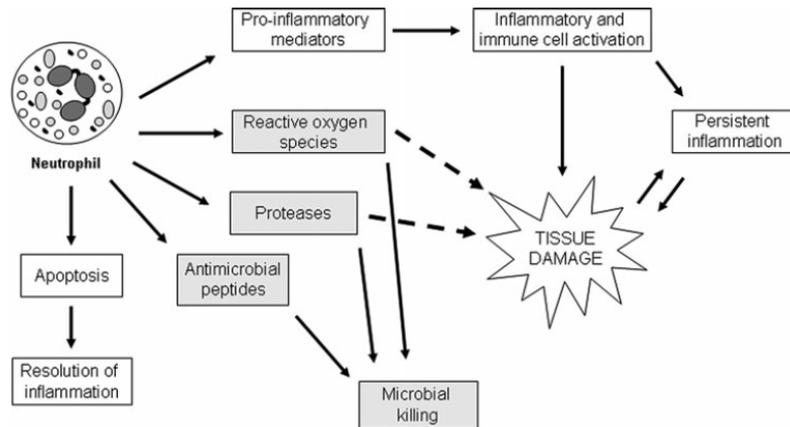
*Polymorphonuclear (PMN)* dalam hal ini yaitu neutrofil, merupakan leukosit pertama yang teraktivasi oleh respon mediator. Neutrofil berperan dalam melawan infeksi melalui proses fagositosis patogen dan benda asing. Neutrofil juga mengeluarkan mediator inflamasi seperti TNF $\alpha$  dan IL-1 yang dapat menarik dan mengaktifasi fibroblast dan sel epitel. Setelah migrasi neutrofil ke area luka,

neutrofil akan menghasilkan protease kadar tinggi (elastase dan kolagenase) yang dapat membersihkan komponen matriks ekstraselular yang rusak pada saat perlukaan (Schultz, Moldawer & Diegelmann, 2011). Umumnya kadar neutrofil mulai meningkat pada 24-48 jam pertama setelah perlukaan dan akan menurun setelah 2-3 hari perlukaan melalui proses apoptosis dan digantikan oleh makrofag jaringan (Kim *et al*, 2008).

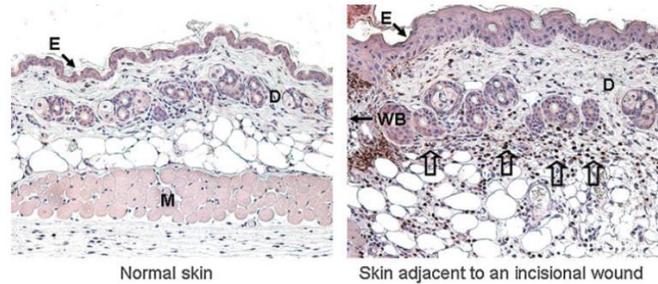


Gambar 2.4 : Analisa infiltrasi neutrofil pada luka tikus menggunakan *Enhanced green fluorescence protein-Polymorphonuclear leukocyte (EGFP-PMN fluorescence) signal* menunjukkan sifat dinamis neutrofil pada proses penyembuhan luka. (Kim *et al*, 2008)

Aktivasi neutrofil pada proses penyembuhan luka untuk mencegah infeksi pada luka melalui proses fagositosis. Pada saat fagositosis, neutrofil akan menghasilkan *reactive oxygen species*, proteasi, dan peptida antimikroba untuk membunuh mikroba. Respon ini bersifat fisiologis, jika proses ini terjadi pada neutrofil namun, jika produk tersebut dapat menyebabkan kerusakan jaringan jika dikeluarkan ekstraselular. Protease yang berlebihan dapat mendegradasi matriks ekstraselular dan menyebabkan kondisi inflamasi yang lebih berat. Oleh sebab itu, diharapkan proses apoptosis neutrofil oleh makrofag terjadi untuk mendukung proses penyembuhan jaringan secara fisiologis (Wilgus, Roy, dan McDaniel, 2013).



Gambar 2.5 : Neutrofil pada proses penyembuhan luka (Wilgus, Roy, dan McDaniel, 2013)

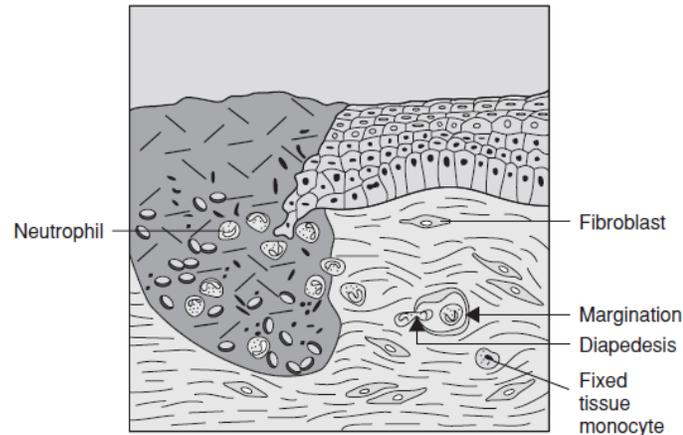


Gambar 2.6 : Gambar histopatologi luka insisi pada jaringan kulit tikus 48 jam setelah perlukaan. Tanda panah menunjukkan jumlah neutrofil yang banyak pada area luka. (Wilgus, Roy, dan McDaniel, 2013)

o *Makrofag*

Aktivasi makrofag berperan penting pada regulasi penyembuhan luka. Makrofag mulai berada pada area luka sekitar 24 jam setelah perlukaan dan berperan pada proses fagositosis patogen dan menghilangkan jaringan rusak melalui aktivitas matriks metalloproteinase (MMP) dan elastase. Perbedaan utama makrofag dan neutrofil adalah kemampuan mereka dapat meregulasi destruksi proteolitik jaringan luka melalui sekresi inhibitor untuk protease. Makrofag juga memediasi transisi dari fase inflamasi ke fase proliferasi. Makrofag juga menghasilkan faktor-faktor pertumbuhan dan sitokin-sitokin (PDGF, TGF $\beta$ , TGF $\alpha$ , IGF-I, FGF, TNF $\alpha$ , IL-1, dan IL-6) yang berperan pada penarikan dan aktivasi fibroblast yang akan

menyintesis, mendeposit, dan mengatur matriks jaringan baru serta mendukung proses angiogenesis. Tidak adanya neutrofil dan berkurangnya jumlah makrofag sebagai indikator berakhirnya fase inflamasi dan mulainya fase proliferasi (Schultz, Moldawer & Diegelmann, 2011).



Gambar 2.7 : Fase inflamasi pada proses penyembuhan luka yang ditandai dengan adanya neutrofil pada sel endotel vascular area luka (marginasi), perubahan bentuk tautan sel (diapedesis) dan migrasi ke area luka (kemotaksis) (Schultz, Moldawer & Diegelmann, 2011)

- Fase Proliferasi

Fase proliferasi ditandai dengan pergantian matriks fibrin menjadi matriks kolagen, proteoglikan, dan fibronektin untuk mengembalikan struktur dan fungsi jaringan yang terluka. Proses penting lainnya pada fase ini adalah angiogenesis dan formasi jaringan granulasi serta epitelisasi (Schultz, Moldawer & Diegelmann, 2011).

- *Migrasi fibroblast*

Migrasi fibroblast ke area luka dimediasi oleh mediator-mediator yang dikeluarkan oleh trombosit dan makrofag. Migrasi fibroblast ke matriks ekstraselular dipengaruhi oleh interaksi antara komponen spesifik pada matriks. Fibroblast pada dermis normal secara tipikal tersebar dan pasif sedangkan pada area luka dan pada jaringan granulasi bersifat cukup aktif dan banyak. Migrasi dan akumulasi fibroblast pada area luka membutuhkan perubahan morfologi dan menyekresikan protease untuk mendukung pergerakan dari matriks ekstraselular ke area luka.

Migrasi fibroblast pertama dimulai melalui dengan cara berikatan pada komponen matriks seperti fibronectin, vitronektin, dan fibrin via reseptor integrin. Selanjutnya, fibroblast akan menyekresikan enzim proteolitik lokal untuk memfasilitasi perpindahannya pada matriks. Enzim yang disekresikan meliputi 3 jenis MMP yaitu: kolagenase (MMP1), gelatinase (MMP2 dan MMP9), dan stromelysin (MMP3) (Schultz, Moldawer & Diegelmann, 2011).

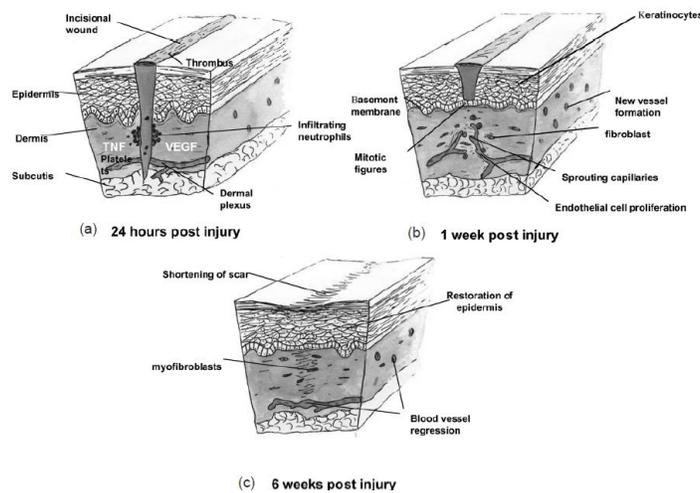
○ *Produksi kolagen dan matriks ekstraselular*

Kolagen, proteoglikan, dan komponen jaringan granulasi lainnya disintesis dan dideposit secara primer oleh fibroblast. PDGF dan TGF $\beta$  yang disekresikan oleh trombosit dan makrofag adalah 2 faktor pertumbuhan yang berperan penting pada aktivitas fibroblast. PDGF menstimulasi fungsi fibroblast termasuk proliferasi, kemotaksis, dan ekspresi kolagenase. TGF $\beta$  mengontrol sinyal regulasi deposit matriks ekstraselular sehingga meningkatkan produksi protein matriks dan melakukan *down regulation* pada protease. Fibroblast yang telah bermigrasi ke dalam matriks akan melekat pada matriks lalu mulai menyintesis komponen jaringan granulasi seperti kolagen, elastin, dan proteoglikan. Setidaknya disintesis 20 tipe kolagen namun kolagen tipe III yang banyak disintesis pada fase ini (Schultz, Moldawer & Diegelmann, 2011).

○ *Angiogenesis*

Proses angiogenesis distimulasi oleh faktor lokal meliputi tekanan oksigen rendah, pH rendah, dan kadar laktat yang tinggi. Ketika kadar oksigen pada jaringan berkurang, maka terjadi peningkatan kadar *hypoxia-inducible factor (HIF)* dalam sel. HIF akan berikatan dengan DNA spesifik dan menstimulasi gen transkripsi spesifik seperti VEGF. Ketika kadar oksigen pada area luka meningkat, oksigen akan berikatan dengan HIF yang akan menyebabkan destruksi molekul HIF dalam sel sehingga terjadi penurunan faktor angiogenik. Proses ini berlanjut hingga sistem kapiler cukup dan oksigenasi jaringan terpenuhi (Schultz, Moldawer & Diegelmann, 2011).

VEGF merupakan faktor pertumbuhan vaskular yang utama pada seluruh proses angiogenesis. VEGF dihasilkan dalam 24 jam setelah perlukaan dan akan memicu proliferasi endotel sehingga proses angiogenesis mulai berkembang dalam 1 minggu setelah perlukaan. VEGF berperan dalam menstimulasi proliferasi dan migrasi sel endotel, degradasi membran sel, formasi lumen, peningkatan permeabilitas vaskular, dan formasi neovaskular. Ekspresi VEGF perlahan berkurang setelah oksigenasi pada jaringan luka mulai membaik (Bates dan Jones, 2003).



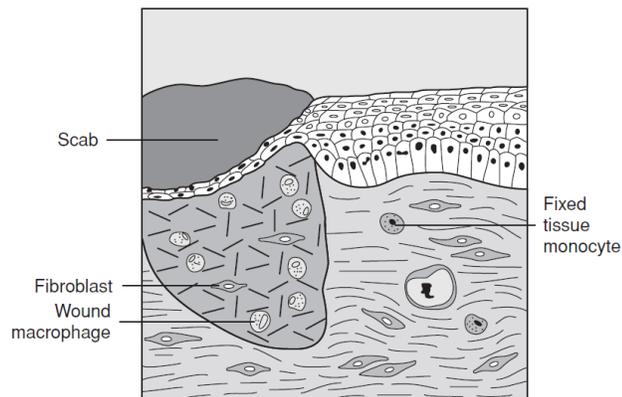
Gambar 2.8 : Peran angiogenesis pada proses penyembuhan luka. VEGF dihasilkan sekitar 24 jam setelah perlukaan dan proses angiogenesis mulai berkembang dalam 1 minggu melalui proses proliferasi sel endotel. Setelah 6 minggu, terjadi regresi neovaskular dan tidak adanya ekspresi VEGF (Bates dan Jones, 2003)

- *Granulasi*

Jaringan granulasi secara transisional menggantikan dermis normal yang akan maturasi menjadi skar pada fase *remodelling*. Jaringan granulasi ditandai dengan adanya densitas kapiler yang tinggi, peningkatan densitas fibroblast dan makrofag, serta jaringan kolagen yang teratur (Schultz, Moldawer & Diegelmann, 2011). Jaringan granulasi mulai terbentuk 2-3 hari sejak perlukaan yang dominan terdiri dari fibroblast (Masoko, Picard, dan Eloff, 2010).

- *Epitelisasi*

Epitelisasi merupakan proses kompleks yang melibatkan perlengketan sel epitel dan perubahan struktur, proliferasi, dan diferensiasi epitel. Epidermis yang intak terdiri dari 5 lapis epitel terdiferensiasi namun hanya lapisan basalis yang dapat berproliferasi. Sel antar epitel pada stratum basalis dihubungkan dengan desmosom dan dengan membrana basalis oleh hemidesmosom. Ketika faktor pertumbuhan seperti EGF, KGF, dan TGF $\alpha$  dikeluarkan selama proses penyembuhan luka, faktor tersebut akan berikatan dengan reseptor pada sel epitel dan menstimulasi migrasi dan proliferasi (Schultz, Moldawer & Diegelmann, 2011).



Gambar 2.9 : Fase proliferasi yang ditandai oleh adanya aktivasi monosit pada area luka dan menyekresikan faktor-faktor pertumbuhan yang menstimulasi proliferasi fibroblast, sel epidermis, dan sel endotel serta memproduksi jaringan skar (Schultz, Moldawer & Diegelmann, 2011)

### *Peran fibroblast pada proses penyembuhan luka*

Fibroblast merupakan tipe sel stromal dominan pada jaringan penyambung lunak yang berbentuk kumparan atau bintang ‘*stellate*’ (fibroblast aktif). Sel ini dan produk matriks ekstraselularnya berperan penting dalam mempertahankan integritas struktur jaringan penyambung termasuk pada proses penyembuhan luka (Ravikanth *et al*, 2011).

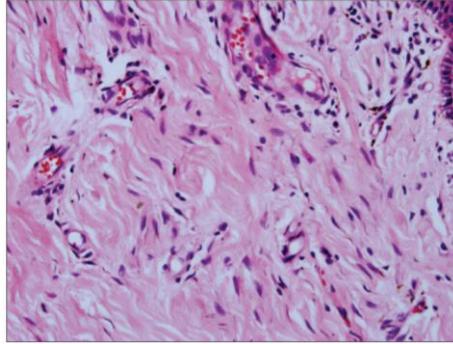


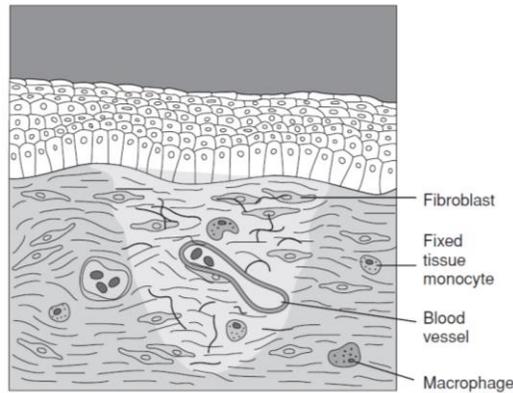
Figure 1: Active fibroblasts, 20x

Gambar 2.10 : Fibroblast aktif (Ravikanth *et al*, 2011)

Fibroblast bermigrasi pada area luka dan mencapai jumlah terbanyak mulai pada hari ke-7 hingga hari ke-14 setelah luka (Bazzaz, *et al*, 2013). Fibroblast berperan pada proses angiogenesis via sekresi FGF-2. Fibroblast juga memproduksi kolagen tipe I, III, V, dan komponen matriks ekstraselular lainnya. Pada proses *remodelling*, jaringan kolagen tipe III akan digantikan oleh jaringan kolagen tipe I (Oentaryo *et al*, 2016) (Olczyk, Mencner, dan Komosinska-Vassev, 2014).

- *Fase Remodelling*

Fase *remodelling* merupakan fase akhir proses penyembuhan luka yang mencakup maturasi jaringan granulasi menjadi skar dan peningkatan kekuatan jaringan. Fase ini mulai terjadi dalam 10-14 hari setelah terjadinya luka, umumnya hingga 3 minggu setelah luka namun dapat juga memanjang hingga menahun. Selain maturasi jaringan granulasi meliputi penurunan jumlah kapiler, terjadi pula penurunan jumlah glikosaminoglikan (Schultz, Moldawer & Diegelmann, 2011). Densitas sel dan aktivitas metabolik pada jaringan granulasi menurun selama maturasi. Perubahan tipe kolagen juga terjadi, dimana kolagen tipe III digantikan oleh kolagen tipe I. Kekuatan tegangan jaringan pada luka yang baru epitelisasi hanya sekitar 25% dari jaringan sehat sehingga proses penyembuhan jaringan tidak akan membuat jaringan sekuat saat sehat dulunya. Beberapa bulan kemudian, perubahan susunan kolagen secara perlahan akan meningkatkan kekuatan tegangan jaringan maksimum 80% dari jaringan sehat. Pada fase ini pula, terjadi penurunan aktivitas protease (Gonzalez *et al*, 2016).



Gambar 2.11 : Fase *remodelling* yang awalnya ditandai oleh adanya jaringan skar tak beraturan. Secara perlahan, jaringan skar akan digantikan oleh matriks teratur seperti kulit normal (Schultz, Moldawer & Diegelmann, 2011)

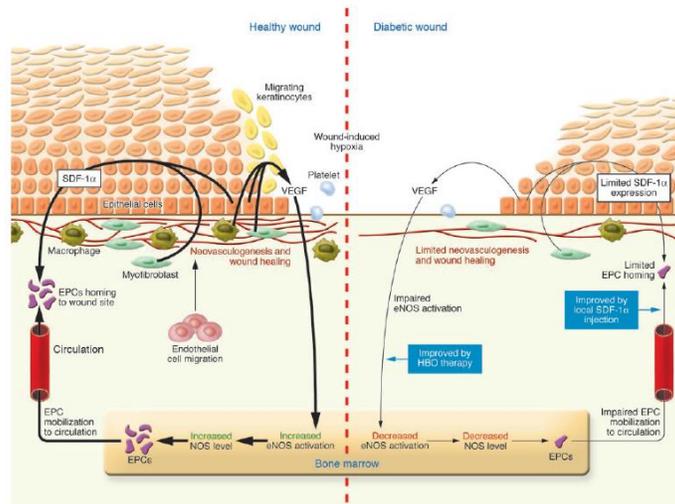
## B. Hiperglikemia

### Dampak hiperglikemia pada proses penyembuhan luka

Pada kondisi hiperglikemia, yang umumnya dialami oleh penderita diabetes, terjadi berbagai perubahan proses penyembuhan luka yang meliputi menurunnya produksi faktor pertumbuhan, respon angiogenik, fungsi makrofag, pertahanan epidermal, jumlah jaringan granulasi, serta terganggunya proliferasi dan migrasi keratinosit dan fibroblast. Analisa molekular dari biopsi epidermal pasien hiperglikemia, menunjukkan perlambatan penyembuhan luka. Hal ini ditunjukkan dengan adanya ekspresi berlebih *c-myc* dan  $\beta$ -katenin serta berkurangnya migrasi keratinosit (Stojadinovic *et al*, 2005) (Brem, Tomic-canic, 2007).

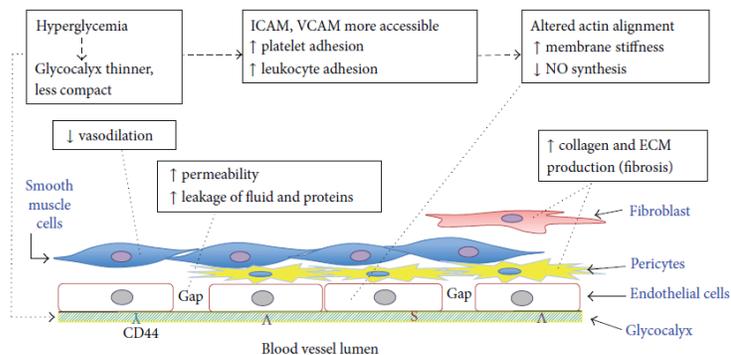
Pada individu sehat, proses penyembuhan luka akut terjadi secara terintegrasi dengan menggunakan berbagai sitokin dan kemokin yang dikeluarkan oleh keratinosit, fibroblast, sel endotel, makrofag, dan trombosit. Selama kondisi hipoksia jaringan akibat luka, *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dikeluarkan oleh makrofag, fibroblast, dan sel epitel untuk menginduksi fosforilasi dan aktivasi *endothelial nitric oxide synthase* (eNOS) pada sumsum tulang sehingga terjadi peningkatan kadar *nitric oxide* (NO) yang menstimulasi mobilisasi *endothelial progenitor cell* (EPC) sumsum tulang ke sirkulasi. Kemokin *stromal cell derived factor-1 $\alpha$*  (SDF-1 $\alpha$ ) menstimulasi EPC ini ke area luka dan berpartisipasi pada proses neovasculogenesis. (Brem, Tomic-canic, 2007).

Gallagher dkk menunjukkan bahwa terjadi gangguan fosforilasi eNOS pada sumsum tulang terganggu pada kondisi hiperglikemia sehingga secara langsung membatasi mobilisasi EPC dari sumsum tulang ke sirkulasi. Penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa ekspresi SDF-1 $\alpha$  menurun pada sel epitel dan myofibroblast sehingga mencegah EPC berada pada area luka (Gallagher *et al*, 2007) (Brem, Tomic-canic, 2007).



Gambar 2.12 : Mekanisme penyembuhan luka pada orang sehat dibandingkan pada penderita diabetes (Brem, Tomic-canic, 2007)

Hyaluronan merupakan glykosaminoglikan pada jaringan mamalia yang terdiri dari 2 jenis subunit gula yaitu asam glukuronik dan N-asetilglukosamin. Adanya kondisi hiperglikemia dapat menyebabkan berkurangnya hyaluronan pada permukaan endotel sehingga memicu adhesi leukosit dan pengeluaran sitokin pro-inflamasi. Aktivasi pro-inflamasi berlebih akan meningkatkan stres oksidatif jaringan, mengganggu proses angiogenesis, dan proses penyembuhan jaringan luka. Kondisi ini juga dapat meningkatkan sensitifitas terhadap sitokin pro-fibrotik seperti TGF- $\beta$  (Shakya *et al*, 2014).



Gambar 2.13 : Perubahan vaskular pada kondisi hiperglikemia (Shakya *et al*, 2014)

### C. *Channa striata*

#### Kandungan *Channa striata*

Ikan gabus (*C. striata*) merupakan ikan laut tawar yang umumnya ditemukan pada daerah tropis seperti negara-negara Asia Tenggara. *C. striata* merupakan sumber protein yang tinggi dibanding ikan-ikan lain yang sering dikonsumsi masyarakat Indonesia seperti lele, nila, bandeng, dan ikan mas. Mustafa *et al* menjelaskan bahwa kandungan protein yang terdapat di dalam ikan gabus ini sebesar 25.5%, lebih tinggi dibandingkan dengan ikan bandeng (*milkfish*) 20.0%, ikan emas (*goldfish*) 16.05%, *snapper* 20.0%, dan sardin 21.1%. Mayoritas ekstrak protein dari ikan gabus adalah albumin, yaitu sebesar 64.61% dari total protein. Kurang lebih 17 asam amino telah berhasil diidentifikasi pada ikan ini. Asam amino utama yang diidentifikasi adalah asam glutamat, glisin, leusin, asam aspartat, prolin, alanine dan arginine (Zuraini *et al*, 2006). Asam amino terbanyak pada ikan gabus ini adalah asam amino yang diperlukan dalam regulasi pembentukan sistem imun (Daud, 2010).

Fatma N., Metusalach, Taslim N. A., *et al* melakukan penelitian terkait kandungan protein dan albumin pada beberapa jenis ikan termasuk *C. striata* di Sulawesi Selatan, Indonesia. Dari hasil penelitian tersebut, didapatkan kandungan protein total pada daging ikan sebesar 21,32-27,97% (w/w) dimana protein larut air sebesar 16,67-28,78% dari seluruh total protein daging ikan (Fatma N., Metusalach, Taslim N. A., *et al*, 2020).

Rata-rata *C. striata* mengandung protein  $78.32 \pm 0.23\%$ , lemak  $2.08 \pm 0.08\%$ , dan vitamin A  $0.265 \pm 0.013$  mg. Ikan ini juga mengandung glisin, asam arachidonate (AA) 20:4 $\omega$ 6 dan asam

dokosaheksaenoic (DHA) 22:6 $\omega$ 3 yang tinggi. Asam lemak ini merupakan asam lemak rantai ganda tidak jenuh yang dapat meregulasi sintesis prostaglandin untuk menginduksi proses penyembuhan luka. (Rahman *et al*, 2018) (Mat Jais, 2007) *C. striata* juga kaya akan albumin, zinc, tembaga (Cu), dan Mangan (Mn). Kandungan albumin yang diekstrak dari 100g *C. striata* sebesar 8,401 g, zinc sebanyak 4,917  $\mu$ g, tembaga sebanyak 4,669  $\mu$ g, dan mangan sebanyak 1,796  $\mu$ g (Hendriati *et al*, 2019).

Pada awalnya *C. striata* lebih dikenal memiliki manfaat terutama untuk dapat mempercepat penyembuhan luka serta mampu menaikkan kadar albumin. Kadar albumin yang rendah terutama pada keadaan malnutrisi, kelaparan, dan keadaan patologi pada pencernaan sehubungan dengan penyerapan protein. Namun saat ini, ekstrak *C. striata* digunakan sebagai bagian dari terapi nutrisi untuk perbaikan sistem imun, meningkatkan kadar Albumin, dan membantu proses penyembuhan luka. Terdapat beberapa penelitian yang melaporkan bahwa *C. striata* dapat mendukung penyembuhan luka dengan menginisiasi sintesis kolagen dan re-epitelisasi jaringan yang rusak sehingga direkomendasikan pada pasien-pasien post operasi untuk penyembuhan luka (Gibson, 1983).

Tabel 2.1 : Kandungan asam amino dan asam lemak pada *C. striata* (Shafri, 2012)

	Fillet	Roe	Mucus
Amino acids	Glycine		
	Glutamic acid	(No study)	(No study)
	Arginine		
	Aspartic acid		
Fatty acids	Eicosapentaenoic Acid (EPA)	Eicosapentaenoic Acid (EPA)	Oleic acid
	Docosahexaenoic Acid (DHA)	Docosahexaenoic Acid (DHA)	Linoleic acid
	Palmitic acid	Hexadecanoic acid	
	Oleic acid	Oleic acid	
	Stearic acid	Linoleic acid	
	Arachidonic acid		

### *Ekstrak Channa striata*

Telah diketahui banyaknya manfaat dari *C. striata* namun ikan ini masih kurang disukai untuk dikonsumsi oleh masyarakat karena bentuknya yang menakutkan seperti ular dan berbau amis. Sekarang ini, telah dikembangkan ekstrak *C. striata* baik dalam bentuk cair maupun kapsul sehingga masih tetap dapat dikonsumsi dan mendapatkan manfaat dari ikan ini.

Kandungan nutrisi yang tinggi pada *C. striata* dan berbagai bukti khasiat klinis pada proses penyembuhan pasien serta mahalanya preprat albumin komersial juga membuat *C. striata* menjadi alternatif sumber albumin yang terjangkau dan mudah diberikan. Oleh sebabnya itu, diperlukan teknik yang tepat untuk mengekstrak dan memurnikan albumin dari *C. striata* sehingga kandungan nutrisi yang didapatkan lebih tinggi dengan kualitas yang terjamin. Asfar melakukan penelitian ekstraksi albumin *C. striata* dan didapatkan perlakuan terbaik ekstraksi albumin dengan pelarut NaCl 0.9% pada titik isoelektrik pH 4.6 dengan kadar albumin 62.9%, kadar air 7.8%, dan rendemen 11.6%. Dengan adanya teknologi *Freeze Dryer* maka membuat ekstrak ini terjamin kualitas dan komposisi albumin yang dikandungnya, serta dikemas dalam bentuk kapsul sehingga lebih mudah dikonsumsi (Asfar *et al*, 2019).

Saat ini, berbagai ekstrak ikan gabus telah dipasarkan untuk memudahkan konsumen dalam mendapatkan manfaat ekstrak ikan gabus. Proses pengolahan ikan sangatlah penting untuk menjaga kualitas kandungan pada saat proses ekstraksi sehingga didapatkan manfaat yang maksimal (Asfar M & Tawali AB, 2019). Salah satu produk ekstrak ikan gabus dengan merek Pujimin® memiliki sejumlah penelitian yang menunjukkan efikasi produk ini pada kondisi hypoalbuminemia dan pada penyembuhan luka. Pada tahun 2019, produk Pujimin meningkatkan proses pengolahan sehingga mendapatkan kadar protein, albumin, dan mikronutrien yang lebih tinggi dengan kestabilan produk yang lebih baik dengan nama Pujimin Plus®. Adapun penggunaan produk ini baru dilakukan pada 1 penelitian untuk menilai efeknya terhadap kadar hemoglobin pada pasien hypoalbuminemia (Fauzan MR, Dahlan CK, Taslim NA, Syam A, 2020).

Tabel 2.2 : Perbedaan kandungan nutrisi pada ekstrak ikan gabus Pujimin® dan Pujimin Plus®  
(Sumber : Taslim NA, *et al*, 2019)

Parameter	Ekstrak Ikan Gabus	Ekstrak Ikan Gabus Plus	Unit
Kadar Protein	70	78.99	%
Albumin	21	39.34	%
Aspartat	54960	62191	Ppm
Glutamat	103485	109447	Ppm
Serin	28856	35678	Ppm
Glisin	42477	51839	Ppm
Histidin	17813	23596	Ppm
Arginin	57509	59775	Ppm
Threonin	36752	43552	Ppm
Alanin	44513	43525	Ppm
Prolin	29149	28364	Ppm
Valin	38844	39261	Ppm
Tirosin	24216	36890	ppm
Isoleusin	34781	35792	ppm
Leusin	59897	64527	ppm
Phenilalanin	29266	46993	ppm
Lisin	70604	72948	ppm
Sistin	135	2581	ppm
Metionin	26633	29967	ppm
Zink	16,2	29	ppm
Besi	6,3	43	ppm
Magnesium	301,8	1041	ppm
Kalsium	1219	4112	ppm

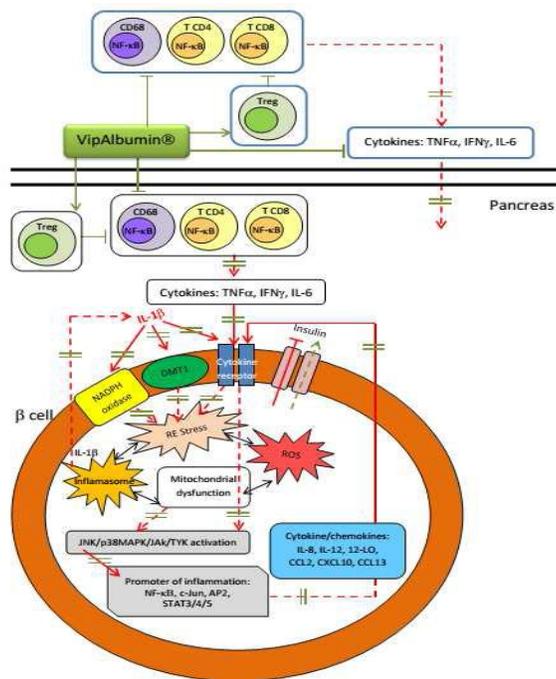
## Efek *C. striata*

### *Pada kondisi hiperglikemia*

Sel Treg merupakan sel yang berperan dalam regulasi negatif inflamasi yang dimediasi sistem imun yang umumnya dialami oleh penderita autoimun, inflamasi, alergi, infeksi, kanker, dan penyakit kronik seperti pada diabetes mellitus. Mencit yang menderita diabetes mellitus memiliki jumlah Sel Treg secara signifikan lebih rendah dibandingkan mencit sehat. Ekstrak *C. striata* dapat meningkatkan jumlah Sel Treg pada penderita

diabetes tipe 2. Sel Treg berperan dalam homeostasis sistem imun melalui proses regulasi dan kontrol sel efektor yang menghasilkan sitokin pro-inflamasi. Mekanisme Sel Treg untuk meregulasi sel efektor melalui beberapa cara yaitu: Sel Treg menyekresi sitokin IL-10, TGF- $\beta$ , dan IL-35 yang merupakan sitokin inhibisi terhadap sel effektor. Sel Treg juga berperan sebagai sel sitotoksik yang menyekresikan granzyme A dan B yang dapat menyebabkan apoptosis sel efektor (Dwijayanti *et al*, 2015).

IL-1 $\beta$  merupakan sitokin pro-inflamasi yang dapat mengaktifkan NADPH oksidase dan *divalent metal transporter-1 (DMT1)* yang dapat meningkatkan ROS dan stress oksidatif pada pankreas. ROS akan mengaktifkan NK- $\kappa$ B. Inflamasi pada sel  $\beta$  pancreas akan mengaktifkan sel imun seperti CD4+, CD8+, dan makrofag (CD68+) yang merupakan sel imun yang menyekresikan sitokin proinflamasi. Kondisi inflamasi kronik dapat menurunkan produksi insulin. Adapun ekstrak *C. striata* dapat meregulasi sel T, menghambat sitokin pro-inflamasi, dan menekan aktivitas NK- $\kappa$ B pada sel efektor. Reduksi sitokin pro-inflamasi dapat menurunkan kondisi inflamasi kronik pada pancreas sehingga dapat menstimulasi sekresi insulin yang normal (Dwijayanti *et al*, 2015).



Gambar 2.14 : Mekanisme ekstrak *C. striata* pada penanganan diabetes mellitus.  
(Dwijayanti *et al*, 2015)

### *Pada penyembuhan luka*

Kandungan asam amino esensial dan asam lemak pada ekstrak *C. striata* merupakan komposisi utama yang berperan pada proses penyembuhan luka. *C. striata* tinggi akan glysin dan asam arachidonat yang dilaporkan dalam menstimulasi sintesis kolagen dan re-epitelisasi jaringan yang rusak. *C. striata* juga bersifat antibakteri dan antifungi dimana ekstrak ikan ini dengan cara menginhibisi pertumbuhan jamur dan bakteri. Bakteri yang diinhibisi antara lain *Aeromonas hydrophilia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio anguillarum*, dan *V. fischeri*. Jamur yang diinhibisi antara lain *Neurospora crassa*, *Aleurisma keratinophilum*, *Cordyceps militaris*, *Botrytis pyramidal*, dan *Paecilomyces fumosoroseus* (Mat, 2008).

Pada proses penyembuhan luka misalnya luka diabetik, akan terjadi proses inflamasi dan menyebabkan peningkatan produksi ROS. Kadar ROS yang tinggi akan menghambat proses penyembuhan luka dengan menurunkan aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD). Reduksi enzim SOD akan meningkatkan malondialdehyde (MDA). Adapun *C. striata* mengandung albumin yang tinggi, dimana albumin memiliki gugus sulfhidril (-SH) yang berfungsi sebagai pengikat ROS. Dengan terikatnya ROS pada gugus -SH akan menyebabkan kadar ROS dalam tubuh menurun sehingga aktivitas enzim SOD akan meningkat. Hal ini menyebabkan kadar MDA dalam tubuh menurun. Peran ekstrak *C. striata* yang kaya albumin sebagai antioksidan dapat mempercepat penyembuhan luka dalam 8 hari pertama. Omega-6 dalam ekstrak *C. striata* berperan penting dalam fase inflamasi. Fase akhir inflamasi pada penyembuhan luka, akan terjadi stimulasi pada fase proliferasi, neovaskularisasi, dan re-epitelisasi yang dilanjutkan dengan fase maturasi dan sintesis maktriks ekstraselular yang umumnya terjadi dalam 14 hari (Apriasari *et al*, 2018).

Fajri UN, Hadisaputri S, Soejoenoes A tahun 2018 meneliti efek ekstrak ikan gabus terhadap luka operasi seksio sesaria pada ibu postpartum yang menderita anemia dengan menggunakan skala REEDA. Dari penelitian tersebut, didapatkan bahwa penyembuhan luka hari ke-5 pada kelompok intervensi yang mendapat ekstrak ikan gabus lebih baik secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol ( $p= 0.002$ ) (Fajri UN, Hadisaputri S, Soejoenoes A, 2018).

Penelitian yang dilakukan oleh Siswanto *et al* pada tikus Wistar menunjukkan bahwa dengan pemberian ikan gabus, terjadi peningkatan sel fibroblast secara signifikan

dan mencapai puncak pada hari ke-7 pada proses penyembuhan luka mukosa bukal (Siswanto, Dewi & Hayatie, 2016). Penelitian yang dilakukan oleh Hendriati *et al* menunjukkan pemberian emulsigel yang mengandung ekstrak *C. striata* dapat meningkatkan jumlah neutrofil, makrofag, dan fibroblast serta meningkatkan densitas kolagen pada luka insisi tikus putih (Hendriati *et al*, 2019).

Hal yang sama dikemukakan oleh Oentaryo *et al* bahwa pemberian ekstrak *C. striata* meningkatkan jumlah fibroblast dan ekspresi *fibroblast growth factor-2* (FGF-2) pada proses penyembuhan luka moksa oral tikus wistar. FGF-2 merupakan salah satu faktor pertumbuhan yang disekresikan oleh makrofag. Ekspresi FGF-2 meningkat segera setelah terjadi luka dan mencapai puncak pada hari ke-5 sampai hari ke-8. Fibroblast meregulasi angiogenesis via sekresi FGF-2 (Oentaryo *et al*, 2016). Ekstrak *C. striata* juga mengandung zinc (Zn), tembaga (Cu), dan zat besi (Fe) yang berperan pada imunitas tubuh. Ekstrak *C. striata* mengandung 0,447 mg/L tembaga (Cu). Tembaga berperan penting pada pertumbuhan dan replikasi sel yang dapat memicu proliferasi fibroblast pada area penyembuhan luka dan ekspresi FGF-2 yang diperlukan pada proses sintesis kolagen (Setiawan M *et al*, 2015) (Oentaryo *et al*, 2016).

Berbagai penelitian telah menunjukkan bahwa ekstrak *C. striata* berperan secara molecular dan imunologis pada penyembuhan luka diabetik baik dalam meningkatkan regulasi sel T, menghambat CD86+, menghambat TNF- $\alpha$ , NFkB, dan meningkatkan kemokin SDF-1 $\alpha$  (Wijaya I, Taslim NA *et al.*, 2020). Pada pasien hypoalbuminemia, *C. striata* juga terbukti meningkatkan kadar hemoglobin yang mana telah diketahui bahwa kadar hemoglobin yang adekuat dapat mendukung oksigenasi jaringan sehingga proses penyembuhan luka dapat berlangsung dengan baik (Fauzan MR, Dahlan CK, Taslim NA *et al.*, 2020).

#### **D. Hewan Percobaan Tikus (*Rattus norvegicus*)**

Hewan percobaan atau hewan laboratorium adalah hewan yang sengaja dipelihara dan ditenakan untuk dipakai sebagai hewan model guna mempelajari dan mengembangkan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratorik. Penggunaan hewan percobaan untuk penelitian banyak dilakukan di bidang fisiologi, farmakologi, biokimia, patologi,

dan komparatif zoologi. Di bidang ilmu kedokteran selain untuk penelitian, hewan percobaan juga sering digunakan sebagai keperluan diagnostik. Berbagai jenis hewan yang umum digunakan sebagai hewan percobaan, yaitu tikus putih, tikus, marmut, kelinci, hamster, unggas, kambing, domba, sapi, kerbau, kuda, dan simpanse

Penggunaan hewan percobaan untuk pengujian secara *in vivo* biasanya menunjukkan hasil deviasi yang besar dibandingkan dengan percobaan *in vitro*, karena adanya variasi biologis. Supaya variasi tersebut minimal, hewan-hewan yang mempunyai spesies yang sama atau strain yang sama, usia yang sama, dan jenis kelamin yang sama, dipelihara pada kondisi yang sama pula .

Hewan percobaan yang umum digunakan dalam penelitian ilmiah adalah tikus. Tikus (*Rattus norvegicus*) telah diketahui sifat-sifatnya secara sempurna, mudah dipelihara, dan merupakan hewan yang relatif sehat dan cocok untuk berbagai penelitian. Ciri-ciri morfologi *Rattus norvegicus* antara lain memiliki berat 150-200 gram, hidung tumpul dan badan besar dengan panjang 18-25 cm, kepala dan badan lebih pendek dari ekornya, serta telinga relatif kecil dan tidak lebih dari 20-23 mm.

Terdapat tiga galur atau varietas tikus yang memiliki kekhususan tertentu yang biasa digunakan sebagai hewan percobaan yaitu galur *Sprague dawley* berwarna albino putih, berkepala kecil dan ekornya lebih panjang dari badannya, galur *Wistar* ditandai dengan kepala besar dan ekor yang lebih pendek, dan galur *Long evans* yang lebih kecil daripada tikus putih dan memiliki warna hitam pada kepala dan tubuh bagiandepan .

Robinson (1979) mengklasifikasikan tikus putih sebagai hewan percobaan dengan taksonomi sebagai berikut: kelas Mamalia, ordo Rodentia, subordo Myomorpha, famili Muridae, subfamili Murinae, genus *Rattus*, spesies *Rattus sp.*

Sebagai hewan percobaan, data biologis tikus penting dalam membantu menyeragamkan hasil penelitian dunia medis. Berikut ini terdapat data biologis tikus putih (*Rattus sp.*), yaitu diantaranya (Smith, Mangkoewidjojo, 1988):

- Konsumsi pakan perhari : 5 gram/100 gram BB
- Bobot lahir : 5-6 gram
- Konsumsi air minum perhari : 8-11 mL/ 100 gram BB
- Diet Protein : 12 %

- Ekskresi Urin Perhari : 5,5 mL/ 100 gram BB
- Lama hidup : 2,5-3 tahun
- Bobot badan dewasa jantan : 300-400 gram
- Bobot badan dewasa betina : 250-300 gram
- Siklus estrus : 21 hari
- Rasio Kawin : 1 jantan dengan 3 atau 4 betina
- Jumlah kromosom : 42
- Suhu rektal : 37,5° C
- Laju respirasi : 87 x/menit
- Denyut jantung : 300-500x/menit

Asupan nutrisi untuk kebutuhan harian tikus diperlukan untuk mendukung kondisi tikus selama masa percobaan. Pemberian konsumsi pakan harian pada tikus diberikan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi yang diperlukan. Kebutuhan nutrisi harian tikus berdasarkan National Academy Press, Washington DC yaitu : (National Research Council, 1995)

Tabel 2.3 : Estimasi kebutuhan nutrisi harian pada hewan coba tikus.  
(National Research Council, 1995)

Nutrient	Unit	Amount, per kg diet		
		Maintenance	Growth	Reproduction (Female)
Fat	g	50.0	50.0	50.0
Linoleic acid (n-6)	g	a	6.0 <sup>a</sup>	3.0 <sup>a</sup>
Linolenic acid (n-3)	g	R	R	R
Protein	g	50.0 <sup>b</sup>	150.0 <sup>b</sup>	150.0
Amino Acids <sup>c</sup>				
Arginine	g	ND	4.3	4.3
Aromatic AAs <sup>d</sup>	g	1.9	10.2	10.2
Histidine	g	0.8	2.8	2.8
Isoleucine	g	3.1	6.2	6.2
Leucine	g	1.8	10.7	10.7
Lysine	g	1.1	9.2	9.2
Methionine + cystine <sup>e</sup>	g	2.3	9.8	9.8
Threonine	g	1.8	6.2	6.2
Tryptophan	g	0.5	2.0	2.0
Valine	g	2.3	7.4	7.4
Other (including nonessentials)	g	f	66.0	66.0
Minerals				
Calcium	g	g	5.0	6.3
Chloride <sup>h</sup>	g	g	0.5	0.5
Magnesium	g	g	0.5	0.6
Phosphorus	g	g	3.0	3.7
Potassium <sup>h</sup>	g	g	3.6	3.6
Sodium	g	g	0.5	0.5
Copper	mg	g	5.0	8.0
Iron	mg	g	35.0	75.0
Manganese	mg	g	10.0	10.0
Zinc <sup>i</sup>	mg	g	12.0	25.0

Iodine	μg	g	150.0	150.0
Molybdenum	μg	g	150.0	150.0
Selenium	μg	g	150.0	400.00
Vitamins				
A (retinol) <sup>l</sup>	mg	g	0.7	0.7
D (cholecalciferol) <sup>k</sup>	mg	g	0.025	0.025
E ( <i>RRR</i> -α-tocopherol) <sup>l</sup>	mg	g	18.0	18.0
K (phylloquinone)	mg	g	1.0	1.0
Biotin ( <i>d</i> -biotin)	mg	g	0.2	0.2
Choline (free base)	mg	g	750.0	750.0
Folic acid	mg	g	1.0	1.0
Niacin (nicotinic acid)	mg	g	15.0	15.0
Pantothenate (Ca- <i>d</i> -pantothenate)	mg	g	10.0	10.0
Riboflavin	mg	g	3.0	4.0
Thiamin (thiamin-HCl) <sup>m</sup>	mg	g	4.0	4.0
B <sub>6</sub> (pyridoxine) <sup>n</sup>	mg	g	6.0	6.0
B <sub>12</sub>	μg	g	50.0	50.0

### ***Luka Pada Tikus Putih***

Perlukaan pada hewan coba, secara umum dalam dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo*. Sistem *in vitro* umumnya lebih sederhana dan pembiayaan yang lebih ringan dengan keterlibatan etik yang minimal. *In vitro* biasanya digunakan untuk meneliti mekanisme suatu komponen yang sulit dilakukan secara *in vivo*. Terdapat 3 jenis model penelitian *in vitro* pada penelitian luka yaitu sistem uniselular (*monolayers, three-dimensional*), sistem multiselular (*co-cultures, three-dimensional*), dan kultur organ (kulit utuh). Berbeda dengan sistem *in vitro*, sistem *in vivo* dilakukan untuk menilai proses penyembuhan luka sehingga penilaian dilakukan sesuai tahap proses penyembuhan luka yang ingin diteliti (Gottrup F *et al*, 2000).

Tabel 2.4 : Penelitian penyembuhan luka pada hewan coba secara *in vitro*  
(Gottrup Fet *al*, 2000)

Model type	Study parameters
Single cell systems	
Monolayers	migration, proliferation, protein syntheses
Three-dimensional	cell-matrix interactions, migration, proliferation, protein syntheses, wound contraction
Multicellular systems	
Co-cultures	cell-cell interactions
Three-dimensional	cell-matrix interactions, cell-cell interaction, migration, proliferation, protein synthesis, wound contraction
Organ cultures	
Intact skin	epithelialization, tensile strength, morphology

Tabel 2.5 : Penelitian penyembuhan luka pada hewan coba secara *in vivo* (Gottrup *Fet al*, 2000)

Model type	Model device or tissue defect
Artificial models	
Subcutaneous chamber/sponges	polyvinyl alcohol-, wire mesh chamber
Subcutaneous tubes	expanded polytetrafluoroethylene tubes, viscose cellulose sponge inside a silicone material (Cellstick®)
Others	microdialysis, tissue oxygen measurements, etc.
Tissue models	
Excisional wounds	full-thickness dermal wounds, ear wound models
Incisional wounds	incision in skin, retina, GI-tract or other type of tissues
Superficial wounds	blister wounds, dermatome wounds, tape stripping, abrasions
Burn wounds	partial or full thickness
Others	necrotizing wounds, local constriction, toxic injection, skin windows, etc.

\*Except for "Others" and "Burn wounds," the models are described in the text. Similar models are used for **impaired wound healing** by altering the repair response by: local factors, including ischemia (surgery, pressure), infection, etc.; systemic factors, including age, diseases (diabetes, cancer, immune, etc.), infection, etc.; and outside factors, including radiation, agents (steroids, cytotoxics, hormones, etc.).

Penyembuhan jaringan luka pada kulit tikus memiliki beberapa perbedaan dengan kulit manusia karena adanya perbedaan pada morfologi kulit. Tikus merupakan *loose-skinned animal* karena memiliki kulit lebih elastis sehingga kulit cenderung lebih longgar. (Dorsett-martin, 2004). Mogford dan Mustoe mengemukakan bahwa karena sifat longgarnya, kontraksi kulit pada saat perlukaan berperan penting pada proses penutupan luka, kontraksi luka cenderung lebih cepat dibandingkan epitelisasi sehingga proses penyembuhan luka pada tikus umumnya lebih cepat dibandingkan manusia. (Mogford dan Mustoe, 2001) Meskipun secara morfologi terdapat beberapa perbedaan kulit tikus dan manusia, namun penelitian menggunakan tikus memiliki area kulit yang luas untuk dapat diberikan perlukaan dan pengetahuan serta informasi yang relatif banyak pada penelitian sebelumnya perihal penyembuhan luka pada tikus sehingga dapat digunakan sebagai bahan diskusi hasil penelitian (Dorsett-martin, 2004).

Tabel 2.6 : Perbedaan fisiologis kulit manusia dan tikus (Dorsett-martin, 2004)

Table 1. Physiological comparison

Characteristic	Rat	Human
Epidermis	Yes	Yes
Basement membrane	Yes	Yes
Dermis	Yes	Yes
Panniculus carnosus	Yes	No
Hair growth	Patches	Mosaic
Apocrine glands	No	Yes
Eccrine glands	No	Yes
Vitamin C source	Endogenous	Exogenous
Thermoregulation	Peripheral vascular circulation especially in the tail, respiratory system, physical movement	Peripheral vascular circulation, respiratory system, physical movement

Penelitian yang dilakukan oleh Masoko *et al* dalam menilai penyembuhan luka di punggung pada tikus putih dengan pemberian herbal topikal menunjukkan rata-rata luka menutup sempurna pada hari ke-17 namun pada luka yang telah mengalami infeksi, luka tidak menutup hingga pada hari ke-21 (Masoko, Picard, dan Eloff, 2010). Prestes *et al* mengemukakan bahwa pada hari ke-7 setelah perlukaan, didapatkan perbedaan signifikan proses inflamasi dan pembentukan neovaskularisasi jaringan luka pada tikus yang mendapatkan *dressing* luka dibandingkan yang tidak mendapatkan *dressing* luka (Prestes *et al*, 2012). Adapun terdapat penambahan signifikan jumlah fibroblast hari ke-7 perlukaan area mukosa buccal dibandingkan pada hari ke-5 dan hari-3 pada tikus putih yang mendapatkan ekstrak *C. striata* (Siswanto *et al*, 2016).

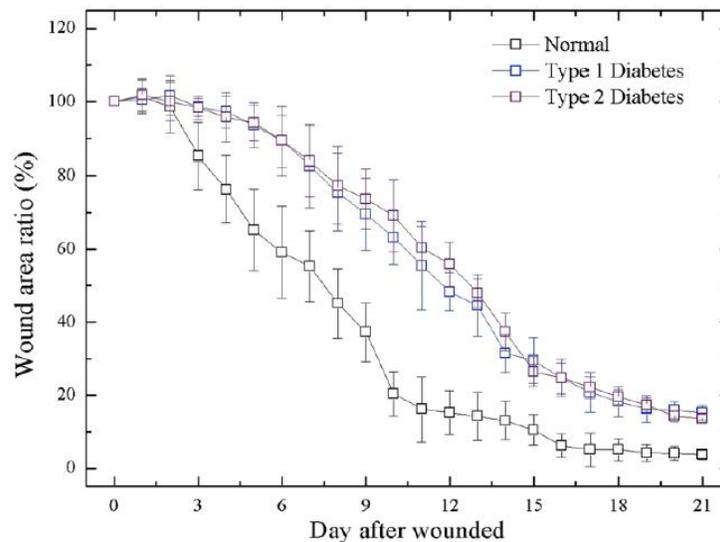
Penelitian eksperimental berupa ulserasi traumatik pada mukosa buccal tikus wistar menunjukkan bahwa 7 hari setelah perlukaan, ulserasi berkembang menjadi sikatriks, warna mukosa menjadi normal, dan tepi ulkus mulai tidak nampak (Cavalcante *et al*, 2011) Penelitian yang dilakukan oleh Hendriati *et al* menggunakan emulsi topikal ekstrak ikan gabus pada luka tikus menunjukkan dilakukan pada hari ke-3 untuk menilai fase inflamasi dengan parameter PMN dan hari ke-7 setelah perlukaan untuk menilai fase proliferasi dengan parameter fibroblast dan densitas kolagen (Hendriati *et al*, 2019).

#### Kondisi perlukaan dan induksi hiperglikemia pada tikus

Induksi hiperglikemia pada tikus dapat dilakukan melalui beberapa metode. Induksi hiperglikemia dapat dilakukan dengan model induksi diabetes mellitus tipe 1 dan diabetes mellitus tipe 2. Induksi diabetes mellitus tipe 1 dilakukan dengan cara merusak sel  $\beta$  pancreas sehingga terjadi gangguan produksi insulin. Induksi ini umumnya dilakukan dengan Teknik induksi kimia dengan menggunakan Streptozotocin atau Alloxan. Sedangkan induksi diabetes mellitus tipe 2 dilakukan untuk menginduksi resistensi insulin yang dihubungkan dengan obesitas, hiperlipidemia, dan intoleransi glukosa. Pada penelitian yang hanya ingin menilai dampak hiperglikemia, maka induksi diabetes mellitus tipe 1 menjadi pilihan dibandingkan induksi diabetes mellitus tipe 2 yang dipengaruhi oleh respon inflamasi sistemik yang bersifat kronik (Al-

awar A *et al.*, 2016). Kedua agen kimiawi ini merupakan analog toksik glukosa yang spesifik pada GLUT2 pankreas Induksi kimia diabetes mellitus tipe 1 dengan menggunakan Streptozotocin menjadi pilihan dibandingkan Alloxan. Walaupun dan merusak sel  $\beta$  pankreas melalui proses alkilasi DNA yang relative spesifik pada sel pankreas dibandingkan Alloxan melalui proses ROS (Lenzen S, 2008).

Pada kondisi hiperglikemia, terjadi perlambatan penyembuhan luka yang disebabkan oleh proses inflamasi, terganggunya migrasi neutrofil pada area luka, dan adanya resiko infeksi sekunder. Lingkungan hiperglikemia juga mempengaruhi aktivitas beberapa faktor pertumbuhan seperti VEGF dan IGF yang menyebabkan ganggana proses angiogenesis sehingga perfusi area luka terganggu. Cheng KY *et al* meneliti bahwa terjadi perlambatan penyembuhan luka pada tikus diabetes tipe 1 yang diinduksi streptozozin dan pada tikus diabetes tipe 2 yang diinduksi streptozosin dan diet tinggi lemak selama 2 minggu. Pada tikus normal, penurunan persentase ratio area luka terjadi sekitar hari ke-7 dan pada kondisi diates, terjadi pemanjangan waktu hingga lebih dari 14 hari (Cheng KY *et al*, 2018).

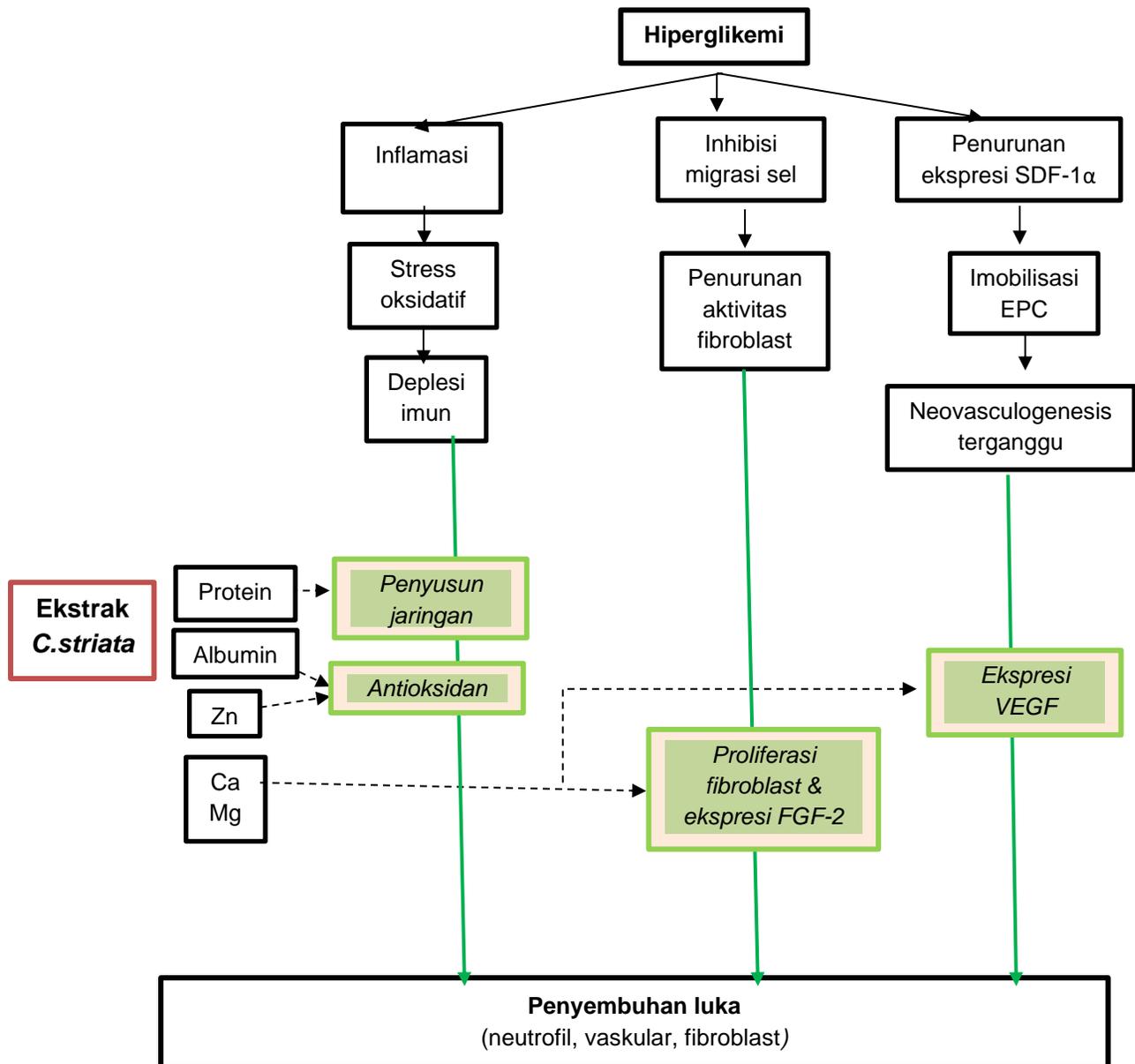


Gambar 2.15 : Persentase ratio area luka tikus normal, tikus diabetes tipe 1 dan tikus diabetes tipe 2 (Cheng KY *et al.*, 2018)

## BAB III

### KERANGKA PENELITIAN

#### A. Kerangka Teori

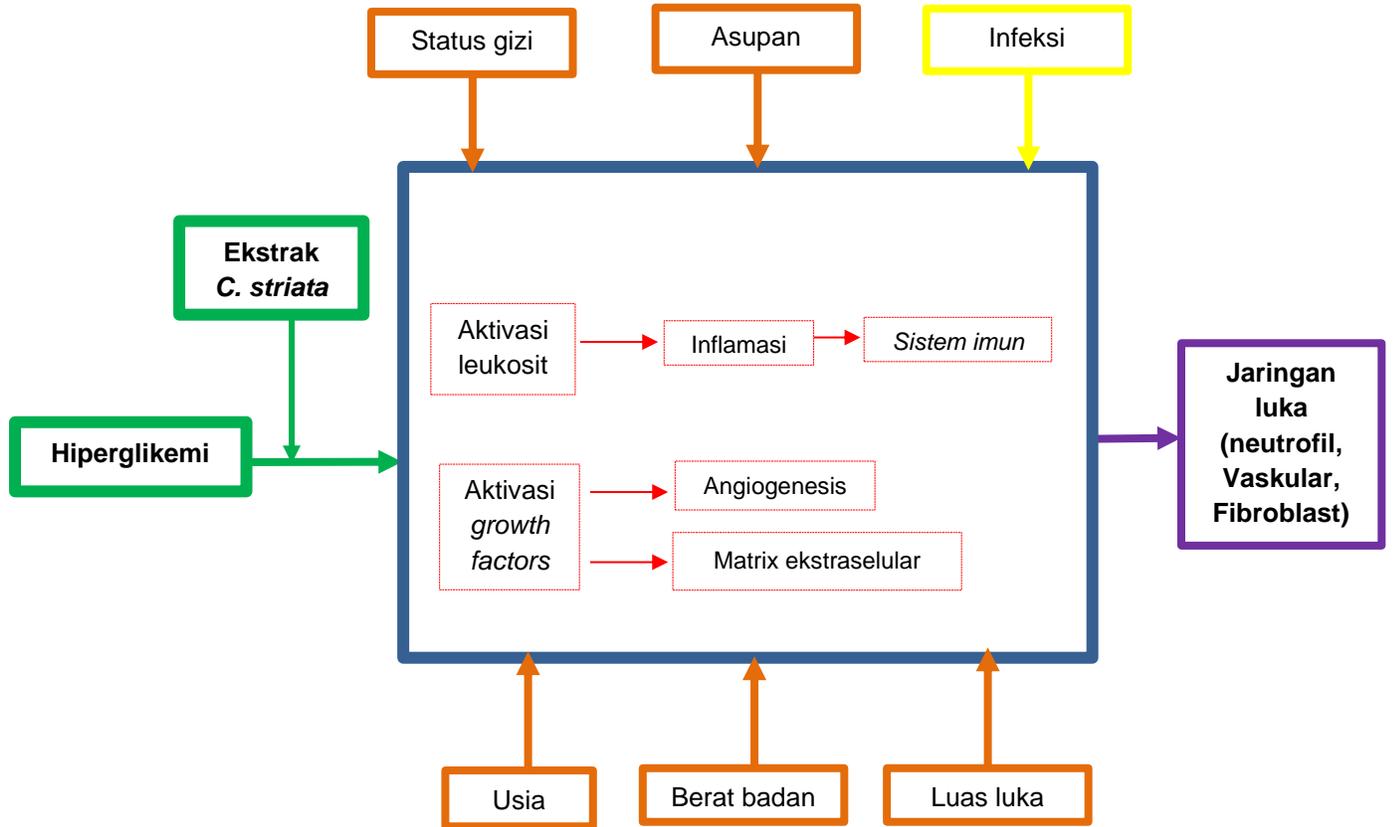


Ket : EPC = Endothelial progenitor cell VEGF = Vascular endothelial growth factor

FGF = Fibroblast growth factor

SDF-1α = Stromal cell derived factor-1α

## B. Kerangka Konsep



- = Variabel bebas
- = Variabel tergantung
- = Variabel antara
- = Variabel kendali
- = Variabel perancu

## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### A. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian besar pada tikus hiperglikemia dengan menganalisa perubahan makroskopis dan mikroskopis jaringan luka akut. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental acak terkontrol pada hewan coba..

#### B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar. Pemeriksaan jaringan histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Unhas.

#### C. Sampel Penelitian

Populasi yang digunakan adalah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan. Sampel yang diambil adalah tikus jantan dewasa dengan usia 8-10 minggu sebanyak 30 ekor. Sampel penelitian sebanyak 30 ekor yang dipilih secara acak yang dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok intervensi dan kelompok kontrol.

#### D. Perkiraan Besar Sampel

Penentuan jumlah sampel mengikuti perhitungan jumlah sampel menurut Federer (1991) dengan rumus:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

Keterangan:

n= jumlah sampel

t= jumlah kelompok

perhitungan:

$$(n-1)(6-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$