

TESIS

EFEK PEMBERIAN EKSTRAK BATANG PATAH TULANG (*EUPHORBIA TIRUCALLI*) TERHADAP NEUTROPHIL, EPITELISASI DAN KOLAGEN PADA PENYEMBUHAN LUKA TIKUS PUTIH

THE EFFECT OF GIVING EUPHORBIA TIRUCALLI EXTRACT TO NEUTROPHILS, EPITHELIALIZATION AND COLLAGEN IN WOUND HEALING OF WISTAR RATS

MUHAMMAD ASRI

P1502216003



**SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2019**



TESIS

EFEK PEMBERIAN EKSTRAK BATANG PATAH TULANG (*Euphorbia Tirucalli*) TERHADAP NEUTROPHIL, EPITELISASI, DAN KOLAGEN PADA PENYEMBUHAN LUKA TIKUS PUTIH

Disusun dan diajukan oleh :

MUHAMMAD ASRI
Nomor Pokok P1502216003

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis
pada tanggal 02 Januari 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasehat,



dr. M. Aryadi Arsyad, M.Biomed, Sc.Ph.D
Ketua



Yulia Yusrini Djabir, S.Si, MBM.Sc, M.Si, Ph.D
Anggota

Ketua Program Studi
Ilmu Biomedik,



Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc



Dekan Sekolah Pascasarjana
Universitas Kasanuddin,

Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc



PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Asri

Nim : P1502216003

Jurusan : Fisiologi/Ilmu Biomedik

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa tesis yang berjudul
“Efek pemberian ekstrak batang patah tulang (*Euphorbia Tirucalli*) terhadap
neutrophil, epitelisasi dan kolagen pada penyembuhan luka tikus putih”

Adalah karya ilmiah saya sendiri dan sepanjang pengetahuan saya di dalam naskah
tesis ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan/diterbitkan sebelumnya,
kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini disebutkan dalam sumber
kutipan dan daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari ternyata di dalam naskah tesis ini dapat dibuktikan terdapat
unsur-unsur jiplakan, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut dan
di proses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No. 20
Tahun 2003, pasal 25 ayat 2 dan pasal 70).

Makassar, 26 Februari 2019

Yang membuat pernyataan,

Muhammad Asri



KATA PENGANTAR

Puji syukur peneliti panjatkan kehadirat Allah SWT atas berkat dan hidayah-Nya sehingga peneliti dapat menyelesaikan tesis ini tepat waktu. Tesis ini merupakan tugas akhir untuk mencapai gelar Magister Biomedik pada Program Studi Ilmu Biomedik Konsentrasi Fisiologi Sekolah Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin.

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya tesis ini. Ucapan terima kasih peneliti sampaikan kepada:

1. Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc sebagai Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan dr. M. Aryadi Arsyad, M. Biomed., Ph.D sebagai kepala bagian Fisiologi Program Magister Ilmu Biomedik Universitas Hasanuddin.
2. dr. M. Aryadi Arsyad, M.Biomed.Sc.,Ph.D dan Yulia Yusrini Djabir, S.Si.,M.BM.Sc.,M.Si.,Ph.D.,Apt sebagai tim penasehat atas waktu yang telah diluangkan untuk membimbing, memberi motivasi, dan memberi bantuan literature serta diskusi-diskusi yang telah dilakukan.
3. Dr. Sartini, M.Si.,Apt. , Dr. Risfah Yulianty.,S.Si.,M.Si.,Apt., dan dr. Muhammad Husni Cangara, Ph.D., Sp.PA.,DFM sebagai penguji yang telah memberikan arahan dan bimbingan selama penyelesaian tesis ini.
4. dr. Isra Wahid, Ph.D sebagai kepala Laboratorium Entomologi Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.



Laboratorium Entomologi Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas
Hasanuddin yang telah membantu selama proses pemeliharaan hewan coba
penelitian berlangsung.

6. Staf Laboratorium Mikrobiologi RSP Universitas Hasanuddin yang telah membantu memeriksakan variabel-variabel yang diteliti.
7. Teman-teman Jurusan Biomedik Konsentrasi Fisiologi yang telah membantu dan memberi arahan selama penyelesaian tesis ini.
8. Orang tua yang telah memberikan bantuan, nasehat, dan motivasi yang diberikan selama penelitian tesis ini
9. Hasnawati yang telah memberikan bantuan dan dukungan selama pengerjaan tesis ini.

Semoga semua pihak mendapat kebaikan dari Tuhan Yang Maha Esa atas bantuan yang telah diberikan.

Tesis ini masih jauh dari kata sempurna walaupun telah menerima bantuan dari berbagai pihak. Apabila terdapat kesalahan-kesalahan dalam tesis ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab peneliti dan bukan para pemberi bantuan. Atas kritik dan saran yang membangun akan lebih menyempurnakan tesis ini.

Makassar, 26 Februari 2019

Peneliti



DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR GAMBAR	iii
DAFTAR TABEL	iv
ABSTRAK BAHASA INDONESIA	v
ABSTRAK BAHASA INGGRIS	vi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan masalah	4
1.3. Tujuan penelitian	4
1.4. Manfaat masalah	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Tinjauan teori <i>Euphorbia tirucalli</i> . Linn (Patah tulang)	6
2.2. Tinjauan umum tentang luka	12
2.3. Tinjauan umum tentang proses penyembuhan luka.....	14
2.4. Tinjauan umum tentang Neutrophil	25
2.5. Tinjauan umum tentang Epitelisasi	28
2.6. Kerangka Teori	38
2.7. Kerangka Konsep	39
2.8. Hipotesis Penelitian	40
2.9. Definisi Operasional.....	40
BAB III METODE PENELITIAN.....	42
3.1. Jenis dan rancangan penelitian	42
3.2. Lokasi dan Waktu Penelitian	43



3.3. Lokasi dan waktu penelitian	44
3.4. Variabel Penelitian.....	44
3.5. Populasi dan teknik sampel.....	45
3.6. Prosedur Penelitian	46
3.7. Pengolahan dan penyajian data.....	51
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Hasil	52
4.1.1. Persentase neutrophil	52
4.1.2. Persentase epitelisasi	60
4.1.3. Persentase kolagen	69
4.2. Pembahasan	78
BAB V PENUTUP	
Kesimpulan	83
Saran	83
DAFTAR PUSTAKA	
UJI STATISTIK	
LAMPIRAN	



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Gambaran Neutrophil pada setiap kelompok kontrol positif, kontrol negatif, kelompok ekstrak batang patah tulang 10 % dan 20 % pada tikus wistar selama hari ke 3, hari ke 7 dan hari ke 14	52
Tabel 4.2 Gambaran Epitelisasi pada setiap kelompok kontrol positif (Bioplacenton), kontrol negatif (Na-CMC 1%), kelompok ekstrak batang patah tulang 10 % dan 20 % pada tikus wistar selama hari ke 3, hari ke 7 dan hari ke 14	60
Tabel 4.5 Gambaran Kolagen pada setiap kelompok kontrol positif (Bioplacenton), kontrol negatif (Na-CMC 1%), kelompok ekstrak batang patah tulang 10 % dan 20 % pada tikus wistar selama hari ke 3, hari ke 7 dan hari ke 14	69



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Tanaman batang patah tulang (euphorbia tirucalli)	7
Gambar 4.1 histologis pengamatan neutrophil hari ke-3	58
Gambar 4.2 histologis pengamatan neutrophil hari ke-7	59
Gambar 4.3 histologis pengamatan Epitelisasi hari ke-3	66
Gambar 4.4 histologis pengamatan Epitelisasi hari ke-7	67
Gambar 4.5 histologis pengamatan Epitelisasi hari ke-14	68
Gambar 4.6 histologis pengamatan Kolagen hari ke-3	75
Gambar 4.7 histologis pengamatan Kolagen hari ke-7	76
Gambar 4.8 histologis pengamatan Kolagen hari ke-14	77



ABSTRAK

Muhammad Asri. Efek pemberian ekstrak batang patah tulang (*Euphorbia Tirucalli*) terhadap neutrophil, epitelisasi dan kolagen pada penyembuhan luka tikus putih (dibimbing oleh **M. Aryadi Arsyad** dan **Yulia Yusrini Djabir**).

Luka adalah terputusnya integritas epitel kulit dan mungkin disertai dengan gangguan struktur dan fungsi jaringan. Dalam penyembuhan luka prosesnya tidak selalu berjalan dengan alamia, proses penyembuhan luka juga dapat terjadi secara kimiawi sehingga kadang dibutuhkan bantuan seperti obat – obatan untuk membantu dalam proses penyembuhan luka. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak batang patah tulang (*euphorbia tirucalli*) terhadap neutrophil, epitelisasi dan kolagen pada penyembuhan luka tikus putih. Tikus dibagi menjadi 3 kelompok yaitu perlakuan dengan pemberian ekstrak batang patah tulang 10% dan 20%, serta kelompok kontrol positif (*Bioplacenton*) dan kelompok kontrol negatif (*Na-CMC 1%*). Pengukuran Neutrophil, epitelisasi dan kolagen dilihat dengan menggunakan mikroskopik dengan pembesaran 400x yang terlebih dahulu sampel dijadikan preparat, dengan melihat jumlah neutrophil, pembentukan epitelisasi dan pembentukan kolagen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok ekstrak batang patah tulang 10% lebih efektif dalam hal penyembuhan luka pada fase inflamasi karena sudah tidak terdapat neutrophil pada hari ke 3 setelah perlakuan dibandingkan kelompok kontrol negatif. Pada pembentukan epitelisasi kelompok ekstrak batang patah tulang 20% lebih mendominasi karena pada hari ke-7 pembentukan epitelisasinya sudah berada pada kisaran 50-75% epitelisasi. Pada tingkat kepadatan kolagen, kelompok ekstrak batang patah tulang lebih baik dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif karena pada hari ke-14 kepadatan kolagennya sedang dibandingkan dengan kontrol negatif yang masih rendah. Dengan mempertimbangkan data diatas, dimana jumlah neutrophil semakin berkurang pada fase inflamasi, pembentukan epitelisasi yang lebih cepat dan kepadatan kolagen yang lebih baik dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan negatif, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak batang patah tulang 10% dan 20% keduanya dapat dijadikan alternatif untuk penyembuhan luka.



Ekstrak batang patah tulang, Neutrophil, epitelisasi dan kolagen.

ABSTRACT

Muhammad Asri. The effect of giving Euphorbia Tirucalli extract to neutrophils, epithelialization and collagen in wound healing of wistar rats (supervised by **M. Aryadi Arsyad** and **Yulia Yusrini Djabir**).

A wound is a break in the epithelial integrity of the skin and may be accompanied by disruption of the structure and function of underlying tissue. Wound healing is a natural process. However, in some cases the process can be disrupted that chemical agents are needed to help speed up the process. The purpose of this study was to determine the effect of euphorbia tirucalli on neutrophil, epithelialization and collagen in wound healing of wistar rats. Rats were divided into 3 groups: treatment with 10% and 20% euphorbia tirucalli extract, positive control group (Bioplacenton) and negative control group (1% Na-CMC). Neutrophil, epithelialization and collagen measurements were evaluated using microscopy with 400x magnification. The results showed that the 10% euphorbia tirucalli group was more effective in terms of wound healing in the inflammatory phase because there were no neutrophils on day 3 after treatment compared to the negative control group. At epithelialization the euphorbia tirucalli group was 20% more dominant because on day 7th there was already 50-75% epithelialization. At the level of collagen density, the euphorbia tirucalli groups were better than the negative control group because on day 14 the collagen density was moderate compared to the negative control which was still low. Taking into account the data above, where the number of neutrophils decreases in the inflammatory phase, faster epithelial formation and better collagen density compared to the positive and negative control groups, it can be concluded that both the euphorbia tirucalli groups (10% and 20%) can be used as alternatives to wound healing.

Keywords: Euphorbia tirucalli, Neutrophil, epithelialization and collagen.



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. LATAR BELAKANG

Luka adalah terputusnya integritas epitel kulit dan mungkin disertai dengan gangguan struktur dan fungsi jaringan (Enoch & Leaper, 2005). Luka merupakan cedera fisik yang mengakibatkan kerusakan jaringan kulit. Luka dapat diakibatkan melalui proses patologis baik internal maupun eksternal terhadap organ yang terlibat (Lazarus et al., 2015). Luka dapat disertai dengan atau tanpa infeksi mikroba dan dapat terjadi karena kecelakaan atau luka akibat benda tajam (Sabale et al, 2012).

Penyembuhan luka merupakan proses fisiologi tubuh dalam merespon kerusakan yang terjadi namun tingkat penyembuhan sangat lambat dan memungkinkan terjadinya infeksi mikroba (Sabale et al., 2012). Penyembuhan luka normal adalah proses yang dinamis dan kompleks yang melibatkan serangkaian reaksi yang terkoordinasi, seperti perdarahan, koagulasi, respon inflamasi, regenerasi, migrasi, dan proliferasi (Velnar, Bailey, & Smrkolj, 2009). Proses penyembuhan luka pada umumnya dibagi menjadi empat tahap yang masing – masing saling berkaitan mulai dari fase Haemostasis, fase inflamasi, proliferasi, sampai fase maturase (Schilling, 1976). Dalam setiap tahap

nyembuhan luka, terdapat banyak reaksi dan interaksi yang terjadi sel dan bahan kimia dimasukkan kedalam tindakan (Broughton, & Attinger, 2006).



Fase inflamasi dimulai sejak terjadinya luka sampai 4 – 6 hari, dalam fase inflamasi juga terdapat fase haemostasis yang berfungsi sebagai langkah awal dalam proses penyembuhan luka (Broughton et al., 2006). Fase haemostasis berlangsung di area luka yang bertujuan untuk melindungi system vaskular sehingga fungsi organ – organ vital tetap optimal (Velnar et al., 2009). Haemostasis mendahului proses inflamasi dengan pengontrolan perdarahan, kontak antara kolagen dan platelet, serta adanya thrombin, fibronectin dan fragmennya menghasilkan pelepasan sitokin dan faktor pertumbuhan dari butiran platelet seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF) *transforming growth factor α* (TGF- α), *platelet activating factor* (PAF), fibronectin dan serotonin (Witte & Barbul, 1997). Neutrofil akan masuk ke area luka dan membersihkan bakteri dan benda asing pada luka, neutrophil akan mencerna bakteri dan jaringan mati pada luka (Broughton, Janis, & Attinger, 2006).

Fase proliferasi dimulai pada hari ke 3 – 14, fase ini ditandai dengan migrasi fibroblast dan pengendapan matriks ekstraseluler baru, bertindak sebagai pengganti jaringan sementara yang terdiri dari fibrin dan fibronectin (Velnar et al., 2009). Pada fase proliferasi akan berlangsung proses angiogenesis, pembentukan jaringan granulasi, pengendapan kolagen, dan epitelisasi (Singh, Young, & McNaught,



Fase maturase atau remodeling merupakan fase yang melibatkan perbaikan jaringan granulasi di bawah lapisan epitel yang baru terbentuk, dan proses yang terjadi pada fase ini sering menjadi *overlapping* dengan fase proliferasi yang dimulai pada hari ke 8 sampai ke-21 dan berlangsung sampai satu tahun (Prasetyono, 2009).

Dalam penyembuhan luka prosesnya tidak selalu berjalan dengan alamia, proses penyembuhan luka juga dapat terjadi secara kimiawi sehingga kadang dibutuhkan bantuan seperti obat – obatan untuk membantu dalam proses penyembuhan luka. Namun di dalam masyarakat penggunaan obat mungkin tidak selalu digunakan karena tidak semua kalangan masyarakat mampu membeli obat penyembuhan luka, maka di masyarakat banyak juga yang menggunakan pengobatan tradisional untuk penyembuhan luka. Pemanfaatan obat tradisional pada masyarakat memiliki keuntungan tersendiri dikarenakan murah, dapat diramu sendiri serta memiliki kemudahan untuk mendapatkannya dan bahan bakunya dapat ditanam di pekarangan rumah. Berbagai studi telah dilakukan mengenai penggunaan obat tradisional dalam proses penyembuhan luka seperti penggunaan daun pegagan (Bakta, 2006), getah jarak pagar (Murti et al., 2017) dan daun tapak dara (Ayu, Puspita, Damriyasa, & Dada, 2013). Tanaman patah tulang juga merupakan tanaman yang biasa digunakan masyarakat untuk penyembuhan luka

tanaman ini mengandung flavonoid untuk proses penyembuhan



luka (Prabha et al, 2008) dan juga euphol yang memiliki khasiat sebagai antiinflamasi (Agral, Fatimawalai, Yamlean, & Supriati, 2013).

Pada penelitian sebelumnya, Qomariah dkk memperlihatkan adanya potensi ekstrak batang patah tulang dalam proses penyembuhan luka. Dibandingkan dengan povidone iodine, pemberian salep ekstrak patah tulang (10%) menyebabkan hilangnya eritema, hilangnya pembengkakan dan penutupan luka yang lebih cepat (Qomariah, Lisdiana, & Wulan, 2014). Berdasarkan penelitian di atas dimana adanya potensi penggunaan tanaman patah tulang dalam proses penyembuhan luka. Maka hal inilah yang mendorong peneliti untuk secara mendalam meneliti ketingkat seluler untuk melihat efek tanaman batang patah tulang (*Euphorbia tirucalli*) terhadap neutrofil dan epitelisasi pada penyembuhan luka tikus putih.

1.2. RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan uraian dalam latar belakang di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- 1.2.1. Apakah pemberian ekstrak batang patah tulang akan mempengaruhi neutrophil dalam penyembuhan luka pada tikus putih dengan model perlukaan akut?
- 1.2.2. Apakah pemberian ekstrak batang patah tulang akan mempercepat terjadinya epitelisasi dalam penyembuhan luka pada tikus putih

gan model perlukaan akut?



1.2.3. Apakah pemberian ekstrak batang patah tulang akan mempercepat pertumbuhan kolagen dalam penyembuhan luka tikus putih dengan model perlukaan akut?

1.3. TUJUAN PENELITIAN

1.3.1. Tujuan umum

Untuk mengetahui efektifitas ekstrak batang patah tulang (*euphorbia tirucalli*) terhadap neutrofil, epitelisasi dan kolagen pada penyembuhan luka tikus putih.

1.3.2. Tujuan khusus

1.3.2.1. Untuk mengetahui efek pemberian ekstrak batang patah tulang akan mempengaruhi neutrophil dalam penyembuhan luka pada tikus putih dengan model perlukaan akut.

1.3.2.2. Untuk mengetahui efek pemberian ekstrak batang patah tulang akan mempercepat terjadinya epitelisasi dalam penyembuhan luka pada tikus putih dengan model perlukaan akut.

1.3.2.3. Untuk mengetahui efek pemberian ekstrak batang patah tulang akan mempercepat pertumbuhan kolagen dalam penyembuhan luka pada tikus putih dengan model perlukaan akut.



1.4. MANFAAT PENELITIAN

Diharapkan hasil penelitian ini akan memberikan manfaat antara lain :

1.4.1. Manfaat ilmiah

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai efek dari ekstrak batang patah tulang dalam mempercepat penyembuhan luka.

1.4.2. Aspek aplikasi

Penelitian ini bila terbukti diharapkan dapat menghasilkan ekstrak batang patah tulang sebagai alternative untuk pengobatan luka sehingga proses penyembuhan luka menjadi lebih efektif.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan teori *Euphorbia tirucalli*. Linn (Patah tulang)

2.1.1. Morfologi dan Taksonomi *Euphorbia tirucalli*. Linn (Patah tulang)

Patah tulang merupakan salah satu tanaman dari 8000 tumbuhan yang berasal dari golongan Euphorbiaceae, dimana tanaman ini kecil dengan cabang seperti pensil (Mwine & Damme, 2011). Tanaman ini memiliki tinggi sekitar 4 – 12 cm (Orwa, 2009) dengan cabang tegak, kulit kasar, pecah – pecah, berwarna coklat kehijauan, mengeluarkan getah susu saat dipotong, cabangnya ramping dan halus (Baniakina & Eyme 1997). Tanaman patah tulang dapat tumbuh subur di daerah tropis seperti Brasil, India, Indonesia, Malaysia, philiphina dan Vietnam (Orwa, 2009).



Gambar 2.1

Sumber : (Swain & Dudey, 2013)



Taksonomi *Euphorbia tirucalli*. Linn (Patah tulang) dalam system binomial menurut (Mwine & Damme, 2011) adalah sebagai berikut :

Kerajaan : Plantea
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnolioptida
Bangsa : Malpighiales
Suku : Euphorbiaceae
Marga : *Euphorbia*
Jenis : *Euphorbia tirucalli*

Daun pada tanaman patah tulang jarang terlihat dikarenakan sangat mudah jatuh, kecil dan ramping. Panjangnya sekitar 1 – 2.5 cm, lebar 3 – 4 mm dan tebal 2 mm. terdapat bunga pada tanaman ini dengan ukuran yang kecil berwarna kuning, hijau atau merah sesuai dengan cabang – cabang kelompok ranting terminalnya. Buahnya berbentuk seperti kapsul dengan ukuran diameter 8 – 12 mm dan berwarna hijau pucat (Gupta et al 2013).

2.1.2. Penggunaan sebagai obat tradisional

Di afrika timur lateks digunakan untuk mengobati impotensi seksual, kutil, epilepsi, sakit gigi, wasir, gigitan ular, dan batuk. Di Malaysia akar atau batang dari tanaman patah tulang diaplikasikan ke rasi hidung, wasir dan pembengkakan (Damme & Het 1998; melzer & Fakim 2008). Di India, tanaman ini digunakan sebagai untuk penyakit seperti, pembesaran limfa, asma, mengantuk,



kusta, dan hepatitis (Gupta et al., 2013). Sedangkan di Indonesia akarnya digunakan sebagai penyembuhan sakit tulang, sementara tapal akar atau daun digunakan sebagai obat bisul dan wasir. Lateks digunakan untuk penyembuhan patah tulang dan penyakit kulit (Mali & Panchal, 2017).

Euphorbia tirucalli linn memiliki getah yang berfungsi sebagai obat untuk penyembuhan berbagai penyakit seperti penyakit reumatik, asma, batuk, sakit telinga, sakit gigi dan kutil. Getah dari tanaman ini juga berfungsi sebagai obat pelancar buang air besar dengan dosis tertentu, tapi jika dikonsumsi dengan jumlah yang banyak akan mengakibatkan iritasi, mual dan muntah. Di Indonesia tanaman patah tulang digunakan sebagai obat penyakit kulit dan patah tulang (Mali & Panchal, 2017).

Ranting kecil tanaman patah tulang dapat menyembuhkan radang tenggorokan dengan cara memanggang tanaman kemudian dikunyah. Rantingnya juga dapat di masak dengan air yang digunakan sebagai obat sakit perut dan gastralgia. Batang tanaman patah tulang yang dijadikan sebagai pasta dapat memperbaiki tulang yang patah sedangkan air rebusan dari akar tanaman patah tulang dapat digunakan sebagai emetik dalam kasus gigitan ular dan pada infertilisasi wanita. Kayu dari tanaman patah tulang digunakan sebagai

obat untuk penyakit kusta dan kelumpuhan kaki setelah melahirkan (Mali & Panchal, 2017).



2.1.3. Aktifitas farmakologi

Ekstrak tanaman patah tulang merupakan salah satu analgesik sentral dan perifer dengan cara menekan pembentukan prostaglandin dan bradikinin. Ini disebabkan oleh flavonoid yang terkandung dalam ekstrak tanaman patah tulang (Prabha et al, 2008). Sebuah percobaan dilakukan menggunakan tikus wistar dengan menginduksi bagian kaki dengan collagen artritis, menunjukkan adanya perubahan yang signifikan dengan kembali normal setelah diberikan pengobatan triterpenoid yang diisolasi dari tanaman patah tulang dengan dosis 200mg/kg (Chandrasenan et al, 2016). Tanaman patah tulang dapat menjadi obat anti-rematik fraksi biopolimer (BET) dengan cara menekan sel CD4 + dan CD8 + T, menghambat intraselular Interleukin-2 (IL-2) dan Interferon-gamma (IFN- γ) dengan pemberian pada dosis yang ditentukan (Bani et al, 2007).

Tanaman patah tulang memiliki anti inflamasi dengan pemberian ekstrak akar tanaman terhadap tikus coba yang mengalami peradangan pada kaki dengan pemberian dosis 50 dan 100 mg/kg menunjukkan hasil yang signifikan (Palit et al, 2013). Pada sebuah penelitian menunjukkan bahwa pada waktu 24 jam saat pemberian Tanaman patah tulang dengan dosis 100mg/kg mengalami penurunan pembengkakan sebesar 9,67% dibandingkan dengan pemberian

fraksi ASA (*Acetil Cilicylic Acid*) dengan dosis 100mg/kg yang hanya menurunkan pembengkakan sebesar 6,3%, sehingga dapat



disimpulkan bahwa ekstrak getah tanaman patah tulang memiliki efek anti inflamasi pada dosis 100mg/kg (Marrakchi, 2013).

Ekstrak dari getah *Euphorbia otinifolia* dan *Euphorbia tirucalli* mampu menginduksi proliferasi dan apoptosis di Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) pada limfosit manusia, terutama pada sel CD3 dan CD3 + T (Lianes-Coronel et al, 2011). Ester ingenol (ingenol-3-dodecatrienoate) yang terdapat pada tanaman patah tulang berperan sebagai penghambat replikasi virus dan CD4 yang diaktifkan (Delvecchio et al, 2012). Tanaman patah tulang dapat meningkatkan produksi limfosit T CD4, neutrofil dan Limfosit CD8 + T khususnya pada sitokin tipe 1 (TNF- α dan IFN- γ) dan sitokin tipe 2 (IL-10) (Avelar et al, 2011).

Euphorbia hirta dan *Euphorbia tirucalli* dapat dijadikan sebagai antioxidant dan antimikroba terhadap beberapa penyakit kulit yang disebabkan oleh stres oksidatif atau oleh mikroorganisme (Chanda, 2010). Pengujian yang dilakukan terhadap tanaman patah tulang dengan menggunakan kapasitas pereduksi, anion superoksida dan uji pemulih radikal hidroksil baik pada dosis 125mg / kg dan 250mg / kg menunjukkan efek sebagai antioksidan dan hepatoprotektif dengan cara menurunkan enzim serum, bilirubin, kolesterol, trigliserida dan peroksidasi lipid jaringan (Jhoti et al, 2008). Daun tanaman patah

ng menunjukkan hasil bahwa dengan menggunakan metode suhu sonik untuk pemurnian senyawa fenolik memiliki potensi



antioksidan (Vuong, 2014). Ekstrak air dari bubuk patah tulang mengandung TPC 34,01 mg GAE/g yang merupakan setengah dari ekstrak metanol 77,33mg GAE/g, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak patah tulang mengandung antioksidan (Munro et al, 2015).

Penggunaan ekstrak metanol dengan batang *Euphorbia tirucalli linn* memiliki anti bakteri yang tinggi yakni mampu melawan bakteri *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, Sedangkan dengan penggunaan ekstrak petroleum eter dan kloroform dengan *Euphorbia tirucalli linn* hanya mampu melawan bakteri *Bacillus cereus* (Sugumar, 2010). Ekstrak batang dan daun patah tulang memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Eschericia coli*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella enteritidis*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeroginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, *A. flavus* dan *Fusarium oxysporum* (Charles & Kokati, 2015).

Ekstrak hidro-alkohol mentah dari tanaman patah tulang menunjukkan hasil yang lebih baik dalam proses penyembuhan, peradangan akut dan fibrosis pada hari ke-14 pasca operasi (Nicolau, 2013). Salep dengan konsentrasi 20% ekstrak etanol batang patah tulang memberikan efek yang cepat dalam penyembuhan luka bakar

ndingkan dengan salep lain. Hal ini karena ekstrak etanol patah g batang memiliki flavonoid, tanin, dan senyawa saponin.



Flavonoid menghambat pertumbuhan bakteri dengan menghancurkan permeabilitas dinding bakteri sel, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil dari interaksi antara flavonoid dan DNA bakteri, serta menghambat motilitas bakteri. Tannin berfungsi sebagai zat yang dapat mengecilkan pori-pori kulit, mengeras kulit, dan menghentikan eksudat dan perdarahan ringan sehingga bisa menutupi luka dan mencegah pendarahan. Saponin yang terkandung dalam tanaman dapat merangsang pembentukan kolagen yang berfungsi untuk proses penyembuhan luka (Aisah, Utami, & Genatrika, 2018).

2.2. Tinjauan umum tentang luka

2.2.1. Definisi luka

Luka adalah adalah terputusnya integritas kulit dan jaringan disertai dengan gangguan struktur dan fungsi jaringan (Enoch & Leaper, 2005). Luka bisa disebabkan akibat proses patologis internal dan eksternal sesuai dengan organ yang terlibat (Lazarus et al., 2015).

2.2.2. Klasifikasi luka

2.2.2.1. Tipe luka berdasarkan waktu penyembuhannya

Berdasarkan penyembuhannya, luka dibedakan menjadi luka akut dan luka kronis (Lazarus et al., 2015; Robson, 2001).

2.2.2.1.1. Luka akut

Luka yang dapat memperbaiki diri sendiri dan prosesnya berjalan normal sesuai dengan jalur penyembuhan luka yang tepat waktu dengan hasil akhir fungsional dan anatomis restorasi, waktu



penyembuhannya biasanya berkisar antara 5 sampai 10 hari, atau dalam 30 hari (Lazarus et al., 2015; Velnar et al., 2009).

2.2.2.1.2. Luka kronis

Suatu proses kegagalan dalam penyembuhan luka dan tidak dapat diperbaiki secara tertib dan tepat waktu (Robson, 2001; Szycher & Lee 1992). Proses penyembuhan luka yang tidak lengkap karena adanya berbagai faktor, yang memperpanjang satu tahap atau lebih dalam fase haemostasis, inflamasi, proliferasi atau remodeling sehingga penyembuhan luka menjadi lebih lama dari normalnya. Faktor – faktor tersebut meliputi infeksi, hipoksia jaringan, nekrosis, eksudat dan kelebihan tingkat inflamasi sitokin (Vanwijck, 2001).

2.2.2.1.3. Luka komplikasi

Luka komplikasi adalah suatu kondisi luka yang mengalami kombinasi antara infeksi dan kecacatan jaringan (Bischoff, 1999). Setiap luka yang terkontaminasi terlepas dari penyebab, ukuran, lokasi dan manajemen. Apakah atau tidak infeksi manifestasi berkembang tergantung pada virulensi, jumlah dan jenis mikroorganisme, serta suplai darah lokal dan resistensi bawaan pasien. Ciri khas infeksi ada 5 tanda dan gejala antara lain kemerahan, panas, nyeri, edema, dan kehilangan fungsi pada bagian yang sakit. Frekuensi infeksi luka tergantung pada jenis



atau teknik bedah dan lokasi luka (Attinger et al., 2006; Bischoff, 1999; Degref, 1998).

2.3. Tinjauan umum tentang proses penyembuhan luka

Gangguan integritas kulit, permukaan mukosa atau jaringan mengakibatkan terbentuknya luka. Luka dapat terjadi sebagai bagian dari proses penyakit yang penyebabnya disengaja maupun tidak disengaja (Velnar et al., 2009). Penyembuhan luka normal adalah proses yang dinamis dan kompleks yang melibatkan serangkaian reaksi yang terkoordinasi, seperti perdarahan, koagulasi, respon inflamasi, regenerasi, migrasi, dan proliferasi (Velnar et al, 2009). Proses penyembuhan luka disebut juga sebagai proses regenerasi jaringan dan dapat dikaitkan dengan jenis penyembuhan berdasarkan fase – fase penyembuhan yang pada dasarnya adalah suatu proses perbaikan jaringan (Kozier et al, 2010).

Proses penyembuhan luka pada umumnya dibagi menjadi empat tahap yang masing – masing saling berkaitan mulai dari fase Haemostasis, inflamasi, proliferasi, sampai fase maturase atau remodeling (Schilling, 1976). Setiap luka akan melewati fase yang sama, tetapi dapat berbeda bila dilihat dari segi kecepatan penyembuhan (Kozier et al, 2010).



2.3.1. Tipe penyembuhan luka

2.3.1.1. Penyembuhan primer

Suatu proses penyembuhan luka yang berjalan dengan cepat dengan luka tertutup 12 – 24 jam setelah terjadinya perlukaan. Luka hanya menyebabkan gangguan focal dari kontinuitas membran basal epitel, kematian sel jaringan ikat epitel dan jaringan relatif sedikit, akibatnya regenerasi epitel mendominasi fibrosis. Selain itu, karena adanya keseimbangan yang tepat antara semua fase penyembuhan (proliferasi seluler, metabolisme kolagen, aktivitas matriks metaloproteinase, degradasi matriks ekstraselular) luka sembuh dengan baik dan berlanjut dengan cepat menuju penutupan penuh (Enoch & Leaper, 2005)

2.3.1.2. Penyembuhan sekunder

Suatu proses penyembuhan luka yang berjalan lambat dan dapat menyebabkan kontraktur (terutama melalui persendian) serta dapat menyebabkan pembatasan fungsional, terjadi pada luka yang lebar, seperti trauma besar, luka bakar parah dan setelah prosedur pembedahan (misalnya laparostomi). Regenerasi sel epitel tidak mampu mengembalikan bentuk aslinya, sehingga terjadinya pertumbuhan jaringan granulasi dari celah luka, dilanjutkan dengan akumulasi matriks ekstraseluler dengan penumpukan kolagen

(Enoch & Leaper, 2005).



2.3.2. Fase penyembuhan luka

Luka dan penyembuhan luka berlangsung di semua jaringan dan organ tubuh, namun pada umumnya penyembuhan luka terjadi pada jaringan (Richardson, 2004). Penyembuhan luka merupakan proses yang kompleks yang melibatkan interaksi yang terkoordinasi antara beragam imunologi dan sistem biologi (Childs & Murthy, 2017). Fase – fase serta peristiwa yang berhubungan dengan munculnya berbagai jenis sel dalam dasar luka. Berbagai proses perbaikan jaringan akut, yang dipicu oleh cedera jaringan, dapat bersatu dengan melalui beberapa fase tergantung waktu (Velnar et al., 2009).

2.3.2.1. Fase haemostasis

Cedera jaringan ditandai dengan cedera mikrovaskuler dan ekstraksi darah ke luka. Hilangnya integritas struktural memulai tahap koagulasi dan penyempitan dinding pembuluh darah, pembentukan gumpalan dan agregasi trombosit mengurangi kehilangan darah lebih lanjut (Enoch & Leaper, 2005). Tujuan utama pada fase ini adalah untuk mencegah perdarahan yang berlebih untuk melindungi system vascular sehingga organ – organ vital tetap optimal. Tujuan kedua bersifat jangka panjang untuk menyediakan sel – sel matriks yang dibutuhkan pada akhir fase penyembuhan (Velnar et al., 2009). Keseimbangan dinamis antara sel endotel,

mbosit, koagulasi dan fibrinolisi mengatur haemostasis dan menentukan jumlah fibrin yang di simpan di area luka sehingga



mempengaruhi proses penyembuhan luka (Pool, 1997; Lawrence, 1998).

Mekanisme refleks neuronal membuat pembuluh darah menyempit dengan cepat akibat kontraksi sel otot polos, kontraksi yang cukup kuat sehingga mampu mencegah perdarahan. Proses ini hanya mampu efektif dalam pembuluh yang terganggu transversal dan dapat menyebabkan penghentian penuh kebocoran darah (.Pool, 1997; Lawrence, 1998). Refleks Vasokonstriksi dapat mengurangi atau menghentikan jumlah perdarahan secara sementara, otot polos vaskular hanya berguna untuk beberapa menit saja sampai hipoksia dan asidosis pada dinding luka menyebabkan relaksasi pasif dan perdarahan. Jika tidak ada pembentukan fibrin, mekanisme haemostatik tidak akan efektif dalam jangka panjang (Robson, 2001; Strecker-McGraw, 2007). Dengan adanya peristiwa haemostatik, kascade koagulasi sebagai tahap awal pengaktifan jalur ekstrinsik dan interinsik, yang mengarah ke agregasi platelet dan pembentukan bekuan darah untuk membatasi kehilangan darah (Jespersen, 1988; Pool, 1977). Ketika sirkulasi darah telah sampai di area luka, komponen darah dan platelet akan berkontak dengan kolagen dan komponen matriks ekstraseluler lainnya. Sehingga kontak ini memicu pelepasan faktor pembekuan dari platelet dan

mbentukan bekuan darah yang terdiri dari fibronectin, fibrin, onektin, dan thrombospondin (Skover, 1991).



Bekuan darah dan platelet yang terperangkap didalam pembekuan luka tidak hanya penting untuk haemostasis tetapi juga menyediakan matriks sementara untuk migrasi sel untuk fase haemostatik dan selanjutnya fase inflamasi. Sitoplasma platelet mengandung α -granula yang berisi dengan faktor pertumbuhan dan sitokin, seperti faktor pertumbuhan (PDGF), TGF- β , faktor pertumbuhan epidermal dan faktor pertumbuhan seperti insulin (ILGF) (Li, Chen, & Kirsner, 2007). Molekul-molekul ini bertindak sebagai promotor dalam penyembuhan luka kaskade dengan mengaktifkan dan menarik neutrofil, makrofag, sel endotel dan fibroblasts (Broughton et al., 2006). Trombosit juga mengandung amina vasoaktif, seperti serotonin, yang disimpan dalam tubuh padat dan menyebabkan vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas pembuluh darah, menyebabkan ekstravasasi cairan dalam jaringan yang menghasilkan edema (Velnar et al., 2009).

2.3.2.2. Fase inflamasi

Peradangan (Inflamasi) merupakan fase lanjutan dari proses penyembuhan luka dimana tujuannya untuk mencegah terjadinya infeksi (Singh et al., 2017). Fase inflamasi dapat dibagi menjadi 2 bagian yaitu fase inflamasi awal dan fase inflamasi akhir (Velnar et al., 2009). Neutrofil merupakan pertahanan pertama dan memulai

asnya dengan fagositosis untuk menghancurkan dan



menghilangkan bakteri, benda asing dan jaringan yang rusak (Hart J, 2002).

Neutrofil bermigrasi ke area luka dalam 24 – 36 jam setelah adanya perlukaan, berbagai agen kemoatraktif termasuk TGF- β , komponen komplemen seperti C3a dan C5a, dan peptida formilmetil yang dihasilkan oleh bakteri dan produk platelet. Adanya perubahan dalam regulasi molekul adhesi permukaan, neutrofil menjadi lengket dan melalui proses marginasi mulai mematuhi sel-sel endotel di vena pasca-kapiler yang mengelilingi luka (Lawrence, 1998; Hart J, 2002). Kemudian neutrophil bergerak mengitari sepanjang permukaan endothelium didorong kedepan dengan bantuan aliran darah. Aktivasi neutrophil berangsur – angsur berubah dalam beberapa hari setelah cedera, setelah semua bakteri yang terkontaminasi telah dihilangkan. Setelah neutrophil menyelesaikan tugasnya maka akan dihilangkan dari area luka sebelum berlanjut ke fase selanjutnya (Skover GR, 1991).

Fase inflamasi akhir terjadi 48 – 72 jam setelah perlukaan, makrofag muncul di luka dan melanjutkan proses fagositosis. Sel – sel ini awalnya berupa monosit darah yang mengalami perubahan fenotip saat tiba di luka menjadi makrofag jaringan. Bermigrasi ke area luka oleh berbagai agen kemoatraktif, termasuk faktor

mbekuan, komponen pelengkap, sitokin seperti PDGF, TGF- β ,
kotiene B dan faktor trombosit IV, serta produk pemecah elastin



dan kolagen (Glenn F Pierce, Mustoe, Altrrock, Deuel, & Thomason, 1991). Sel – sel ini sangat penting untuk tahap akhir respon inflamasi, bertindak sebagai sel – sel pengatur utama dan menyediakan reservoir yang melimpah dari faktor pertumbuhan jaringan yang kuat, khususnya TGF- β , serta mediator lainnya (TGF- α , heparin mengikat EGF, FGF dan kolagenase), pengaktifan keratinosit, fibroblast dan sel endotel (Velnar et al., 2009).

Berkurangnya monosit dan makrofag jaringan menyebabkan perubahan parah dalam penyembuhan luka, menyebabkan debridemen yang buruk pada luka, proliferasi fibroblas yang tertunda, angiogenesis yang tidak adekuat, dan fibrosis yang buruk (Enoch & Leaper, 2005). Sel – sel akhir yang memasuki area luka di akhir fase inflamasi adalah limfosit, meningkat 72 jam setelah cedera oleh aksi interleukin-1 (IL-1), melengkapi komponen immunoglobulin G kolagenase, yang kemudian dibutuhkan untuk renovasi kolagen, produksi komponen matriks ekstraseluler dan degradasinya (Velnar et al., 2009).

2.3.2.3. Fase proliferasi

Fase proliferasi dimulai dengan pengendapan matriks fibrin dan aktivasi fibrinogen serta fibroplasia (Li et al., 2007). Fase ini terjadi pada hari ke tiga setelah adanya perlukaan dan berlangsung selama minggu atau bahkan lebih sampai 3 minggu. Pada tingkat



makroskopik, fase penyembuhan luka ini dapat dilihat sebagai pembentukan jaringan granulasi (Velnar et al., 2009).

Migrasi fibroblast dan myofibroblast dimulai setelah cedera yang berlangsung selama 3 hari. Kemudian bermigrasi ke area luka dengan adanya faktor seperti TGF- β dan *platelet derived growth factor* (PDGF) yang dilepaskan oleh sel – sel inflamasi dan platelet. Setelah tiba diarea luka, akan berproliferasi dengan cepat dan menghasilkan protein matriks hyaluronan, fibronektin, proteoglikan tipe 1 dan tipe 3 prokolagen (Glenn F Pierce et al., 1991; Ramasastry, 2005).

Kolagen merupakan komponen paling penting dalam semua fase penyembuhan luka. Disintesis oleh fibroblast, menanamkan integritas dan intensitas ke semua jaringan dan memainkan peran kunci, terutama pada fase proliferasi dan fase remodeling. Kolagen bertindak sebagai dasar untuk pembentukan matriks intraseluler didalam luka (Clark, 1993; Greenhalgh, 1998). Kulit yang tidak terluka mengandung 80% tipe 1 dan 25% tipe 3 kolagen, sedangkan granulasi luka mengekspresikan 40% tipe 3 kolagen (Velnar et al., 2009).

Angiogenesis dan pembentukan jaringan granulasi sangat penting dalam penyembuhan luka dan berlangsung bersamaan

dengan semua fase proses reparative. Selain menarik neutrofil dan makrofag, banyak faktor angiogenik yang disekresikan selama fase



haemostatik mempromosikan angiogenesis (G F Pierce et al, 1991; Takeshita et al., 1994). Responsif sel endothel terhadap sejumlah faktor angiogenik, termasuk FGF, faktor pertumbuhan endotel vascular (VEGF), PDGF, angiogenin, TGF- α dan TGF- β (Oike et al., 2004). Keseimbangan yang baik dijaga oleh aksi faktor – faktor penghambat, seperti angiostatin dan steroid. Inhibitory dan agen stimulasi bekerja pada proliferasi sel endotel secara langsung maupun tidak langsung dengan mengaktifkan mitosis dan mempromosikan pergerakan serta menstimulasi sel inang untuk melepaskan faktor pertumbuhan endothel. Dalam kondisi hipoksia molekul disekresi dari jaringan sekitarnya dan mendorong proliferasi serta pertumbuhan sel – sel endothel (Velnar et al., 2009).

Kemotaksis adalah kemampuan sel untuk bergerak sepanjang gradient kimia. Mekanisme biokimia ini memungkinkan sel – sel untuk merespon dengan baik terhadap rangsangan lingkungan yang menentukan proliferasi, diferensiasi dan migrasi. Agen kemotaktik bertindak pada reseptor permukaan sel untuk mengarahkan migrasi sel yang terlibat dalam angiogenesis selama penyembuhan luka (Augustin, Kozian, & Johnson, 1994). Faktor yang berkontribusi sebagai mediator untuk neovaskularisasi dan perbaikan pembuluh dilokasi cedera, juga merupakan modulator penting dari pertumbuhan sel dan diferensiasi, dan termasuk faktor



pertumbuhan sel endotel, TGF- α , VEGF, angiopoietin-1, fibrin dan faktor pertumbuhan lipid (Velnar et al., 2009).

2.3.2.4. Fase maturase atau remodeling

Ciri utama fase maturasi adalah pengendapan kolagen pada luka. Fase penyembuhan yang paling penting karena laju, kualitas, dan jumlah total deposisi matriks menentukan kekuatan bekas luka. Banyak defisiensi penyembuhan akibat pengendapan kolagen yang buruk, meskipun penyebab yang mendasari mungkin bervariasi (Witte & Barbul, 1997). Tahap akhir penyembuhan luka bisa berlangsung hingga 2 tahun dan menghasilkan perkembangan epitelium normal dan pematangan jaringan parut. Fase ini melibatkan keseimbangan antara sintesis dan degradasi, karena kolagen dan protein lain yang tersimpan di dalam luka menjadi semakin teratur. Akhirnya mereka akan mendapatkan kembali struktur yang mirip (menggantikan kolagen tipe 1 dengan kolagen tipe 3). Meskipun demikian, luka tidak pernah mencapai tingkat kekuatan jaringan yang sama, rata-rata mencapai 50% dari kekuatan tarik asli oleh 3 bulan dan hanya 80% jangka panjang (Singh et al., 2017).

Tahap akhir juga ditandai dengan keseimbangan antara deposisi dan degradasi kolagen. Saat desposisi kolagen atau sintesis kolagen terganggu, maka akan terbentuk jaringan parut. bekas luka akan menjadi atrofi yang mungkin merupakan hasil akhir



setelah selesainya tahap pematangan. Sebaliknya ketika degradasi kolagen terganggu atau sintesis yang berlebihan maka jaringan parut menjadi hyperthropic atau bahkan keloid. Kondisi ideal akan terjadi bila ada keseimbangan antara degradasi dan sintesis atau deposisi kolagen untuk menghasilkan jaringan parut yang normal (Prasetyono, 2009).

2.3.3. Faktor yang mempengaruhi dalam penyembuhan luka :

2.3.3.1. Nutrisi

Malnutrisi berdampak buruk terhadap penyembuhan luka dengan memperpanjang peradangan, menghambat fungsi fibroblast dan mengurangi angiogenesis dan penumpukan kolagen. Ada banyak nutrisi penting yang penting untuk penyembuhan luka, termasuk vitamin A (terlibat dalam pertumbuhan epidermal), karbohidrat (untuk sintesis kolagen) dan asam lemak omega-3 (memodulasi jalur asam arakidonat) (Campos, Groth, & Branco, 2008).

2.3.3.2. Hipoksia

Semua luka mengalami hipoksia sampai batas tertentu karena pasokan vaskular lokal mereka terganggu. Sementara tingkat hipoksia diperlukan untuk memfasilitasi re-epitelisasi, oksigen yang cukup merupakan persyaratan penting untuk menyembuhkan luka.

Meskipun hipoksia adalah salah satu kemoattratan untuk neutrofil

dan makrofag, oksigen diperlukan untuk memungkinkan fagositosis dan untuk fungsi optimalnya. Oksigen juga penting untuk



pengendapan kolagen karena bertindak sebagai substrat dalam hidroksilasi residu prolin dan lisin (Singh et al., 2017).

2.3.3.3. Merokok

Merokok merusak penyembuhan luka karena efeknya pada chemotaxis, fungsi migrasi dan mekanisme bakterisida oksidatif dalam fase inflamasi. Merokok juga dapat mengurangi migrasi dan proliferasi fibroblast. Selain itu, merokok mempengaruhi fungsi kekebalan tubuh, menurunkan sintesis dan deposisi kolagen (Sørensen, 2012).

2.3.3.4. Umur

Pasien usia lanjut memiliki lapisan epidermis yang lebih tipis dan memiliki respon inflamasi, migrasi dan proliferasi yang lebih lambat. Mereka juga lebih cenderung memiliki penyakit kronis, yang bergabung untuk membuat pasien-pasien ini memiliki penyembuhan luka yang lebih lambat dan jadi beresiko lebih tinggi dari komplikasi luka (Singh et al., 2017).

2.4. Tinjauan umum tentang Neutrophil

Neutrophil adalah leukosit yang paling melimpah di dalam darah dan memimpin dalam pertahanan pertama jika terjadi kerusakan jaringan. Neutrophil adalah sel efektor kuat yang menghancurkan ancaman infeksi melalui fagositosis, degranulasi, ROS, dan perangkap

seluler neutrophil (Kolaczowska & Kubez, 2013). Hilangnya neutrophil oleh suatu penyakit atau efek samping dari obat memiliki



konskuensi merusak yang ditandai dengan infeksi berat yang berulang. Namun kelebihan infiltrasi dan aktivasi neutrophil dilokasi kerusakan jaringan dapat menyebabkan peradangan kronik, membatasi perbaikan cedera dan menyebabkan hilangnya fungsi organ (Simone, Banchereau, & Pascual, 2013). Neutrophil memediasi kerusakan jaringan melalui pelepasan sitokin, protease dan faktor lain yang terkandung dalam granula sitoplasmanya dan mengatur aktivasi respon imun adaptif, termasuk aktivasi sel T dan B (de Oliveira, Rosowski, & Huttenlocher, 2016).

Neutrophil sangat diperlukan untuk pertahanan terhadap mikroorganisme yang mengganggu. Neutrophil dihasilkan dalam jumlah besar di sumsum tulang dan beredar dalam darah selama beberapa jam. Saat mikroorganisme telah berhasil mengatasi hambatan fisik yang disediakan oleh kulit dan selaput lendir dan memperoleh akses ke jaringan, sinyal yang dihasilkan oleh mikroba dan makrofag di area terjadinya infeksi mengaktifkan sel-sel endotel lokal, yang menangkap neutrophil yang melintas dan membimbing mereka melewati lapisan sel endotel. Produk yang dihasilkan oleh mikroorganisme dengan interaksi protein larut membimbing neutrofil ke arah mikroba, yang diambil oleh fagositosis dan terpapar dengan konsentrasi tinggi dari zat bakterisida dalam vakuola fagositik (Borregaard, 2010).

duksi neutrophil



Produksi neutrophil secara kuantitatif merupakan aktivitas utama dari sumsum tulang, sekitar dua pertiga dari aktivitas pembentuk sel darah (Hematopoiesis) diperuntukkan untuk myelopoiesis (produksi monosit dan granulosit kolektif). Stem sel hematopoietik melokalisasi ke tempat yang disediakan oleh osteoblast dengan aliran darah sedikit dan tekanan oksigen yang rendah, sementara stem sel yang lebih matang dan aktif, membelah lebih dekat ke sisi abluminal dari sinusoid, struktur pembuluh darah khusus dari sumsum tulang (Winkler et al., 2010). β_1 -integrin seperti $\alpha_4\beta_1$, $\alpha_6\beta_1$, dan $\alpha_9\beta_1$ diekspresikan pada stem sel hematopoietik dan berinteraksi dengan osteoblast dalam tempat sel induk dan matriks ekstraseluler (Borregaard, 2010). Reseptor kemokin CXCR4 sangat penting untuk tempat tinggal sel induk dan neutrophil yang lebih matang ke sumsum tulang. CXCR4 mengikat CXCL12 yang diekspresikan oleh sel – sel stroma sumsum tulang, termasuk sel – sel osteoblast dan sel – sel endotel vaskular di sumsum tulang (Lapidot & Kollet, 2002).

Produksi neutrophil dalam keadaan stabil menghasilkan 1 sampai 2 x 10¹¹ sel per hari pada manusia dewasa normal. G-CSF (*Granulocyte colony stimulating factor*) sangat penting untuk produksi neutrophil meningkat selama terjadinya infeksi. Sebagian besar produksi neutrophil diatur oleh tingkat apoptosis neutrophil dalam jaringan. Saat

apoptosis neutrophil, sel dendritik fagositosis neutrophil apoptosis dalam jaringan, produksi interleukin 23 (IL-23) berkurang. IL-23 merangsang



produksi interleukin 17A (IL-17A) oleh sel T yang terlokalisasi di kelenjar getah bening. IL-17A merupakan stimulus penting untuk produksi G-CSF (Schwarzenberger et al., 2000). Produksi G-CSF berkurang jika jumlah neutrophil dalam jaringan meningkat (Borregaard, 2010).

2.4.2. Migrasi neutrophil

Kerusakan jaringan menghasilkan berbagai sinyal dari jaringan kompleks yang membentuk gradient kemoatraktan diseluruh jaringan. Sebagai sel pemimpin dalam pertahanan pertama saat terjadinya cedera, neutrophil harus merasakan, memprioritaskan, dan mengintegrasikan semua sinyal kemotaktik sebagai respon terhadap kerusakan jaringan (de Oliveira et al., 2016). Neutrophil mengekspresikan lebih dari 30 reseptor berbeda yang dapat merasakan mediator pro-inflamasi dan memodulasi migrasi neutrophil, fungsi dan perilaku reseptor seperti reseptor G protein-coupled (GPCRs), reseptor adhesi, reseptor sitokin, dan pattern recognitions receptors (Futosi, Fodor, & Mócsai, 2013).

2.5. Tinjauan umum tentang Epitelisasi

Epitelisasi didefinisikan sebagai suatu proses yang meliputi permukaan epitel. Proses seluler dan molekuler yang terlibat dalam inisiasi, pemeliharaan, dan penyelesaian epitelisasi sangat penting untuk

pan luka yang berhasil. Epitelisasi merupakan komponen penting penyembuhan luka yang digunakan sebagai parameter yang



menentukan keberhasilannya. Dengan tidak adanya re-epitelisasi, luka tidak dapat dianggap sembuh. Proses ini dapat terganggu pada semua jenis luka kronis. Kegagalan keratinosit untuk mempertahankan penghalang dapat berkontribusi pada pengulangan luka, yang merupakan masalah klinis yang signifikan (Pastar et al., 2014).

Epidermis adalah epitel yang bertingkat terdiri dari beberapa lapisan keratinosit, yang memberikan Pembatas antara lingkungan dan organisme, dengan demikian melindunginya dari agen eksternal dan patogen, serta membatasi hilangnya cairan. Integumen dipertahankan oleh keratinosit yang beralih dari keadaan proliferaatif di lapisan basal ke keadaan terdiferensiasi ketika mereka bermigrasi melalui lapisan granular, dan akhirnya menjadi sisa-sisa sel mati yang diratakan dari lapisan kreatin. Keratinosit tidak hanya penting dalam mempertahankan epidermis tetapi juga memulihkannya setelah cedera (Pastar et al., 2014).

Pada lapisan basal, keratinosit bersifat proliferaatif dan ditandai oleh infrastruktur yang terdiri dari filamen intermediet keratin (K), K5 dan K14. Sel-sel bergerak menuju permukaan melintasi lapisan yang dikenal sebagai lapisan spinosus, lapisan granular, dan stratum korneum. Proses diferensiasi ditandai dengan beralihnya sintesis K5 dan K14 dalam lapisan basal ke K1 dan K10 pada lapisan suprabasal (Tomic-

Komine, Freedberg, & Blumenberg, 1998). Sel basal melekat membran basal melalui hemidesmosomes dan adhesi fokal, dan



sel suprabasal menempel pada sel di dekatnya melalui desmosom, selama proses epitelisasi semua sel terpisah dari perlekatannya untuk migrasi keratinosit (Fuchs & Cleveland, 1998). Pembentukan barrier juga membutuhkan pengiriman lipid dan protein yang terkandung dalam butiran lamelar (dalam lapisan granular) ke celah stratum korneum, dan pembentukan polimer molekul tinggi melalui ikatan silang protein amplifikasi kornifikasi (loricrin, involucrin, filaggrin, dan peptida lainnya) (Strong et al., 2006). Selama diferensiasi terminal dan pembentukan lapisan kornified, keratinosit menjadi dehidrasi dan merata menjadi polyhedron, yang disebut sebagai terminal korneosit (Eckert & Rorke, 1989).

2.5.1. Migrasi keratinosit dan proliferasi selama penyembuhan luka

Setelah cedera kulit akut, karena penghalang terganggu, neutrofil, monosit, dan makrofag direkrut ke tempat cedera. Selanjutnya, keratinosit menjadi aktif dan proses aktivasi dicapai dengan ekspresi beberapa sitokin dan faktor pertumbuhan. Fenotip yang diaktifkan ditandai dengan perubahan dalam jaringan sitoskeleton dan reseptor permukaan sel yang penting untuk re-epitelisasi, ekspresi K6 dan K16 yang memungkinkan keratinosit bermigrasi ke dalam luka (Grinnell, 1992).

2.5.1.1. Migrasi keratinosit



Untuk menutup kerusakan di epidermis, keratinosit yang berada di
di luka terlebih dahulu melonggarkan adhesi satu sama lain

kemudian ke lamina basal, dan pengembangan fleksibilitas untuk mendukung penyimpanan matriks baru. Proses ini dimodulasi secara berurutan dimulai dengan pembongkaran kontak sel – sel dan substrak – sel yang dipertahankan melalui desmosome dan hemidesmosom (Heng, 2011). Pelepasan yang terjadi memungkinkan keratinosit bermigrasi dari tepi area luka ke area luka yang kosong sedangkan keratinosit lainnya mulai berproliferasi (Werner & Grose, 2003). Untuk proses migrasi dimulai dari pelepasan interaksi antara sel – sel. Selama proses migrasi, protein kinase C alfa diaktifkan dan mengarah pada konversi antara Kalsium-independen menjadi desmosome kalsium-dependen, sehingga menurunkan efek perekatannya (Wallis et al., 2000).

2.5.1.2. Proliferasi keratinosit

Setelah migrasi epitel lapisan pertama yang menutupi luka, keratinosit mulai berproliferasi untuk memastikan pasokan sel yang cukup untuk membungkus luka. Pengaturan proliferasi keratinosit bergantung pada ketersediaan faktor pertumbuhan, derajat diferensiasi sel, dan keterikatan sel pada substrat. Hanya keratinosit basal yang memiliki kemampuan untuk berproliferasi, sementara keratinosit yang terdiferensiasi dalam lapisan suprabasal tidak dapat melakukannya (Morasso & Tomic-Canic, 2005).



2.6. Tinjauan umum tentang Kolagen

Protein adalah polimer alami dan membentuk hampir 15% tubuh manusia. Semua protein adalah asam amino. Kolagen adalah protein utama dari matriks ekstraselular (ECM) dan merupakan protein paling banyak ditemukan pada mamalia, terdiri dari 25% protein total dan 70% sampai 80% kulit (berat kering). Kolagen berperan sebagai perancah struktural dalam jaringan. Fitur utama dari semua molekul kolagen tersusun atas *triple helix* dari tiga rantai α polipeptida (Jeffrey, 1995).

Pada jaringan normal, kolagen merupakan sumber kekuatan integritas dan struktur jaringan. Pada saat jaringan mengalami kerusakan karena luka, kolagen dibutuhkan untuk memperbaiki kerusakan dan mengembalikan struktur dan fungsi anatomi. Jika kolagen terlalu banyak berkumpul pada daerah luka, struktur anatomi normal akan hilang, fungsi akan terganggu dan terjadi fibrosis. Sebaliknya, jika terjadi kekurangan jumlah deposit kolagen maka daerah luka akan mudah rapuh dan pecah (Leong and Phillips, 2012).

Kolagen memainkan peran kunci dalam setiap tahap penyembuhan luka. Pada hemostasis berlangsung selama beberapa menit. Trombosit agregat di sekitar kolagen yang terpapar. Trombosit kemudian mensekresikan faktor, yang berinteraksi dengan dan merangsang kaskade penggumpalan intrinsik, yang memperkuat agregat trombosit

li "steker hemostatik" yang stabil. Trombosit darah juga mensekresikan α -granules, yang melepaskan berbagai macam faktor



pertumbuhan (GFs) dan sitokin, seperti platelet diturunkan GF (PDGF), insulin-like GF (IGF-1), epidermal GF (EGF), dan mengubah GF-beta (TGF-b), yang "memanggil" berbagai sel inflamasi (neutrofil, eosinofil, dan monosit) ke lokasi luka dan memulai fase inflamasi (Schultz and Mast, 1998).

Pada proses inflamasi berlangsung selama beberapa hari. Enzim proteolitik disekresikan oleh sel-sel inflamasi yang bermigrasi ke lokasi luka, terutama neutrofil, eosinofil, dan makrofag. Tindakan enzim proteolitik pada konstituen makromolekul ECM (seperti kolagen) menimbulkan banyak peptida (fragmen protein) selama penyembuhan luka. Produk degradasi ini memiliki efek kemotaktik dalam perekrutan sel lain, seperti sel mononuklear, neutrofil tambahan, dan makrofag. Makrofag aktif mensekresikan TNF-a, yang antara lain, menginduksi makrofag untuk menghasilkan IL-1b. IL-1b β bersifat mitogenik untuk ekspresi fibroblast dan up-regulates matrix metalloproteinase (MMP). TNF- α dan IL-1b β adalah sitokin pro-inflamasi kunci, yang secara langsung mempengaruhi pengendapan kolagen pada luka dengan menginduksi sintesis kolagen melalui fibroblas dan turunnya regulasi inhibitor jaringan metalloproteinase matriks (TIMPs). Sel inflamasi juga mensekresi faktor pertumbuhan termasuk TGF-b, bHB-EGF, dan bFGF. GFs ini terus merangsang migrasi fibroblas, sel epitel dan sel

vaskular ke dalam luka. Akibatnya, selektivitas luka meningkat. Mulai fase proliferasi (Schultz and Mast, 1998).



Pada proliferasi yang berlangsung selama beberapa minggu. Produk pembelahan akibat degradasi kolagen merangsang proliferasi fibroblas. Fibroblas mensekresikan berbagai GFs (IGF-1, bFGF, TGF- β , PDGF, dan KGF), yang memandu pembentukan ECM. Produk pembelahan kolagen juga merangsang proliferasi sel endotel vaskular. Sel-sel ini mensekresikan berbagai GFs (VEGF, β FGF, PDGF), yang meningkatkan angiogenesis. Dengan ECM vaskularisasi, granulasi tercapai. Produk pembelahan kolagen juga merangsang migrasi keratinosit dan proliferasi. Keratinosit mengeluarkan berbagai GFs dan sitokin, seperti TGF- β , TGF- β , dan IL-1. Saat keratinosit bermigrasi dari tepi luka di jaringan granulasi yang baru terbentuk, epitelisasi ulang tercapai.

Remodeling berlangsung selama lebih dari satu tahun. Keseimbangan dicapai antara sintesis komponen baru matriks bekas luka dan degradasinya oleh MMPs, seperti kolagenase, gelatinase, dan stromelysin. Fibroblas adalah tipe sel utama yang mensintesis kolagen, elastin, dan proteoglikan yang juga merupakan sumber utama MMP dan TIMPs. Selain itu, juga mengeluarkan oksidase lysyl, yang merupakan komponen cross-link dari ECM. Angiogenesis berhenti dan kerapatan kapiler di tempat luka berkurang saat bekas luka telah tertutup. Hasilnya adalah terciptanya bekas luka yang lebih kuat, meski kulitnya hanya

patkan hampir 75% kekuatan tarik aslinya (Schultz and Mast,



Pada deposisi matrik ekstraseluler, sintesis kolagen diperbanyak oleh faktor pertumbuhan dan sitokin yaitu PDGF, FGF, TGF β dan IL-1, IL-4, IgG1 yang diproduksi oleh leukosit dan limfosit pada saat sintesis kolagen. Pada proses remodeling jaringan faktor pertumbuhan seperti PDGF, FGF, TGF β dan IL 1, TNF α akan menstimulasi sintesis kolagen serta jaringan ikat lain yang selanjutnya sitokin dan faktor pertumbuhan memodulasi sintesis dan aktivasi metaloproteinase, suatu enzim yang berfungsi untuk degradasi komponen ECM. Hasil dari sintesis dan degradasi ECM merupakan remodeling kerangka jaringan ikat, dan struktur ini merupakan gambaran pokok penyembuhan luka pada inflamasi kronis. Sedangkan proses degradasi kolagen dan protein ECM lain dilaksanakan oleh metaloproteinase. Metaloproteinase terdiri atas interstitial kolagenase dan gelatinase, diproduksi oleh beberapa macam sel : fibroblas, makrofag, netrofil, sel sinovial dan beberapa sel epitel. Untuk mensekresikannya perlu stimulus tertentu yaitu PDGF, FGF, IL1, TNF α , fagosit dan stress fisik (Cotran *et al*, 1999).

Kolagen memegang peranan yang sangat penting pada setiap tahap proses penyembuhan luka. Sintesis dan deposisi kolagen adalah peristiwa penting dalam fase proliferasi dan penyembuhan luka pada umumnya. Kolagen kaya akan gugus hidroksilin dan hidroksiprolin yang memungkinkan untuk membentuk serabut (*cross link*) yang kuat. Jumlah

hidroksilasi prolin dan lisin bergantung pada kehadiran oksigen, C, zat besi, dan α -ketoglutarat. Kekurangan oksigen dan vitamin

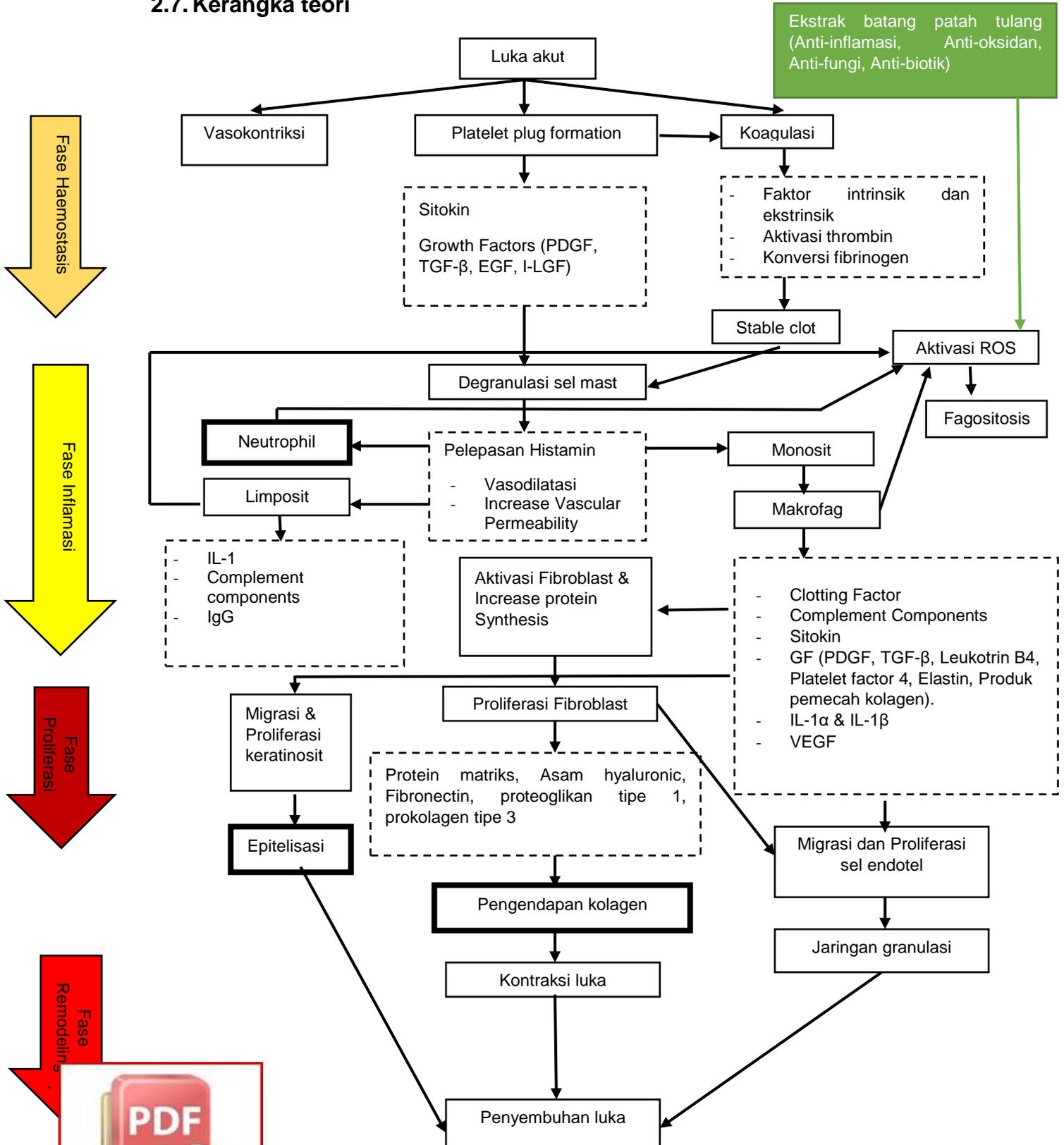


C, khususnya, menghasilkan kolagen yang kurang terhidroksilasi sehingga kurang mampu membentuk *cross-link* yang kuat, akibatnya akan lebih rentan terhadap kerusakan (Simon *et al*, 2014).

Kolagen merupakan protein yang terbanyak pada jaringan tubuh, termasuk kulit. Kolagen inilah yang memungkinkan terbentuknya *tensile strength* pada kulit. Kolagen dapat dilihat melalui pewarnaan HE sebagai zona rangkaian serat berwarna merah muda cerah (King, 2010).

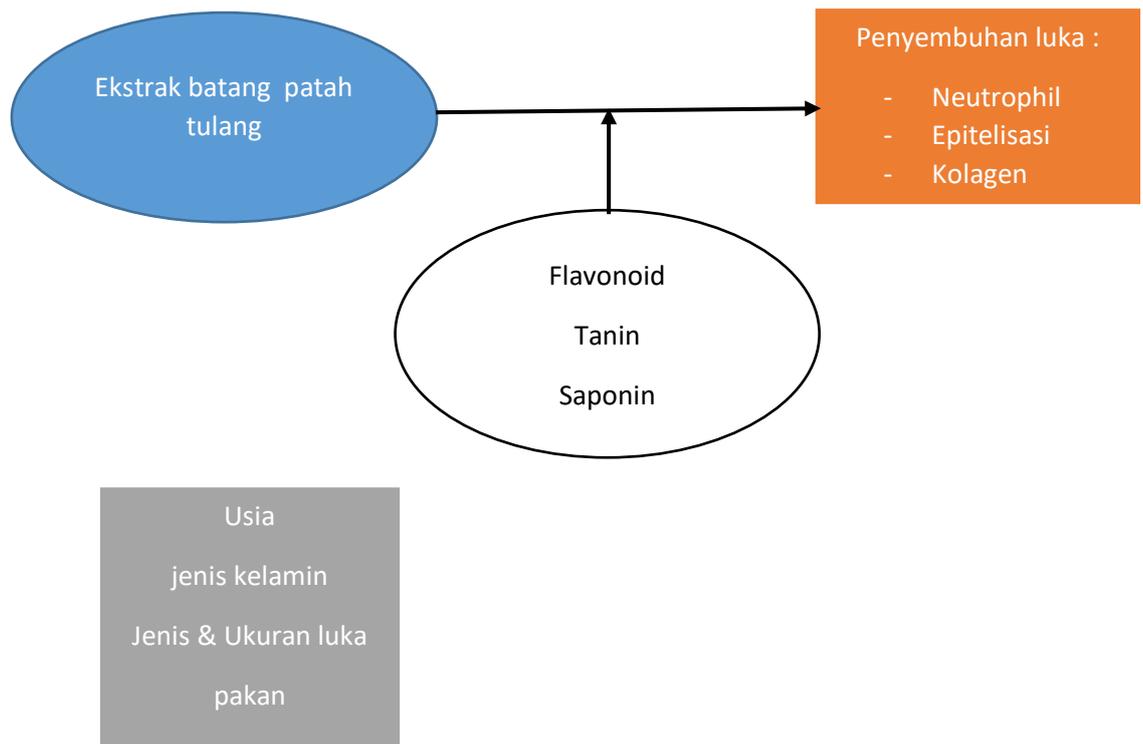


2.7. Kerangka teori



2.8. Kerangka konsep

Secara konseptual, variable – variable yang diteliti dalam penelitian ini terdiri dari variable independent dan variable dependent seperti berikut :



Keterangan

-  : Variabel bebas
-  : Variabel Terikat
-  : Variabel antara
-  : Variabel Kendali

2.9. Hipotesis Penelitian

2.9.1. Terdapat pengaruh efek pemberian ekstrak batang patah tulang akan mempengaruhi neutrophil dalam penyembuhan luka pada tikus putih dengan model perlukaan akut.

2.9.2. Terdapat pengaruh efek pemberian ekstrak batang patah tulang akan mempercepat terjadinya epitelisasi dalam penyembuhan luka pada tikus putih dengan model perlukaan akut.

2.9.3. Terdapat pengaruh efek pemberian ekstrak batang patah tulang akan mempercepat pertumbuhan kolagen dalam penyembuhan luka tikus putih dengan model perlukaan akut?

2.10. Definisi operasional

2.10.1. Luka tikus dengan model perlukaan akut adalah pembuatan luka akut pada tikus melalui luka eksisi berukuran 0,6 cm pada kulit dengan menggunakan *punch biopsy* pada epidermis hingga hypodermis/lapisan subkutan.

2.10.2. Neutrophil merupakan granulosit terkecil, memiliki 3 sampai 5 lobus bergabung dengan untaian tipis material genetik, mengandung banyak butiran keunguan yang disebut azurophilic. jumlah neutrophil dihitung dengan 3 lapang pandang menggunakan mikroskop dengan pembesaran objektif 400x.

- Tidak terdapat sel radang neutrophil perlapang pandang = 0
Terdapat 1-5 sel radang neutrophil perlapang pandang = 1
Terdapat 6-10 sel radang neutrophil perlapang pandang = 2



- Terdapat 11-15 sel radang neutrophil perlapang pandang = 3

2.10.3. Epitelisasi merupakan tahap akhir dari suatu penyembuhan luka, dengan melihat kecepatan pembentukan jaringan epitel pada luka menggunakan mikroskop dengan pembesaran objektif 400x.

- 75-100 % pembentukan epitelisasi = 3
- 50-75 % pembentukan epitelisasi = 2
- 25-50 % pembentukan epitelisasi = 1
- < 25 % pembentukan epitelisasi = 0

2.10.4. Kolagen merupakan protein yang terbanyak pada jaringan tubuh, termasuk kulit. Kolagen dapat dilihat melalui pewarnaan HE sebagai zona rangkaian serat berwarna merah muda cerah. Parameter skoring histopatologi untuk kepadatan kolagen (berdasarkan perhitungan 1 lapang pandang, pada objek pembesaran 100x) :

- Kepadatan kolagen rapat perlapang pandang = 3
- Kepadatan kolagen sedang perlapang pandang = 2
- Kepadatan kolagen rendah perlapang pandang = 1
- Tidak terdapat kolagen perlapang pandang = 0

