

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Salah satu organ terbesar yang menutupi seluruh permukaan tubuh adalah kulit. Kulit memiliki peran sebagai pelindung tubuh dari trauma dan patogen. Kulit sangat rentan terhadap gangguan dari luar baik itu bakteri, virus, maupun tekanan fisik yang dapat menyebabkan luka. Rusaknya fungsi epidermis kulit yang disertai hilangnya kontinuitas jaringan epitel dengan atau tanpa kerusakan jaringan lain seperti otot, tulang dan saraf disebut luka (Vachhrajani & Khakhkhar, 2020). Berbagai faktor yang dapat menyebabkan luka diantaranya: tekanan, sayatan dan luka akibat operasi. Pada beberapa kasus, Meskipun luka dapat sembuh dengan sendirinya tanpa penanganan dokter, kondisi tertentu seperti luka yang terlalu besar atau terlalu dalam dapat menyebabkan kulit kehilangan kemampuannya untuk menyembuhkan diri sendiri sehingga perlu diberikan perlakuan untuk mempercepat proses penyembuhan luka (Dogan, 2019b), (Tottoli et al., 2020).

Perawatan luka merupakan tindakan dengan upaya untuk mencegah infeksi, membunuh atau menghambat pertumbuhan kuman/bakteri pada kulit dan jaringan tubuh lainnya. Bergantung pada jenis dan kondisi pasien. Seperti pada luka penderita diabetes, mengingatkan resiko infeksi yang dapat terjadi, karena luka kecil pun dapat menyebabkan infeksi akibat penurunan sistem imun (Liu et al., 2022). Bahkan garukan yang dilakukan oleh rasa gatal juga dapat menyebabkan luka yang harus segera diobati untuk mencegah terjadinya infeksi. Perawatan luka secara cepat dan tepat, penting untuk mencegah kehilangan air trans-epidermal dan infeksi mikroba untuk mempercepat proses penyembuhan luka (Kazemi et al., 2020), (Tort et al., 2020). Tahapan penyembuhan luka melalui empat tahap, yaitu penghentian perdarahan (hemostasis), peradangan (inflamasi), pembangunan jaringan baru (proliferasi), dan penguatan jaringan (remodeling). Tahapan ini melalui berbagai mekanisme untuk mengembalikan fungsi jaringan khususnya pada kulit agar dapat berfungsi seperti semula. (Vachhrajani & Khakhkhar, 2020), (Shukla et al., 2019).

Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi kedokteran saat ini menawarkan berbagai metode dan teknik perawatan luka, antara lain pembalut luka, perawatan terapeutik, dan pengobatan (Vachhrajani & Khakhkhar, 2020). Oleh sebab itu, pemilihan metode yang tepat diperlukan untuk mempercepat proses penyembuhan luka. Beberapa jenis dressing konvensional diantaranya yaitu: kain kasa, plester, serat, perban alami atau sintesis, dan kapas. (Gaspar-Pintilieșcu et al.,



2). Akan tetapi, bahan *dressing* tersebut dapat memberikan tab pada luka sehingga saat ini diganti dengan metode dressing ulasi lebih baik (Tort et al., 2020). *Dressing modern* dirancang melindungi daerah yang terluka dari infeksi eksternal tetapi juga ar luka tetap terhidrasi sehingga dapat mempercepat agai biomaterial alami juga menjadi perhatian praktis metode dressing berbahan dasar gelatin (Gaspar-Pintilieșcu et

al., 2019). Gelatin merupakan biomaterial dan menyerupai matriks ekstraseluler jaringan tubuh manusia. Gelatin dapat menjadi pilihan bahan dasar penyembuhan luka karena sifatnya yang fleksibel dan stabil, sehingga dapat menjadi pilihan sebagai bahan dasar produk medis yang bersifat implan (Tanaka et al., 2005). Selain itu, gelatin memiliki sifat non-imunogenesitas, *low antigenicity*, mudah diperoleh dan harganya mudah dijangkau (Ndlovu et al., 2021). Jaipan et. al menyatakan bahwa gel bioadhesive berbasis gelatin menjadi pilihan dalam penyembuhan luka karena biaya produksinya yang lebih rendah, tingkat penyembuhan yang lebih cepat, dan pengaplikasian yang mudah.¹⁹ Studi oleh Islam et al., menunjukkan bahwa gelatin dalam bentuk *gelatin-based instant gel-forming volatile spray* (gelatin spray) membantu dalam penyembuhan luka. Pemberian gelatin pada luka berpengaruh terhadap peningkatan kadar faktor pertumbuhan yang berperan dalam mempercepat penyembuhan luka. Sediaan dalam bentuk *spray* mengurangi penggunaan medium lain atau dengan tangan untuk mengaplikasikannya, sehingga mengurangi kontaminasi. Pengaplikasian dengan *spray* akan membentuk lapisan tipis pada luka dan mudah diserap (Islam et al., 2021).

NaCl 0,9% merupakan salah satu *dressing* untuk luka yang sudah lama digunakan. NaCl 0,9% merupakan cairan isotonik dan fisiologik. Dressing NaCl 0,9% akan membuat keadaan luka menjadi lembab sehingga mendukung lingkungan untuk penyembuhan luka. Selain itu *dressing* NaCl 0,9% juga dapat menjadi debridemen mekanikal dengan penggantian *dressing* secara rutin. (Lim et al., 2000) Penggunaan *dressing* ini bekerja juga sebagai mekanikal debridemen dengan cara membiarkan kassa yang dibasahi dengan NaCl 0,9% hingga kering dan mengangkat jaringan mati sehingga mendukung penyembuhan luka lebih baik. (Cowan & Stechmiller, 2009)

Penyembuhan luka melewati beberapa tahap, dimana dapat dibagi menjadi 3 fase : respon inflamasi, fase proliferasi, dan remodeling. Pada respon inflamasi terjadi hemostasis dan infiltrasi sel darah putih pada luka. Fase proliferasi terjadi vaskularisasi, deposisi matriks ekstraseluler (ECM) dan re-epitelisasi. Pada penyembuhan luka, IL-6 terjadi penurunan saat fase remodeling yang disebabkan karena pada fase ini terjadi apoptosis dari leukosit inflamasi dan pengurangan signaling sitokin. Kerusakan jaringan menyebabkan sel nekrosis dan hilangnya integritas dari membrane sel. Hal ini mengeluarkan *damage-associated molecular patterns* (DAMPs) termasuk ATP, IL-33, IL-1 α dan menstimulasi efek inflamasi . Makrofag mengsekresikan sitokin proinflamatori termasuk IL-6 yang memiliki peran pada inflamasi akut. IL-6 memiliki peran dalam diferensiasi Th2 dan Th17 pada CD4+. IL-6 juga berperan pada fase proliferasi dimana IL-6 *trans-signaling* dan jalur signaling



migrasi dari fibroblast ke daerah luka. Fibroblas memproduksi matriks ekstraseluler (ECM) yang dibutuhkan untuk re-epitelisasi luka. Signaling IL-6 menginisiasi interaksi profibrotic fibroblast/keratinosit. Monosit dan makrofag merespon terhadap paparan IL-6 menghasilkan IL-1 β dan TNF α yang meningkatkan produksi keratinosit growth factor (KGF) dari fibroblas (B. Z.

Angiogenesis merupakan pembentukan pembuluh darah baru dari vascular yang sudah ada. Hal ini merupakan salah kondisi proliferasi dari penyembuhan luka. *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) merupakan molekul proangiogenic yang sangat penting. VEGF merupakan memiliki regulator positif terhadap angiogenesis dan stimulasi sel endothelial yang dibutuhkan untuk formasi pembuluh darah baru seperti proliferasi, migrasi, diferensiasi dan *survival*.(K. E. Johnson & Wilgus, 2014)

Faktor pertumbuhan dan pro inflamasi merupakan kelompok protein yang berperan menstimulasi pertumbuhan jaringan secara spesifik dan memiliki peranan penting dalam proses diferensiasi dan pembelahan sel. Terdapat beberapa faktor pertumbuhan dan pro inflamasi yang berpengaruh terhadap proses penyembuhan luka, salah satunya yaitu *vascular endothelial growth factor* dan IL-6 (Salsabila, n.d.), (Sachraswaty, 2020) Pada penelitian ini, peneliti ingin mengetahui perbandingan efektivitas terapi gelatin spray dan NaCl 0,9% pada penyembuhan luka serta pengaruhnya terhadap kadar faktor pertumbuhan VEGF dan faktor inflamasi IL-6.

1.2 Teori

1.2.1 Luka

1.2.1.1 Definisi

Luka merupakan kejadian dimana putusnya kontinuitas epitel kulit atau mukosa yang diakibatkan oleh kerusakan fisik atau termal. (Dhivya et al., 2015). Berdasarkan lama dan sifat dari proses penyembuhan, luka dapat dibagi menjadi akut dan kronik. Luka akut merupakan luka yang terjadi pada kulit yang diakibatkan oleh kecelakaan atau pembedahan. Luka akut mengalami penyembuhan pada waktu 8-12 minggu. Disisi lain, luka kronik merupakan luka yang gagal mengalami penyembuhan pada fase normal diatas 12 minggu (Dhivya et al., 2015).

1.2.1.2 Proses penyembuhan luka

Secara fisiologis, tubuh memiliki kemampuan untuk memperbaiki kerusakan jaringan kulit sendiri yang dikenal dengan penyembuhan luka. Penyembuhan luka adalah respon organisme terhadap kerusakan jaringan atau organ dan usaha untuk mengembalikannya ke keadaan homeostatis sedemikian rupa sehingga tercapai stabilitas fisiologis jaringan atau organ dimana terjadi reorganisasi jaringan kulit yang disebabkan oleh pembentukan jaringan fungsional epitel yang menutupi luka. Sifat penyembuhan semua luka adalah sama, dengan variasi tergantung pada lokasi luka, tingkat keparahan luka dan luasnya luka. Selain itu, penyembuhan luka dipengaruhi



l dan jaringan untuk beregenerasi.(Gaspar-Pintilieșcu et al., 2021; Tanaka et al., 2005)

Penyembuhan luka didasarkan pada jenis atau metode yaitu penyembuhan luka primer (*primary intent*), sekunder (*secondary intent*) dan tersier (*tertiary intent atau delay primary intent*). (Bagchi et al.,

Penyembuhan luka secara primer (primary intention) adalah luka yang ditutup dengan cara dirapatkan kembali dengan menggunakan alat bantu sehingga bekas luka (scar) tidak ada atau minimal. Luka berkembang tanpa banyak kehilangan jaringan kulit. Luka ditutup dengan cara direkatkan kembali dengan alat agar bekas luka tidak ada atau minimal. Proses yang terjadi adalah epitelisasi dan deposisi jaringan ikat. Contohnya termasuk luka sayat dan luka operasi yang dapat sembuh dengan jahitan, stapler, taos eksternal, atau lem yang kencang. (Liu et al., 2022)

2. Penyembuhan luka sekunder (secondary intention)

Penyembuhan luka secara sekunder (secondary intention). Pada proses penyembuhan luka sekunder kulit mengalami luka (kerusakan) dengan kehilangan banyak jaringan sehingga memerlukan proses granulasi (pertumbuhan sel), kontraksi, dan epitelisasi (penutupan epidermis) untuk menutup luka. Dalam keadaan luka penyembuhan sekunder, jika dijahit, risiko terbuka kembali atau nekrosis (mati) sangat besar. (Lei et al., 2019; Tottoli et al., 2020)

3. Penyembuhan luka tersier (delayed primary)

Penyembuhan luka secara tersier atau delayed primary terjadi jika penyembuhan luka secara primer mengalami infeksi atau ada benda asing sehingga penyembuhannya terlambat. Luka akan mengalami proses debris hingga luka menutup. Penyembuhan luka dapat juga diawali dengan penyembuhan secara sekunder yang kemudian ditutup dengan balutan jahitan/dirapatkan kembali. Contohnya adalah luka operasi yang terinfeksi. (Tottoli et al., 2020)

Berdasarkan waktu penyembuhannya, luka dapat dibagi menjadi dua yaitu luka akut dan luka kronis. (Dogan, 2019a; Shukla et al., 2019)

1. Luka akut adalah luka yang terjadi kurang dari 5 hari dengan diikuti proses hemostasis dan inflamasi. Luka akut sembuh atau menutup sesuai dengan waktu penyembuhan luka fisiologis 0-21 hari. Luka akut juga merupakan luka trauma yang biasanya segera mendapat penanganan dan biasanya dapat sembuh dengan baik bila tidak terjadi komplikasi.
2. Luka kronik merupakan luka yang berlangsung lama atau sering timbul kembali (rekuren), dimana terjadi gangguan pada proses penyembuhan yang biasanya disebabkan oleh masalah multifaktor dari penderita. Luka kronik juga sering disebut kegagalan dalam penyembuhan luka.

Secara umum proses penyembuhan luka terdiri dari beberapa fase penyembuhan dimana dibagi dalam empat fase utama yaitu (1) Fase hemostatis, (2) Fase inflamasi, (3) Fase proliferasi, (4) Fase remodeling. Fase-fase penyembuhan luka dapat dijabarkan sebagai berikut: (Abdullah, 2022; Dogan, 2019a; Primadina et al. & Khakhkhar, 2020)



na yang mencapai dermis dapat menyebabkan perdarahan. adi perlukaan, tahap koagulasi dan hemostasis dimulai. j rusak akibat trauma langsung berkonstriksi, agregasi platelet, asi komplemen lainnya dengan membentuk pembekuan darah erdarahan. Peristiwa seluler dan biofisiologis pada fase

hemostasis, yaitu kontriksi pembuluh darah, agregasi platelet, degranulasi, dan pembentukan fibrin (trombus). Tujuan utama fase hemostasis adalah untuk mencegah perdarahan yang berlebih. Tujuan lainnya, yaitu menyediakan sebuah matriks untuk sel-sel penginvansi yang dibutuhkan pada tahap penyembuhan selanjutnya. Keseimbangan dinamis di antara sel-sel endotel, platelet, koagulasi, dan fibrinolisis mempengaruhi proses reparatif karena mengatur hemostasis dan penentu besarnya fibrin dalam penyembuhan luka.

2. Fase Inflamasi

Fase inflamasi terjadi pada awal kejadian atau pada saat luka terjadi hari ke-0 sampai hari ke-3 atau hari ke-5. Terdapat dua proses utama pada fase ini, yaitu respon vaskuler dan respon inflamasi. Respon vaskuler diawali dengan respon hemostatic tubuh selama 5 detik pasca luka. Sekitar jaringan yang luka mengalami iskemia yang merangsang pelapisan histamine dan vasoaktif yang menyebabkan vasodilatasi, pelepasan trombosit, reaksi vasodilatasi dan vasokonstriksi, dan pembentukan lapisan fibrin. Respon inflamasi adalah reaksi non spesifik tubuh dalam mempertahankan atau memberi perlindungan terhadap benda asing yang masuk kedalam tubuh ditandai dengan adanya nyeri, bengkak, panas, kemerahan dan hilangnya fungsi jaringan. (Shukla et al., 2019)

Peristiwa hemostasis termasuk dalam respon vaskular, yang merupakan tahapan pencegahan hilangnya darah. Terdiri dari tahapan konstiksi pembuluh darah, pembentukan sumbatan platelet, pembentukan bekuan darah sebagai hasil bekuan darah, dan pertumbuhan jaringan fibrosa ke dalam bekuan darah untuk menutup pembuluh darah yang rusak/ berlubang. Bekuan darah tersusun atas fibrin, fibronektin, vitronektin, trombospondin, eritrosit, dan platelet. Bekuan darah berfungsi sebagai pelindung sementara untuk luka dan bertindak sebagai transportasi sel inflamasi serta sebagai penghasil sitokin atau growth factors. (Andriani, 2018; Gaspar-Pintilieșcu et al., 2019)

Bekuan darah di sekitar jaringan luka mengeluarkan sitokin pro-inflammatory dan growth factors, seperti TGF- β , PDGF, FGF, and EGF. Setelah perdarahan terkontrol, sel inflamatori bermigrasi ke dalam luka (kemotaksis) dan mengadakan fase inflamasi. Trombin merupakan mediator awal dan penting dalam bekuan darah yang dikeluarkan oleh platelet. Trombin berfungsi sebagai clot formation dan berperan dalam proses inflamasi karena menstimulasi sitokin pro-inflammatory, seperti CCL2, IL-6, dan IL-8 dan sitokin inflammatory, seperti IL-6, IFN- γ , IL-1 β , dan TNF- α . (Naomi et al., 2021; Revilla, 2019; Sihotang & Yulianti, 2018)

3. Fase Proliferasi

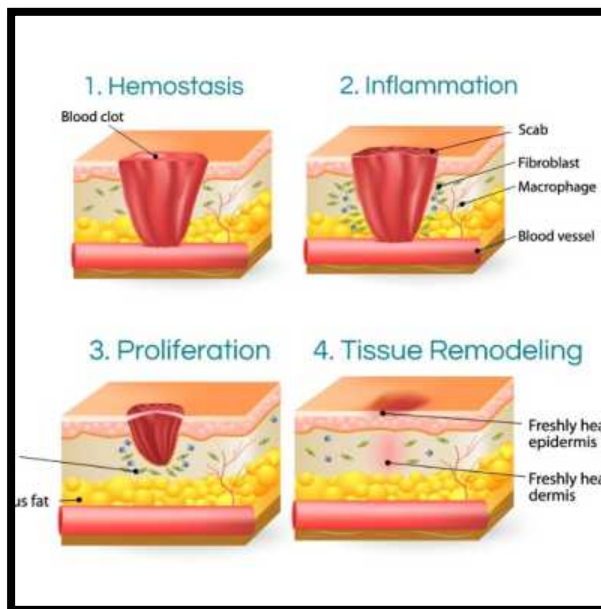
Fase proliferasi terjadi pada hari ke-5 sampai hari ke-7 setelah 3 hari se ini ditandai dengan pengeluaran makrofak dan neutrofil dapat melakukan sintesis dan remodelling pada mariks sel fase proliferasi makrofak berfungsi menstimulasi fibroblas untuk en dan elastin kemudian terjadi prose angiogenesis. Pada gen dan elastin yang dihasilkan menutupi luka dan membentuk Epitelasi terjadi setelah jaringan granulasi tumbuh, dimulai dari alami proses migrasi membentuk lapisan tipis yang menutupi



luka. Sel pada lapisan ini sangat rentan dan mudah rusak. Sel mengalami kontraksi sehingga tepi luka menyatu dan ukuran luka mengecil. (Shukla et al., 2019)

4. Fase Remodeling

Fase remodeling terjadi pada hari ke-8 hingga satu sampai dua tahun. Pada fase ini terbentuknya jaringan kolagen pada kulit untuk penyembuhan luka. Jaringan kolagen ini akan membentuk jaringan fibrosis atau bekas luka dan terbentuknya jaringan baru. Sitokin pada sel endothelial mengaktifkan faktor pertumbuhan sel dan vaskularisasi pada daerah luka sehingga bekas luka dapat diminimalkan. Aktifitas yang utama pada fase ini adalah penguatan jaringan bekas luka dengan aktifitas remodeling kolagen dan elastin pada kulit. Kontraksi sel kolagen dan 15 elastin terjadi sehingga menyebabkan penekanan ke atas kulit. Kondisi umum pada fase remodeling adalah rasa gatal dan penonjolan epitel di permukaan kulit. Pada fase ini kulit masih rentan terhadap gesekan dan tekanan sehingga memerlukan perlindungan. (Bagchi et al., 2020; Shukla et al., 2019; Yun et al., 2010)



Gambar 1. Tahapan proses penyembuhan luka

Proses penyembuhan juga dapat mengalami komplikasi. Komplikasi penyembuhan luka meliputi infeksi, pendarahan, dehiscence dan eviscerasi dan juga sinus. (Liu et al., 2022)



akan reaksi yang timbul jika luka tidak segera ditangani. Luka dengan replikasi mikroorganisme lebih dari 10 pangkat lima per diketahui melalui kultur cairan. Infeksi biasanya terjadi karena infeksi pada luka ditandai dengan bengkak pada area lokal, nyeri dan demam (suhu tubuh lebih dari 38°C), bau yang tidak normalnya cairan purulen, berubahnya warna cairan yang

mengindikasikan infeksi. Invasi bakteri pada luka dapat terjadi pada saat trauma, selama pembedahan atau setelah pembedahan. Pada luka sayat, resiko infeksi akan terjadi dalam 5 sampai 7 hari setelah operasi.(Aravindakshan et al., 2020)

2. Perdarahan

Perdarahan merupakan kejadian yang harus segera mendapatkan penanganan. Jika perdarahan luar atau dalam (hematoma) tidak diatasi, akan terbentuk satu jaringan nekrosis pada luka sehingga penting sekali melindungi kulit yang mengalami hematoma dan mengatasi perdarahan pada luka. Dapat menunjukkan suatu proses pelepasan jahitan, sulit membeku pada garis jahitan, infeksi atau erosi dari pembuluh darah oleh benda asing. 16 Hipovolemia mungkin tidak tampak, sehingga balutan jika mungkin harus sering dilihat selama 48 jam pertama setelah pembedahan dan tiap 8 jam setelah itu. Jika terjadi perdarahan yang berlegihan, penambahan tekanan luka steril mungkin diperlukan. Pemberian cairan dan intervensi pembedahan mungkin diperlukan.(Iacob et al., 2020)

3. Dehiscence dan eviscerasi

Dehiscence dan eviscerasi adalah komplikasi operasi yang paling serius. Dehiscence adalah terbukanya lapisan luka partial atau total. Eviscerasi adalah keluarnya pembuluh melalui daerah irisan. Sejumlah faktor meliputi, kegemukan, kurang nutrisi. Multiple trauma, gagal untuk menyatu, batuk yang berlebihan, muntah, dan dehidrasi mempertinggi resiko klien mengalami dehiscence luka.

1.2.1.3 Faktor yang memengaruhi penyembuhan luka

Banyak faktor yang dapat mempengaruhi perjalanan proses penyembuhan luka. Faktor faktor ini dapat dibagi menjadi faktor lokal dan faktor sistemik. Faktor lokal dapat dipengaruhi oleh oksigenasi, infeksi, benda asing dan vena insufisiensi, sementara faktor sistemik dapat dipengaruhi oleh usia dan jenis kelamin, hormon, stress, iskemia, penyakit penyulit (diabetes, keloid, uremia), obesitas, pengobatan (glukortikoid, kemoterapi), alcohol dan merokok, kondisi immunokompromais, nutrisi. Faktor-faktor ini secara langsung dapat mempengaruhi proses penyembuhan luka.



yang berperan dalam penyembuhan luka seperti hipotermia, nyeri, infeksi, radiasi, dan tekanan oksigen jaringan. Faktor ini secara langsung memengaruhi karakteristik dari luka tersebut. Oksigen merupakan kompoten penting dalam proses penyembuhan luka, dimana oksigen dapat mencegah terjadinya infeksi, menginduksi angiogenesis, meningkatkan diferensiasi dan migrasi keratinosit, menginduksi reepitelialisasi, meningkatkan proliferasi fibroblas dan sintesis kolagen. (Guo & DiPietro, 2010). Setiap luka akan mengalami hipoksia hingga titik tertentu dikarenakan adanya gangguan pada suplai vascular. Oksigen diperlukan untuk imana membantu dalam kemotraktan untuk membantu fagosit optimal. Oksigen juga dibutuhkan untuk deposisi kolagen trat pada hidrosilasi dari praline dan lisin (Young & McNaught, 'ang telah dilakukan menunjukkan bahwa keadaan hipoksia s TGF- β 1 dan sekresi fibroblast dan meningkatkan ekspresi e (COLA 1). Keadaan hipoksia yang berkepanjangan

menyebabkan turunnya aktivitas ini tetapi dapat Kembali bila sel mendapatkan lingkungan yang kaya akan oksigen. Pada saat terjadi luka awal, lingkungan di sekitar luka akan mengalami hipoksia akibat adanya kerusakan vaskular dan tingginya konsumsi oksigen oleh sel yang aktif secara metabolik. Kondisi hipoksia sementara dapat menginduksi terjadinya proses penyembuhan luka, namun jika kondisi ini terjadi dalam waktu yang lama maka proses penyembuhan akan terganggu. Hipoksia juga menginisiasi neovaskularisasi dimana keadaan hipoksia dan ROS *stimulate fibroblast*, keratinosit dan makrofag mengeluarkan VEGF (Rodriguez et al., 2008).

Infeksi merupakan faktor local lainnya yang mempengaruhi penyembuhan luka. Ketika terjadi kerusakan pada kulit, mikroorganisme yang secara normal terdapat pada permukaan kulit akan berusaha masuk ke dalam jaringan di bawah kulit. Inflamasi merupakan proses yang normal terjadi pada proses penyembuhan luka. Bakteri dan endotoksin dapat menyebabkan sitokin pro inflamasi seperti IL-1 dan TNF α secara berkepanjangan. Jika berkelanjutan, maka luka dapat menjadi kronis dan gagal untuk sembuh. Inflamasi berkepanjangan ini juga dapat menyebabkan terjadinya peningkatan MMP dan mengakibatkan degradasi matriks ekstraseluler berlebihan (Guo & DiPietro, 2010).

Faktor sistemik mempengaruhi kondisi tubuh secara umum dan berdampak pada kemampuan individu untuk sembuh. Beberapa faktor sistemik yang memengaruhi proses penyembuhan luka seperti usia, gender, hormon seksual, stress, iskemia, nutrisi, alkoholisme, merokok, dan penyakit lain seperti diabetes melitus. Populasi geriatri, dimana memiliki usia 60 tahun atau lebih menurut WHO, memiliki risiko yang lebih tinggi untuk terjadi gangguan proses penyembuhan luka. Hal ini dihubungkan dengan perubahan respon inflamasi seperti terlambatnya infiltrasi sel T kedalam luka dikarenakan perubahan produksi kemokin dan berkurangnya kapasitas fagosit makrofag (Guo & DiPietro, 2010). Aktifitas fagosit makrofag pada luka menurun dibandingkan pada orang usia muda. Terjadi peningkatan produksi sitokin proinflamasi IL-1, IL-6, TNF α dan penurunan sekresi VEGF. Selain itu selama fase proliferasi terjadi penurunan proliferasi dan migrasi, penurunan respon faktor pertumbuhan dan penurunan sekresi sitokin yang menghambat penutupan luka, penurunan angiogenesis dan deposisi ECM (Sgonc & Gruber, 2013).

Banyak obat yang dapat mempengaruhi penyembuhan luka. Glukokortikoid merupakan antinflamasi yang sering digunakan memiliki efek menghambat perbaikan luka dengan efek anti inflamasi global dan supresi respon seluler luka termasuk dan sintesis kolagen. Glukokortikoid juga menghambat *hypoxia-inducible factor-1* (HIF-1) yang merupakan faktor utama transkripsinya. Obat anti inflamasi non steroid (OAINS) seperti ibuprofen penyembuhan luka. Pada model binatang, penggunaan obat memiliki efek anti proliferasi, epitelisasi tertunda dan gangguan (Guo & DiPietro, 2010).



Nutrisi juga memiliki peran dalam penyembuhan luka. Berdasarkan WHO, malnutrisi merupakan seluruh jenis defisiensi, kelebihan, atau ketidakseimbangan pemasukan energi dan atau nutrisi. Protein dibutuhkan dalam sistem respon imun, dimana defisiensi dapat mengganggu progresi dari fase inflamasi ke fase proliferasi. Pada fase proliferasi dan remodeling, defisiensi protein mengurangi aktivitas fibroblast, menunda angiogenesis dan menurunkan formasi kolagen. Karbohidrat dan lemak meningkatkan energi yang dibutuhkan untuk mendukung respon inflamasi, aktivitas seluler, angiogenesis dan deposisi kolagen. Karbohidrat juga menstimulasi sekresi hormone dan faktor pertumbuhan. Arginin dan glutamin merupakan mikronutrien yang dibutuhkan untuk proses penyembuhan luka. Arginin merangsang produksi dan sekresi hormone pertumbuhan serta aktivasi dari sel T. Glutamin berfungsi sebagai metabolic, enzimatik, antioxidant dan imun pada luka yang melindungi dari risiko infeksi dan komplikasi inflamasi (Barchitta et al., 2019).

1.2.1.4 Parameter penyembuhan luka

a. Penilaian luka

Penilaian luka harus dinilai secara holistik. Penilaian ini akan membantu dalam mengidentifikasi faktor yang mempengaruhi penyembuhan luka. Inspeksi dan palpasi merupakan suatu komponen pemeriksaan. Pengukuran luka dapat menilai perkembangan luka memburuk atau membaik. Digunakan pengukuran yang objektif dengan satuan sentimeter atau milimeter (Simmons, 2022). Beberapa parameter dapat dijadikan sebagai evaluasi perkembangan luka. Pengukuran area luka pada hari yang telah ditentukan, menentukan lamanya epitelisasi, menentukan indeks luka, perkiraan kolagen, estimasi dari protein. Indeks luka dapat menggunakan sistem skoring arbitrary dimana menilai adanya pembentukan pus yang menunjukkan nekrosis, belum ada nya tanda penyembuhan walau lingkungan mendukung, terhambat tetapi penyembuhan baik, belum sempurna tetapi penyembuhan baik, penyembuhan sempurna (Shrivastav et al., 2018). Dengan model ini dapat menilai perdarahan, inflamasi, pembentukan jaringan granulasi, reepitelisasi, angiogenesis dan remodeling. Dokumentasi luka dapat dilakukan secara berkala dan penutupan luka diukur berdasarkan ukuran luka dibandingkan luka awal (Masson-Meyers et al., 2020).

b. Analisis histopatologi

Pemeriksaan histopatologi dapat digunakan untuk menilai luka terhadap respon terapi. Pada penelitian yang menggunakan luka eksisi pada tikus, dapat dilakukan terminasi pada tikus dengan ketamin HCL dosis tinggi dan mengeksisi luka pada setiap kelompok binatang. Jaringan kemudian lin dan dilakukan pemeriksaan mikroskop (Shrivastav et al., 2018). Alat dapat digunakan untuk menilai luka seperti *Ulcer Score*, *Sussman Wound Healing Tool* (SWHT), *Wound Healing Scale*, *Wound Assessment Tool* (LUMT) dan granulometer (Gupta & Kumar, 2015). Penelitian menggunakan model tikus untuk menilai penyembuhan luka dengan



menilai cела epithelial, karakteristik dasar granulasi dan kumpulan kolagen (Masson-Meyers et al., 2020).

c. Metode imunologis

Kejadian biologis yang kompleks pada penyembuhan luka terdapat suatu konsep penting dimana sel berkomunikasi dengan yang lainnya dan matriks ekstraseluler. Salah satu komunikasi antar sel dengan sitokin dan faktor pertumbuhan yang menstimulasi perbaikan endogen dengan memberikan signal kepada sel. Signal ini dapat diidentifikasi dan dihitung dengan berbagai Teknik seperti imunohitokimia dan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA).

ELISA merupakan Teknik laboratorium yang umum digunakan untuk menilai konsentrasi antibody atau antigen dan memberikan informasi penting terhadap perkembangan luka. Pada studi penyembuhan luka, beberapa sitokin dan faktor pertumbuhan yang dapat ditemukan seperti sitokin pro inflamasi ($\text{TNF}\alpha$, IL-6, IL-1 β , IFN- γ), sitokin antiinflamasi (IL-10), dan faktor pertumbuhan (EGF, PDGF, TGF- β 1, VEGF dan FGF) (Masson-Meyers et al., 2020).

1.2.2 NaCl 0,9%

Salah satu perawatan luka dengan menjaga keadaan luka tetap menjadi lembab. NaCl 0,9% merupakan cairan fisiologik dan isotonik yang dapat digunakan untuk menjaga luka tetap lembab. Penggunaan NaCl 0,9% sebagai *dressing* luka sudah sering digunakan terutama pada praktik klinis sehari-hari. Selain merupakan cairan fisiologik, NaCl 0,9% murah dan mudah didapat. (Farida Tabri, 2018) Pemberian *dressing* NaCl 0,9% diberikan dengan cara membasahi kassa agar lembab dan menutup daerah luka. Studi yang telah dilakukan menunjukkan adanya penguapan air pada kassa yang membuat *dressing* menjadi hipertonik dan menarik cairan dari luka dengan osmosis. (Lim et al., 2000)

Terdapat studi yang mengamati penyembuhan luka bakar dengan menggunakan NaCl 0,9% sebagai *dressing*. Pada hari ke 0 tidak ada perubahan pada proliferasi fibroblast, formasi kolagen, vaskularisasi, epitelisasi, infiltrasi sel inflamasi dan lapisan epidermis masih tampak rusak karena luka bakar. Pada hari ke 7 diamati terdapat peningkatan infiltrasi sel inflamasi dan pada hari ke 14 didapatkan penurunan sel inflamasi dan peningkatan proliferasi fibroblast, vaskularisasi dan formasi kolagen (Yüksel et al., 2014). Keadaan lingkungan yang lembab pada luka meningkatkan penyembuhan luka. Pada hidrasi yang terkontrol mempermudah migrasi sel epidermal, mempercepat epitelisasi tetapi juga mempertahankan keberadaan proteinase dan faktor pertumbuhan.



dengan kondisi yang lembab menstimulasi proliferasi ekratinosit fibroblast. Selain itu luka yang berada pada keadaan lembab vaskularisasi dibandingkan pada lingkungan yang kering (Junker et

1.2.3 Gelatin

Gelatin merupakan salah biomaterial yang sering digunakan dalam sediaan farmasi (Gaspar-Pintilieșcu et al., 2019), (Li et al., 2022). Gelatin merupakan polimer alami yang merupakan derivat dari kolagen tidak terlarut yang diproses melalui hidrolisis (Nikkhah et al., 2016). Gelatin terdiri dari prolin, glisin, dan hidroksipolin dimana komposisi ini menyerupai matriks ekstraseluler (Sulaiman et al., 2020). Gelatin merupakan polimer polielektrolit yang memiliki sejumlah senyawa terionisasi dan bersifat larut dalam air. Gelatin bersifat kompatibel pada jaringan tubuh manusia dan bersifat fleksibel, serta stabil. Karena hal tersebut, gelatin banyak digunakan dalam industri farmasi dalam berbagai sediaan obat termasuk untuk penyembuhan luka bakar.

Gelatin didapatkan dari berbagai sumber seperti mammalian, porcine, bovin, kulit ikan (*Labeo rohita*), ayam, kaki burung (*Encephalopat*), kulat unta, rumput laut, dan berbagai sumber lainnya (Islam et al., 2021) Gelatin memiliki ukuran peptide yang kecil, dan bersifat hidrofilik. Gelatin merupakan derivat dari kolagen dimana kolagen sendiri merupakan komponen penyusun dari matriks ekstraseluler. Ikatan hidrogen yang kuat membentuk jaringan makromolekul 3 dimensi yang menyebabkan mobilitas rantai molekul gelatin berkurang drastis, dengan demikian *electrospinnability* gelatin menjadi sangat rendah. Untuk meningkatkan sifat mekanik dan stabilitasnya, gelatin memerlukan proses pengikatan silang agar struktur gelatin tidak mudah larut dalam lingkungan biologis. Keberadaan PVA sebagai campuran gelatin dapat meningkatkan *electrospinnability* dan kekuatan mekanik dari membran, namun dengan tetap mempertahankan sifat adhesi sel yang baik dan menjaga kelembaban pada luka karena sifat hidrofiliknya (Al-Nimry et al., 2021), (Kang & Park, 2021).

Gelatin memiliki beberapa sifat yang mampu mempercepat proses penyembuhan luka. Gelatin memiliki efek homeostasis dimana gelatin mampu menstimulasi percepatan terbentuknya trombus dan menyediakan dukungan struktural. Dalam waktu 2 hari sampai 6 minggu, struktur gelatin dapat terserap atau mencair dan berguna sebagai agen hemostasis. Dibandingkan dengan kolagen, gelatin menunjukkan sifat hemostasis yang lebih superior. Selain itu, gelatin merupakan struktur *biofriendly* yang menyerupai matriks ekstraseluler, gelatin dapat berinteraksi secara sempurna dengan adiposit, keratinosit, dan sel punca serebelum. Ketika dipertemukan dengan keratinosit, gelatin tidak memperlihatkan adanya efek sitotoksik. Karena sifatnya tersebut, maka gelatin mampu meningkatkan proses vaskularisasi pada lokasi penyembuhan (Şelaru et al., 2019). Integrasi efek antibakterial ke dalam biomaterial merupakan komponen penting untuk mencegah bakteri pada lokasi luka. Gelatin, seperti kolagen alami tidak i antibakterial. Maka dari itu, inkorporasi efek antibakterial ke diperlukan untuk meningkatkan keefektifitasannya. Efek atin dapat diperoleh melalui integrasi gelatin dengan ekstrak



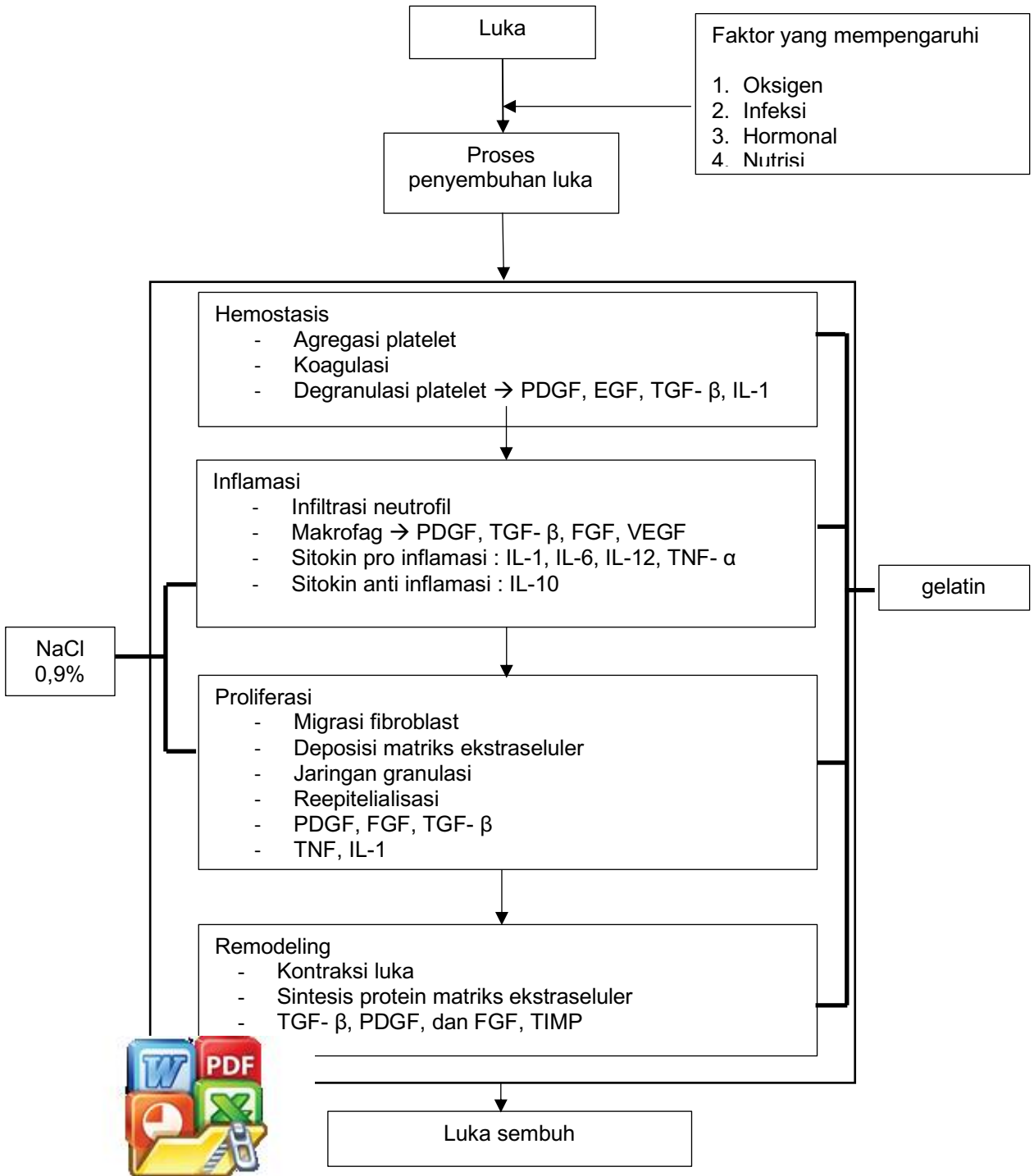
t berpenetrasi ke sel membran dan menjadi molekul aktif yang gen hemostatik untuk menginisiasi penyembuhan luk dan

menyerap eksudat pada luka sehingga menciptakan lingkungan yang sesuai untuk dimulainya fase inflamasi. Gelatin juga dapat mengabsorpsi eksudat yang terdapat pada area luka dan membuat lingkungan yang mendukung dimulainya fase penyembuhan luka (fase inflamasi) dimana gelatin bersifat protektif terhadap kulit. Pada fase proliferasi, gelatin merangsang migrasi dari sel-sel terutama fibroblast pada situs luka. Gelatin dapat berinteraksi dengan adiposit, keratinosit, sel punca serebelum, serta pre-osteoblas karena strukturnya yang menyerupai matriks ekstraseluler. Hal tersebut membuat gelatin dapat merangsang pembentukan jaringan baru dan memberi kekuatan mekanis pada struktur sekitar jaringan luka. Kelemahan dari polimer alam ini adalah sifatnya yang rentan terhadap kontaminasi mikroba (Tanaka et al., 2005), (Kang & Park, 2021). Pada sebuah penelitian menunjukkan bahwa gelatin dapat mempengaruhi ekspresi sitokin pro inflamasi IL-6. Penelitian yang dilakukan oleh Zang et al menemukan adanya peningkatan ekspresi dari VEGF, HGF, bFGF, dan PDGF pada sel punca yang diberikan gelatin *microgel*. Adanya peningkatan dari sistem parakrin ini, maka gelatin dapat mempercepat proses penyembuhan luka.

Gelatin mampu merangsang epitelisasi, granulasi, dan pembentukan jaringan baru dan sering dikombinasikan dengan polimer lain seperti kitosan dan asam hialuronat untuk meningkatkan atau memodifikasi sifat biologis atau mekanik. Choi dkk. menyelidiki efek penyembuhan luka dari gelatin alginat sebagai bahan pembalut luka dengan kemampuan penyembuhannya.³⁵ Demikian pula, Kawai dkk., mikrosfer gelatin yang diresapi dengan faktor pertumbuhan fibroblas dasar menjadi dermis buatan untuk regenerasi kulit (Andriani, 2018). Studi lain menunjukkan efektivitas gelatin memainkan peran penting pada proses penyembuhan luka. Kemampuannya dalam membantu proses pembentukan jaringan granulasi, meningkatkan reepitelisasi, serta angiogenesis (Naomi et al., 2021). Selain itu, gelatin juga dapat menunjukkan efek antimikrobial jika digabung dengan PEG dan DEE. Hasil penelitian Arrochman dkk. menyimpulkan bahwa sediaan modern dressing berbahan gelatin dapat mempercepat proses penyembuhan luka. Hasil serupa diperoleh dari penelitian Salsabilah yang menyimpulkan, terapi gel berbahan gelatin efektif dalam mempercepat penyembuhan luka pada penderita diabetes (Salsabilah, 2021). Atas dasar tersebut, gelatin saat ini dapat menjadi salah satu modalitas terapi yang digunakan sebagai perawatan luka.

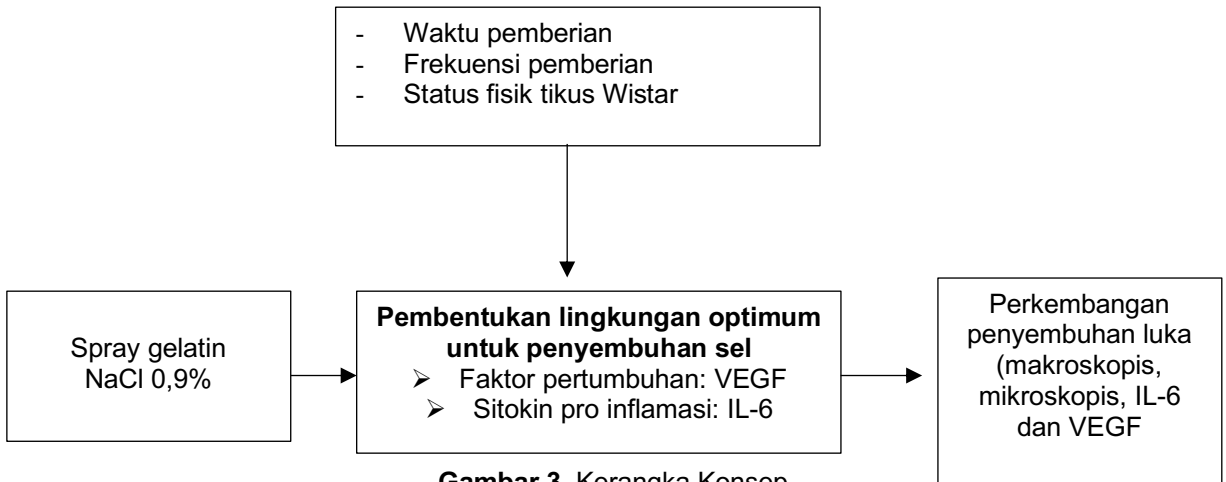


1.2.4 Kerangka Teori



Gambar 2. Kerangka Teori

1.2.5 Kerangka Konsep



Gambar 3. Kerangka Konsep

1.3 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang dirumuskan pertanyaan sebagai berikut:

1. Bagaimana diameter luka pada proses penyembuhan luka tikus Wistar yang diberi gelatin spray dibandingkan dengan pemberian NaCl 0,9%?
2. Bagaimana respon inflamasi proses penyembuhan luka tikus Wistar yang diberi gelatin spray dibandingkan dengan pemberian NaCl 0,9%?
3. Bagaimana reepitelisasi pada proses penyembuhan luka tikus Wistar yang diberi gelatin spray dibandingkan dengan pemberian NaCl 0,9%?
4. Bagaimana vaskularisasi pada proses penyembuhan luka tikus Wistar yang diberi gelatin spray dibandingkan dengan pemberian NaCl 0,9%?
5. Bagaimana kadar IL-6 dan *vascular endothelial growth factor* (VEGF) pada proses penyembuhan luka tikus Wistar yang diberi gelatin spray dibandingkan dengan pemberian NaCl 0,9%?
6. Bagaimana perbandingan efektifitas terapi gelatin spray dan NaCl 0,9% sebagai perawatan luka



n

k pemberian spray gelatin, dibandingkan kelompok yang ,9% terhadap penyembuhan luka.

b. Tujuan Khusus

1. Mengetahui perubahan diameter luka secara makroskopis pada tikus Wistar sebelum dan setelah diaplikasikan dengan gelatin spray dan NaCl 0,9%
2. Mengetahui respon inflamasi pada luka pada tikus Wistar sebelum dan setelah diaplikasikan gelatin spray dan NaCl 0,9%
3. Mengetahui reepitelisasi pada luka pada tikus Wistar sebelum dan setelah diaplikasikan gelatin spray dan NaCl 0,9%
4. Mengetahui vaskularisasi pada luka pada tikus Wistar sebelum dan setelah diaplikasikan gelatin spray dan NaCl 0,9%
5. Mengetahui kadar IL-6 dan VEGF luka pada tikus Wistar sebelum dan setelah diaplikasikan gelatin spray dan NaCl 0,9%
6. Mengetahui perbandingan efektifitas terapi gelatin spray dan NaCl 0,9% sebagai terapi penyembuhan luka

1.5 Hipotesis Penelitian

Ho diterima apabila pemberian spray gelatin dan NaCl 0,9% tidak memberikan perbedaan dalam penyembuhan luka.

Ha diterima apabila pemberian spray gelatin dan NaCl 0,9% memberikan perbedaan dalam penyembuhan luka.

1.6 Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritik

- Hasil penelitian ini dapat digunakan untuk menjadi bahan acuan sebagai *wound dressing*
- Data efektifitas penggunaan spray gelatin sebagai material *wound dressing*
- Menambah pengetahuan terhadap material baru yang dapat digunakan sebagai *wound dressing*

2. Manfaat aplikatif

- Hasil penelitian ini dapat digunakan untuk meningkatkan pelayanan masyarakat sebagai *wound dressing*
- Pasien mendapatkan tambahan obat yang diaplikasikan untuk *wound dressing*



dologi

elitian ini dapat menjadi bahan dasar untuk penelitian ya.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Rancangan Penelitian

Desain yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimental dengan pendekatan *true-experimental design, pre- and post-treatment*

2.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Terpadu PSKH-FKUH Makassar pada bulan Juni 2024

2.3 Populasi Penelitian

Penelitian ini akan menggunakan tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar.

2.4 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) Galur wistar yang terstandar oleh LIPI (usia 12 minggu, berat badan 200-250 gram, jantan). Sampel penelitian memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi akan ditentukan sesuai jumlah masing-masing kelompok.

2.5 Jumlah Sampel

Penentuan besar sampel berdasarkan rumus Federer:

$$\begin{aligned} (t-1)(n-1) &\geq 15 \\ (9-1)(n-1) &\geq 15 \\ 8n - 8 &\geq 15 \\ 8n &\geq 23 \\ n &\geq 2,875 \rightarrow 3 \end{aligned}$$

Keterangan:

t: jumlah kelompok uji

n: besar sampel per kelompok

Besar sampel ideal menurut hitungan rumus Federer adalah 3 ekor tikus Wistar atau 9 ekor tikus Wistar. Dengan demikian jumlah tikus Wistar semua kelompok uji adalah 27 ekor. 27 ekor tikus terbagi menjadi 3 kelompok, yaitu



1. Kelompok kontrol diberikan perlakuan dengan jumlah 9 ekor

2. Kelompok perlakuan diberikan gelatin spray dengan jumlah 9 ekor

3. Kelompok perlakuan diberikan NaCl 0,9% dengan jumlah 9 ekor

2.6 Kriteria Sampel

2.6.1 Kriteria inklusi :

- Tikus Wistar jantan usia 12 minggu dengan berat badan 200-250 gram dan dalam keadaan sehat

2.6.2 Kriteria eksklusi :

- Tikus Wistar yang sakit dalam percobaan
- Tikus Wistar yang mati dalam percobaan
- Tikus Wistar yang secara makroskopis mengalami kelainan

2.7 Ijin Penelitian dan Kelayakan Etik

Permintaan ijin serta persetujuan kelayakan etik penelitian dari Komisi Etik penelitian biomedis pada hewan coba Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin

2.8 Alat dan Bahan

Alat dan Bahan

a. Alat

- *Punch biopsy* ukuran 8 mm
- *Blade holder* no.3
- *Blade* no.10
- *Pinset anatomis*
- Kasa steril 5x5 cm
- Kapas alkohol 70%
- Gunting tajam tumpul kecil
- Silet
- Mistar besi
- Timbangan digital merk KK 500 PS®
- Spidol marker
- Pot sediaan, ukuran 5 ml
- Disposable spuit 1 cc
- Mikroskop Olympus DP 12®

b. Bahan

- Ketain ampul
- ampul
- Buffer hari 3
- alatin
- 1%



2.9 Prosedur Penelitian

2.9.1 Cara Pembuatan Gelatin Spray

Sebanyak 400 ml Gelatin spray dibuat dengan cara langkah pertama yaitu melarutkan serbuk gelatin ke dalam 100 ml aquadest panas (suhu lebih dari 60° C) hingga terlarut sempurna. Pada wadah lain dimasukkan lithium sodium silicate ke dalam 200 ml aquadest dingin dan diaduk menggunakan alat mixer hingga terlarut sempurna. Dimasukkan cairan gelatin ke dalam larutan lithium sodium silicate sambil dilakukan pengadukan. Dimasukkan DM DM dan alkohol ke dalam campuran tersebut hingga tercampur homogen. Diamkan campuran yang sudah jadi hingga busanya menghilang.

2.9.2 Komposisi Gelatin Spray

400 mL cairan gelatin spray terdiri dari Ethanol 96% teknis 96 ml, Gelatin 20 gram, lithium sodium silicate 2 gram, DM DM hidantoin 2 ml, dan Aquadest 300 ml

2.9.3 Uji Stabilitas Gelatin Spray

Uji Stabilitas Gelatin Spray dilakukan oleh PT Kymmoshi Global Indonesia dimana didapatkan hasil Produk Gelatin Spray masih stabil pada kurun waktu penyimpanan selama 30 hari

2.9.4 Persiapan sampel tikus

- 27 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus* galur Wistar), usia 12 minggu, dengan berat badan 200-250 gram, dikelompokkan menjadi 9 kelompok yang masing-masing terdiri atas 3 ekor. Setiap tikus memiliki kandang sendiri, yang artinya untuk total sampel pada penelitian ini dibutuhkan sebanyak 27 kandang. Tujuan dari penempatan tikus pada kandang masing-masing adalah untuk menghindari terjadinya serangan tikus satu sama lain. Jika terjadi serangan seperti gigitan, dapat terjadi manipulasi pada luka sehingga pengamatan dapat terganggu.
- Makanan tikus putih berupa biji-bijian dan daun dengan frekuensi 2-3 kali sehari. Tidak diberikan makanan yang mengandung protein tinggi seperti daging karena dapat mempengaruhi proses penyembuhan luka
- Setiap tikus Wistar yang memenuhi kriteria inklusi diadaptasi selama 1 minggu. Kemudian dilakukan injeksi ketamin 20mg/kgBB dan xylazine 100 mg/kgBB secara intramuskular, kemudian menunggu hingga tikus Wistar teranestesi setelah itu bulu tikus di daerah punggung dicukur dengan gunting dan silet. Area dibersihkan dengan kapas alkohol, buat luka menggunakan teknik *punch biopsy* ukuran diameter 8 mm kedalamannya mencapai lapisan subkutis dan dipastikan tidak ada suk dalam jaringan yang dieksisi, masing-masing tikus Wistar



- Pada kelompok Gelatin spray, gelatin spray disemprotkan pada jarak 3 cm sebanyak 0,2 cc hingga menutupi seluruh permukaan luka. Gelatin disemprotkan sebanyak 2 kali per hari (12 jam) pada luka dan ditutup dengan kassa tipis. Pada kelompok NaCl 0,9%, kassa yang dibasahi oleh NaCl 0,9% diletakkan diatas luka dan didiamkan selama 10 menit. Setelah 10 menit, kassa NaCl 0,9% diganti dengan kassa tipis untuk menutup luka, dilakukan sebanyak 1 kali per hari pada luka (24 jam).
- Pada hari ke-2 (48 jam setelah perlakuan), 3 tikus Wistar baik kelompok yang tidak mendapat perlakuan, kelompok gelatin spray dan NaCl 0,9% diberi ketamin xilacin sebagai anestesi kemudian diambil jaringan kulit/19tatis pada pungung sekitar daerah luka. Dilakukan insisi tepi luka dan bersama dengan lapisan dasar dinding otot dipisahkan dari jaringan sekitarnya. Jaringan difiksasi dalam formalin buffer 10%.
- Pada hari ke-7 (168 jam setelah perlakuan), 3 tikus Wistar baik kelompok yang tidak mendapat perlakuan, kelompok gelatin dan NaCl 0,9% diberi ketamin xilacin sebagai anestesi kemudian diambil jaringan kulit/19tatis pada pungung sekitar daerah luka. Dilakukan insisi tepi luka dan bersama dengan lapisan dasar dinding otot dipisahkan dari jaringan sekitarnya. Jaringan difiksasi dalam formalin buffer 10%.
- Pada hari ke-14 (336 jam setelah perlakuan), 3 tikus Wistar baik kelompok yang tidak mendapat perlakuan, kelompok gelatin dan NaCl 0,9% diberi ketamin xilacin sebagai anestesi kemudian diambil jaringan kulit/19tatis pada pungung sekitar daerah luka. Dilakukan insisi tepi luka dan bersama dengan lapisan dasar dinding otot dipisahkan dari jaringan sekitarnya. Jaringan difiksasi dalam formalin buffer 10%.

2.9.5 Pemeriksaan Makroskopik

Penyembuhan luka yang dinilai secara makroskopis yaitu besar diameter luka dengan mengukur perubahan diameter luka dari luka yang dibuat dengan luka setelah perlakuan.

2.9.6 Pemeriksaan Histopatologis

Sampel jaringan difiksasi buffer formalin 10%. 24 jaringan ditaruh dalam blok parafin dan dipotong dengan ketebalan 4-5 μ M. Tiap bagian yang dipotong kemudian dideparafinasi dengan xylene dan dibagi skala dengan serial alkohol ke air kemudian diwarnai dengan hematoxylin eosin untuk ar mikroskop Olympus CV®.



Warnaan Hematoxylin Eosin (Modifikasi Harri's)
 alkohol 1%
 ted Lithium Carbonate
 nia water
 Phloxine solution

- 5) Komposisi HE (Modifikasi Harri's):
- Hematoksilin.....5 gram
 - Alkohol, 100% etil.....50 ml
 - Potassium/ammonium, alum..... 100 gram
 - Aqua destilata.....1000 gram
 - Mercuri oxide, red.....2,5 gram
- b) Prosedur pewarnaan Hematoxylin Eosin (Modifikasi Harri's)
- 1) Deparafinisasi dan hidrasi pada aqua destilata
 - 2) Warnai dalam filtrasi segar Hematoksilin modifikasi Harri's selama 6-15 menit
 - 3) Cuci dengan air mengalir selama 2-5 menit
 - 4) Diferensiasi dalam asam alkohol 1% 1-2 tetes
 - 5) Cuci dengan perlahan dan terbalik dibawah air kran
 - 6) Letakkan pada bagian atas cover ammonia water atau larutan jenuh lithium carbonate sampai tampak berwarna biru kelam.
 - 7) Cuci secara langsung dalam air mengalir selama 10 menit
 - 8) Tempatkan 200% etil alkohol untuk 1-2 menit
 - 9) Dehidrasi dab bersihkan langsung dua perubahan dari masing-masing 95% etil alkohol, etil alkohol absolut dan *xylene* masing-masing 2 menit
 - 10) Simpan dengan medium *resinous*

2.9.7 Pemeriksaan ELISA

a) Tahap persiapan

1. Menyiapkan semua reagen, larutan standar dan sampel sesuai instruksi. Membawa semua reagen ke suhu kamar sebelum digunakan. Pengujian dilakukan pada suhu kamar.
 2. Menentukan jumlah strip yang diperlukan untuk pengujian. Memasukkan strip ke dalam frame untuk digunakan. Strip yang tidak digunakan harus disimpan pada suhu 2-8°C.
 3. Menambahkan standar 50ul ke wadah standar. Catatan: Jangan menambahkan 20tatisti ke standar karena larutan standar mengandung 20tatisti terbiotinilasi.
 4. Tambahkan 40ul sampel ke wadah sampel dan kemudian tambahkan 10ul 20tatisti Human EGF ke sumur sampel, lalu tambahkan 50ul streptavidin-HRP ke wadah sampel dan wadah standar (Bukan wadah 20tatist kosong).
- jan baik. Tutupi wadah dengan sealer. Inkubasi 60 menit pada



sealer dan cuci wadah 5 kali dengan buffer pencuci. Rendam n buffer pencuci 300ul selama 30 detik hingga 1 menit untuk cian. Untuk pencucian otomatis, aspirasi atau tuang setiap uci 5 kali dengan buffer pencuci. Blot wadah ke handuk kertas enyerap lainnya.

6. Tambahkan 50ul larutan substrat A ke setiap wadah, lalu tambahkan 50ul larutan substrat B ke setiap wadah. Inkubasi wadah kemudian ditutup dengan sealer baru selama 10 menit pada 37 ° C pada tempat gelap.
7. Tambahkan 50ul *Stop Solution* ke masing-masing wadah, dan akan terjadi perubahan warna biru akan langsung berubah menjadi kuning.
8. Tentukan densitas 21tati (nilai OD) masing-masing wadah segera dengan menggunakan pembaca pelat mikro yang disetel ke 450 nm dalam waktu 10 menit setelah menambahkan stop solution.

b) Pengamatan

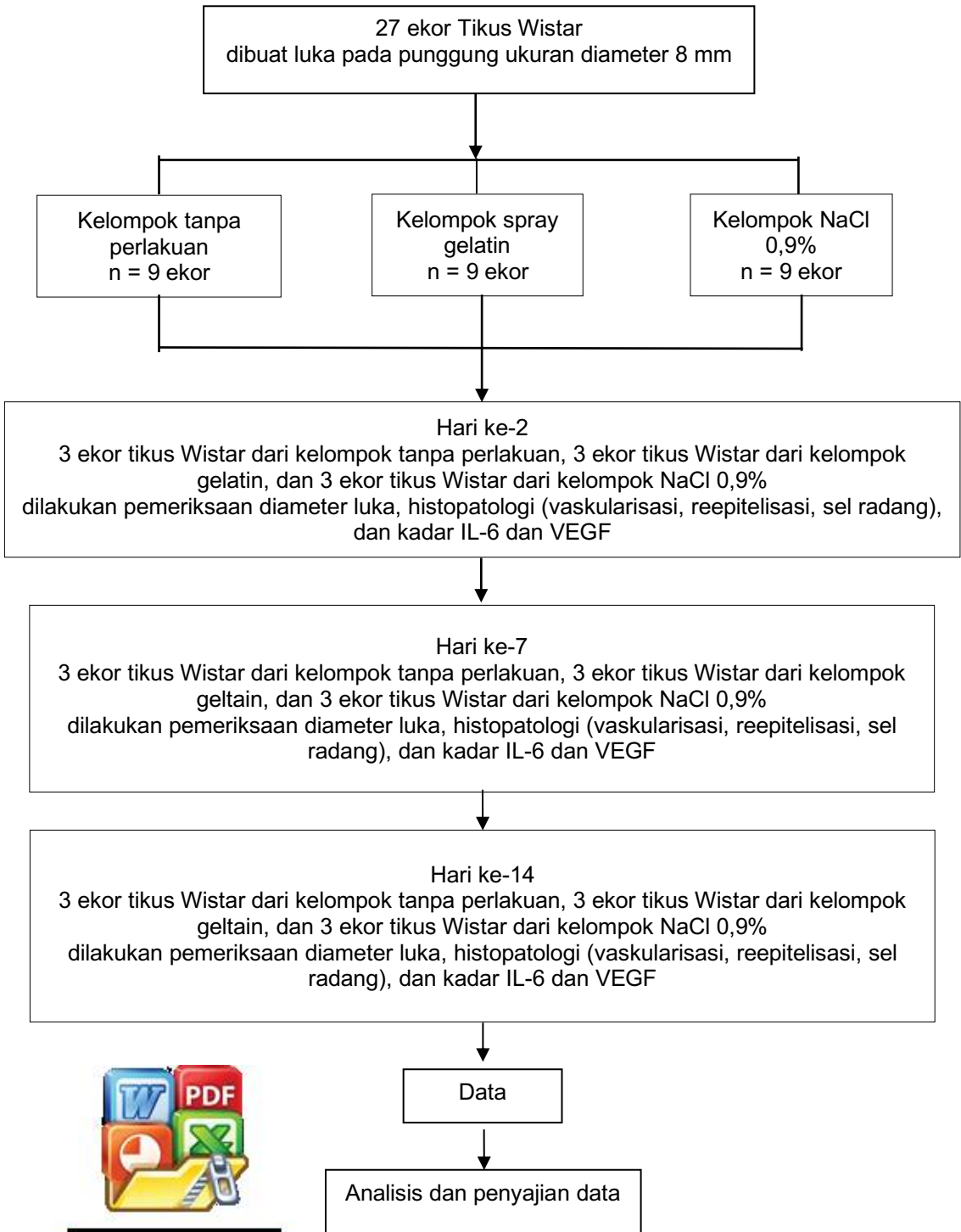
1. Menyiapkan semua reagen, sampel dan standar
2. Menambahkan sampel dan reagen ELISA ke dalam masing-masing wadah. Inkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C.
3. Mencuci wadah sebanyak 5 kali.
4. Tambahkan larutan substrat A dan B. Inkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C.
5. Tambahkan stop solution dan warna berkembang.
6. Baca nilai OD dalam 10 menit

2.9.8 Pengamatan dan Pencatatan

- Dilakukan pengamatan terhadap perkembangan penyembuhan luka pada masing-masing tikus putih pada hari ke 0, 2, 7 dan 14
- Perkembangan penyembuhan luka dinilai secara makroskopis, mikroskopis, dan metode ELISA untuk melihat kadar IL-6 dan VEGF.



2.10 Skema Alur Penelitian



Gambar 4. Alur Penelitian



2.11 Identifikasi Variabel

1. Variabel bebas : Spray gelatin, NaCl 0,9%
2. Variabel Kontrol : Waktu pemberian perlakuan, frekuensi pemberian, dan status fisik tikus winstar
3. Variabel tergantung :Perkembangan penyembuhan luka (makroskopis, mikroskopis, IL-6 dan VEGF)

2.12 Definisi Operasional

Untuk memudahkan pelaksanaan dan membatasi penelitian, maka dibuat defisini operasional sebagai berikut

- Luka akut dibuat pada punggung area thoracolumbar tikus Wistar berbentuk bulat dengan diameter 8 mm. Luka dibuat sedalam subkutis menggunakan tehnik *punch biopsy*
- *Gelatin spray* merupakan cairan yang berisi solusio gelatin 30% dengan polyethylene glycol (15:3, gelatin/PEG, w/v) yang akan diaplikasikan pada luka 2 x/hari (setiap 12 jam) sebanyak 0,2 cc dengan jarak penyemprotan 3 cm dari luka
- NaCl 0,9% merupakan larutan fisiologis yang akan diaplikasikan pada kassa kemudian menutupi luka 1x/hari (setiap 24 jam) dengan lapisan tipis 3 – 4 mm kemudian di plester.
- Penyembuhan luka merupakan proses regenerasi dan reparasi jaringan melalui 4 fase, fase hemostasis, inflamasi, proliferasi dan remodeling. Penilaian penyembuhan luka diukur mulai hari 0, 2, 7, dan 14. Penilaian penyembuhan luka efektif dilihat dari kriteria berikut:
 1. Diameter luka diukur dengan melihat diameter terpanjang luka sebelum perlakuan dan setelah perlakuan. Dokumentasi dilakukan menggunakan kamera digital dan pengukuran diameter menggunakan perangkat lunak analisis gambar Scion Image Beta 4.02 (Scion Corporation, Frederick, Maryland, USA)
 2. Skor respon jaringan granulasi adalah parameter histopatologi dari jaringan kulit tikus Wistar yang mengalami proses penyembuhan, yakni antara lain :
 - 1 : respon ringan, jaringan granulasi 0-25%
 - 2 : respon sedang, jaringan granulasi 50-75%
 - 3 : respon lengkap, > 75%



3. Pengukuran skor reepitelisasi adalah pembentukan kembali epitel yang terbentuk pada saat proses penyembuhan luka, yakni:
 - 1 : Tidak dijumpai reepitelisasi pada penyembuhan luka
 - 2 : reepitelisasi <50 % dari luas luka
 - 3 : reepitelisasi 50-90 % dari luas luka
 - 4 : Reepitelisasi sempurna 100%
4. Pengukuran skor sel radang adalah keberadaan sel-sel radang pada saat proses penyembuhan luka, yakni:
 - 1 : Sel radang Sedikit atau ringan
 - 2 : Sel radang Moderate atau sedang
 - 3 : Sel radang Padat atau berat
 - Interleukin-6 (IL-6) merupakan sitokin pro inflamasi yang diproduksi oleh platelet dan makrofag selama proses penyembuhan luka. Sitokin dari jaringan luka akan di ukur menggunakan metode ELISA pada hari 2,7 dan 14.
 - VEGF merupakan faktor pertumbuhan yang diproduksi oleh keratinosit, sel endotel, platelet, neutrofil, makrofag dan berperan dalam proses penyembuhan luka. VEGF yang diukur dari jaringan luka akan di ukur menggunakan metode ELISA pada hari 2,7 dan 14.

2.13 Pengolahan dan Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan Microsoft Excel dan SPSS versi 26. Rata-rata dan standar kesalahan (*error*) rata-rata dikalkulasi untuk semua data dan ditampilkan dalam bentuk 24tati dan dilakukan 24tatic bila distribusi data normal menggunakan Uji T-independent, dan bila distribusi data tidak normal maka menggunakan uji Man U Whitney untuk membandingkan data antara kelompok-kelompok subjek dengan nilai $p < 0.05$ dianggap signifikan.

