

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang Masalah

Luka adalah kerusakan pada fungsi perlindungan kulit disertai hilangnya kontinuitas jaringan epitel dengan atau tanpa adanya kerusakan pada jaringan lainnya seperti otot, tulang dan nervus yang disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu: tekanan, sayatan dan luka karena operasi. Penyembuhan luka adalah proses yang kompleks dan dinamis yang didukung oleh berbagai peristiwa seluler yang terkordinasi dengan baik untuk memperbaiki jaringan yang rusak secara efisien (Wilkinson & Hardman, 2020).

Prevalensi luka mencapai jutaan kasus per tahun di seluruh dunia. Di Indonesia, prevalensi cedera secara nasional mencapai 8,2%, dengan Sulawesi Selatan memiliki prevalensi tertinggi (12,8%) dan Jambi memiliki prevalensi terendah (4,5%) (Maryam Lihi, 2021).

Penyembuhan luka merupakan masalah utama bagi sektor kesehatan masyarakat. Perawatan yang rumit dan lama penyembuhan menyebabkan meningkatnya beban biaya perawatan kesehatan. Penyembuhan luka adalah proses evolusi yang mencakup proses yang tumpang tindih secara spasial dan temporal, terdiri dari proses hemostasis, inflamasi, proliferasi sel, serta *remodelling* (Stefano Bacci, 2019).

Penyembuhan luka dibagi menjadi empat tahap: hemostasis, yang berlangsung dari beberapa menit hingga beberapa jam setelah terjadi kerusakan kulit, inflamasi akut, yang memakan waktu 1 hingga 3 hari, proliferasi, yang biasanya berlangsung dari beberapa hari hingga satu bulan, dan akhirnya, renovasi/ *remodelling* kulit atau pembentukan bekas luka (Kamila dkk., 2021).

Pada saat terjadinya luka, 1 hingga 3 hari terbentuk gumpalan darah (gumpalan primer), aktivasi tepi epidermis, dan respons inflamasi awal (ditandai dengan banyaknya neutrofil). 4 hingga 7 hari kemudian akan terbentuk krusta. Analisis histologis menunjukkan migrasi tepi epidermis, proliferasi selektif jaringan granulasi awal, dan respons inflamasi (ditandai dengan adanya limfosit dan makrofag). 8 hingga 12 hari terjadi pelepasan krusta yang ditunjukkan pembentukan epidermis baru yang terdiferensiasi pada hari ke-12. Selain itu, penutupan kulit dimulai, bersamaan dengan pembentukan jaringan granulasi. Proses berikutnya pada hari ke 12 hingga 30 hari terjadi renovasi matriks, diferensiasi sel epidermis yang baru, peningkatan kandungan serat elastis, dan peningkatan tegangan luka sampai terbentuk penutupan luka yang sempurna (Stefano Bacci, 2019).

Secara umum, terdapat empat fase yang tumpang tindih terjadi pada proses penyembuhan luka akut, yaitu hemostasis, inflamasi, fase proliferasi, dan *remodelling*. Ketika luka akut terjadi, respons pertama adalah hemostasis, yang menghentikan perdarahan dan mencegah kehilangan darah. Selama fase inflamasi, cedera pada kulit mengaktifkan respons kompleks yang menghancurkan patogen yang memasuki luka dan mempersiapkan jaringan untuk pemulihan integritas anatomi. Kemudian fase proliferasi dan melibatkan pembentukan jaringan granulasi, neovaskularisasi, dan epitelisasi ulang.

Lalu penyembuhan luka akut diakhiri dengan fase renovasi/ *remodelling*, di mana jaringan granulasi digantikan dengan skar (Holly dan Matthew, 2020). Tavakoli dan Klar (2020) menyebutkan luka akut adalah luka yang sembuh total dengan jaringan parut minimal dan dalam jangka waktu sekitar 8-12 minggu.

*Vascular endothelial growth factor* (VEGF) adalah glikoprotein homodimerik yang diproduksi oleh banyak jenis sel yang berperan dalam penyembuhan luka, antara lain sel endotel, fibroblas, sel otot polos, trombosit, neutrofil, dan makrofag. VEGF berfungsi sebagai mitogen sel endotel, agen kemotaktik, dan penginduksi permeabilitas pembuluh darah. Terdapat faktor pertumbuhan angiogenik lainnya seperti *basic fibroblast growth factor* (bFGF) dan *transforming growth factor  $\beta$*  (TGF- $\beta$ ), tetapi VEGF unik karena efeknya pada berbagai komponen kaskade penyembuhan luka, termasuk angiogenesis, serta menunjukkan epitelisasi dan pengendapan kolagen (Philip dkk., 2009).

Interleukin (IL)-6 memainkan peran penting dalam proses peradangan luka akut dan diperlukan untuk resolusi penyembuhan luka yang tepat waktu. IL-6 dilepaskan lebih awal sebagai respons terhadap cedera, IL-6 menginduksi pelepasan sitokin proinflamasi dari makrofag, keratinosit, sel endotel, dan sel stroma. IL-6 juga dapat menginduksi kemotaksis leukosit ke dalam luka. Saat peradangan berlangsung, sinyal IL-6 bertanggung jawab untuk peralihan ke lingkungan reparatif. Regulasi penyembuhan luka sangat penting karena sinyal proinflamasi yang tidak tepat dapat menyebabkan luka kronik yang membutuhkan waktu lebih lama untuk sembuh dan berisiko terjadinya infeksi (Blair dkk., 2020).

Gelatin merupakan struktur utama kolagen alami, banyak digunakan dalam bidang biomedis karena biayanya yang rendah, ketersediaannya yang luas, biokompatibilitas, dan mudah terurai. Pada luka, biomaterial berbasis gelatin dapat meningkatkan hemostasis luka, meningkatkan sifat antibakteri dan anti-inflamasi, serta meningkatkan regenerasi sel pembuluh darah dan epitel (Hongwei cao dkk., 2024).

Pembalut/*dressing* luka berbasis gelatin berkembang dengan cepat karena biokompatibilitasnya dan keunggulannya dalam penghantaran. Efisiensi penghantaran gelatin sangat dipengaruhi oleh jenis gelatin, konsentrasi, dan kondisi formulasi. Studi praklinis telah banyak menunjukkan bahwa gelatin berfungsi sebagai penghantar obat yang stabil dengan tetap mempertahankan aktivitas aslinya. Terdapat beberapa jenis preparat berbasis gelatin, seperti hidrogel, spons, stent, film, dan teknologi lainnya membuatnya sangat mudah diserap dan sangat efisien dalam pelepasan obat di sekitar luka (Hongwei cao dkk., 2024).

*Photodynamic therapy* (PDT) merupakan modalitas klinis fotokemoterapi yang dikombinasikan dengan zat fotosensitisasi/ *photosensitizing substance* (PS) pada sel target, diikuti dengan penyinaran jaringan dengan sumber cahaya dengan panjang gelombang tertentu. Manfaat penggunaan PDT dalam penyembuhan luka dikaitkan dengan mekanisme kerjanya pada sel mitokondria, melalui biomodulasi jaringan dengan augmentasi rantai pernapasan dan produksi adenosin trifosfat, yang berkontribusi pada proses penyembuhan melalui proliferasi sel, sintesis asam nukleat, kolagen, dan mengurangi inflamasi. PDT juga mampu mengatur pelepasan sitokin yang bertanggung jawab atas proliferasi fibroblas dan sintesis kolagen. Kontribusi penting lainnya untuk penyembuhan luka adalah kemampuannya untuk menghancurkan strain bakteri yang resisten terhadap antibiotik, dan tidak menyebabkan resistensi obat (Jully dkk., 2020).

Berbagai PS yang biasanya digunakan antara lain metilen biru (MB), polietilenimin-klorin p6 (PEI-ce6), toluidine-O (TBO), mesotetrahidroksifenilklorin (mTHPC), 5-amino-asam levulinat (5-ALA), nanopartikel sarat hiperisin (HY-NPs), metoksipolietilen glikolfeoforbida a (mPEG-Pba), fotoditazin, poli-rolin terkonjugasi-klorin p6 (pl-cp6), indosianin hijau (ICG), dan tetrasiklik Zn (II) ftalosianin klorida (RLP068 / Cl). ALA dan turunannya, klorin, dan ftalosianin merupakan gabungan dari PS generasi kedua. Penggunaan PS ini biasanya digunakan untuk pengobatan luka bakar, luka sayat, dan luka abrasi. PDT menggunakan ALA dianggap berguna untuk diagnosis dan pengobatan lesi. PS ketika disinari akan menstimulasi mitokondria dan mempercepat metabolisme seluler. Selain itu, serangkaian proses biokimia menghasilkan beberapa efek terapeutik seperti tindakan anti-inflamasi, regenerasi jaringan, otot, saraf, dan, terutama, peningkatan proliferasi fibroblas sehingga terjadi produksi kolagen (Jully dkk., 2020).

Cahaya merah dan inframerah menembus jaringan lebih dalam dibandingkan cahaya hijau dan biru. Sebagian besar penelitian menggunakan cahaya merah dengan panjang gelombang 620-720 nm (Jully dkk., 2020).

Efektivitas PDT tergantung pada dosis energi total yang digunakan, dengan parameter seperti daya, radiasi, kepadatan energi, waktu paparan cahaya, dan mode pelepasan cahaya, yaitu sederhana atau fraksional. Beberapa menggunakan radiasi atau "kerapatan daya" ( $\text{mW}/\text{cm}^2$ ), dengan nilai yang berkisar antara 0,5 hingga 164  $\text{mW}/\text{cm}^2$ . Kepadatan energi ( $\text{J}/\text{cm}^2$ ) berasal dari waktu (detik) dan radiasi ( $\text{W}/\text{cm}^2$ ) dan dianggap sebagai parameter yang paling tepat untuk menentukan jumlah cahaya yang disimpan dalam jaringan (Jully dkk., 2020).

PS dapat diberikan secara intravena, oral, atau topikal, tergantung pada jenis agen yang digunakan. Sebagian besar penelitian menggunakan pengobatan topikal untuk pemberian PS karena hanya mempengaruhi pembuluh darah secara minimal, yang merupakan keuntungan untuk penyembuhan luka. Protokol pengobatan yang digunakan bervariasi. Waktu paparan luka pada PS selama 5 sampai 30 menit. Frekuensi dan waktu perawatan berkisar dari 1 hingga 21 hari. Sebagian besar artikel memberikan PS hanya sekali pada luka, sementara penelitian lain menggunakan protokol pengobatan 3 hari, 5 hari, 8 hari, dan 21 hari (Jully dkk., 2020).

Ditinjau dari keberhasilan terapi dan minimal efek samping dari penggunaan gelatin dan *photodynamic therapy* pada penyembuhan luka, maka peneliti mencoba untuk mengevaluasi efektivitas dan keamanan dari kedua metode ini dengan membuat sediaan gelatin dalam bentuk *spray* yang diharapkan dapat mudah diaplikasikan yang dibandingkan dengan penyinaran PDT dengan menggunakan panjang gelombang 620 nm (cahaya merah/ *red light*) selama 10 menit, dengan menggunakan fotosensitizer ALA, dan frekuensi penyinaran sebanyak 1 kali yaitu pada hari-2, hari-7 dan hari-14 setelah dilakukan perlakuan dengan teknik *punch biopsy* dengan menggunakan sampel tikus wistar.

## 1.2 Teori

### 1.2.1 Definisi Luka

Luka ialah cedera pada bagian tubuh, dimana kulit dan jaringan di bawahnya kehilangan kontinuitas jaringannya (Maharuni,dkk.,2019).

### 1.2.2 Jenis-Jenis Luka

Luka kulit umumnya diklasifikasikan menjadi luka akut dan luka kronis. Klasifikasi luka menjadi akut dan kronis didasarkan pada patogenesis dan konsekuensinya. Luka akut mengalami serangkaian peristiwa molekuler yang pada akhirnya menghasilkan kembali integritas kulit struktural. Sebaliknya, luka kronis ditandai dengan proses patologis, seperti inflamasi yang terjadi terus menerus, infeksi dan nekrosis (Holly dan Matthew, 2020).

#### 1) Luka Akut

Secara umum, terdapat empat fase yang tumpang tindih terjadi pada proses penyembuhan luka akut, yaitu hemostasis, inflamasi, fase proliferasi, dan *remodelling*. Ketika luka akut terjadi, respons pertama adalah hemostasis, yang menghentikan perdarahan dan mencegah kehilangan darah. Selama fase inflamasi, cedera pada kulit mengaktifkan respons kompleks yang menghancurkan patogen yang memasuki luka dan mempersiapkan jaringan untuk pemulihan integritas anatomi. Kemudian fase proliferasi dan melibatkan pembentukan jaringan granulasi, neovaskularisasi, dan epitelisasi ulang. Lalu penyembuhan luka akut diakhiri dengan fase renovasi/ *remodelling*, di mana jaringan granulasi digantikan dengan skar (Holly dan Matthew, 2020). Tavakoli dan Klar (2020) menyebutkan luka akut adalah luka yang sembuh total dengan jaringan parut minimal dan dalam jangka waktu sekitar 8-12 minggu.

#### 2) Luka Kronis

Pada luka kronis, terjadi kegagalan pada proses fase inflamasi yang menyebabkan penyembuhan luka yang buruk dan tertunda, dan peradangan yang terus-menerus pada luka. Terdapat makrofag pro-inflamasi yang berlebihan, sedangkan jumlah makrofag dengan fenotipe anti-inflamasi rendah. Selain itu, makrofag yang ditemukan pada luka kronis memiliki kemampuan terbatas untuk membersihkan neutrofil yang mati. Hal ini mengarah pada pembentukan lingkungan yang sangat inflamatif dengan melimpahnya mediator inflamasi, seperti *tumor necrosis factor-α* (TNF-α) dan *interleukin-1β* (IL-1β). Selain itu, makrofag pada luka kronis melepaskan beberapa matriks metaloproteinase (MMP), yaitu MMP-2 dan MMP-9, yang mendegradasi matriks ekstraseluler (ECM) dan mencegah dimulainya tahap proliferasi penyembuhan (Holly dan Matthew, 2020). Tavakoli dan Klar (2020) menyebutkan luka kronik adalah terjadinya proses penyembuhan luka yang tertunda 12 minggu setelah cedera awal.

### 1.2.3 Penyembuhan Luka

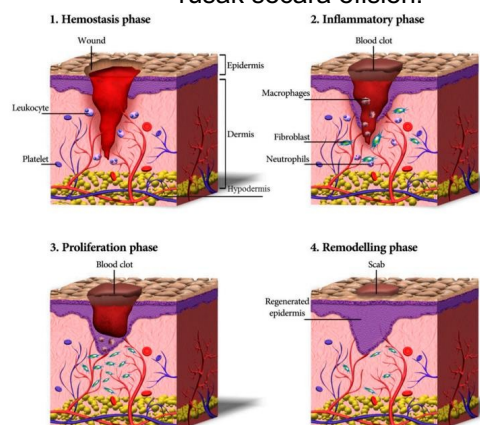
#### 1.2.3.1 Definisi Penyembuhan Luka

Holly dan Matthew (2020) mendefinisikan penyembuhan luka adalah proses yang kompleks dan dinamis yang didukung oleh berbagai peristiwa seluler yang terkordinasi dengan baik untuk memperbaiki jaringan yang rusak secara efisien.

#### 1.2.3.2 Mekanisme Penyembuhan luka

Menurut *Tavakoli dan Klar (2020)* proses penyembuhan luka terjadi melalui empat fase sebagai berikut :

- ❖ Penyembuhan luka : Proses yang kompleks & dinamis, didukung oleh berbagai peristiwa seluler yang terkordinasi dengan baik → perbaikan jaringan yang rusak secara efisien.

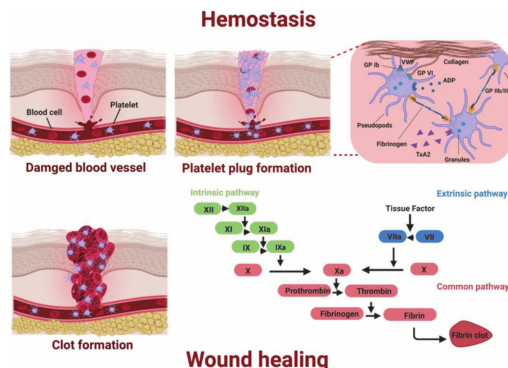


**Gambar 2.6 Fase-Fase Penyembuhan Luka (*Tavakoli dan Klar, 2020*)**

#### 1) Homeostasis

Hemostasis, fase pertama penyembuhan luka, terjadi sangat cepat dan dimulai pada awal cedera dan ditutup dengan pembentukan sumbatan hemostatik, yang menyebabkan penekanan pada perdarahan. Fase penyembuhan luka ini terdiri dari 3 langkah termasuk i) vasokonstriksi, ii) pembentukan sumbat trombosit, dan iii) pembekuan darah. Vasokonstriksi, suatu kontraksi refleksif singkat, merupakan langkah pertama yang menyebabkan penyempitan pembuluh darah, sehingga mengurangi terjadinya kehilangan darah selama cedera. Setelah vasokonstriksi, terjadi pembentukan sumbatan trombosit yang merupakan langkah penting kedua dalam hemostasis dan melibatkan adhesi, aktivasi, dan agregasi trombosit. Selama cedera, trombosit menempel pada kolagen subendotel yang terpajan secara langsung melalui dua reseptor glikoprotein VI (GP VI) dan integrin  $\alpha 2 \beta 1$  dan melalui pengikatan *Von Willebrand factor* (VWF) oleh reseptor GP1bnya. Pelekatan ini memicu proses aktivasi trombosit yang ditandai dengan

perubahan bentuk dan sekresi granula yang kaya akan bahan kimia tertentu (misalnya serotonin, tromboksan A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) dan adenosin difosfat (ADP)). Zat-zat ini memainkan peran penting dalam fungsi trombosit karena menyebabkan perubahan konformasi GPIIb/IIIa, suatu reseptor pada permukaan trombosit yang memungkinkan trombosit berikatan dengan fibrinogen, sehingga menyebabkan agregasi trombosit menjadi sumbatan trombosit sementara di dinding pembuluh darah yang cedera (Sara Pourshahrestani, 2020).



**Gambar 2.7 Fase Hemostasis (Tavakoli dan Klar, 2020)**

## 2) Inflamasi

Fase inflamasi dimulai dengan aktivasi platelet, yang mensintesis komponen yang responsibel terhadap pembentukan fibrin, restorasi hemostasis lokal dan bertindak sebagai matriks ekstraseluler sementara untuk terjadinya migrasi sel-sel darah. Secara bersamaan, platelet dan sel-sel yang mengalami cedera melepaskan sitokin dan faktor-faktor pertumbuhan seperti IL-1 $\beta$  (*interleukin-1 $\beta$* ), TNF- $\alpha$  (*tumour necrosis factor- $\alpha$* ) FGF (*fibroblast growth factor*), dan PDGF (*platelet derived growth factor*) yang akan menarik leukosit ke lokasi luka. Awalnya, neutrofil akan bermigrasi ke lokasi cedera, dimulai dari pembersihan jaringan nekrotik dan memfagositosis antigen patogen. Selanjutnya, neutrofil akan melepaskan sitokin pro-inflamasi seperti IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 dan IL-8 akan menarik sel inflamator lainnya menuju ke lokasi luka. Neutrofil juga akan melepaskan VEGF dan IGF-1 (*insulin growth factor-1*) yang akan mengaktifasi proliferasi lokal fibroblas, keratinosit, dan sel endotel. Setelah beberapa hari, makrofag akan mulai bermigrasi ke lokasi luka untuk melanjutkan pembersihan jaringan nekrotik dan memfagosit patogen, dan mensekresikan faktor pertumbuhan dan sitokin yang akan berkordinasi untuk mekanisme selanjutnya pada fase penyembuhan luka berikutnya (proliferasi) (Gushiken dkk., 2021).

## 3) Proliferasi

Fase proliferasi dikarakteristikan dengan migrasi serta proliferasi dari sel dan sintesis jaringan granulasi, terdiri dari ekstraseluler matriks sementara, makrofag, sel endotel, dan fibroblas. Sel pada lokasi cedera mensekresikan FGF, VEGF, EGF (*epidermal growth factor*), dan TGF- $\beta$ 1 (*transforming growth factor- $\beta$ 1*) untuk mempromosikan proliferasi dari sel fibroblas, keratinosit, dan sel endotel. Fibroblast juga akan mensintesis komponen dari maktriks ekstraseluler sementara, termasuk kolagen

tipe III, proteoglikan dan fibronektin untuk migrasi sel ke lokasi luka. Pembentukan vaskularisasi pada luka segera setelah terjadi cedera. Sekresi mediator seperti VEGF dan angiopentin akan menstimulasi proliferasi dari sel endotelial dan struktur vaskular pada luka. Selama fase proliferasi, terjadi re-epitelisasi untuk menutup celah epitel dan mengembalikan fungsi pelindung kulit. Pertama, keratinosit di tepi luka distimulasi oleh faktor pertumbuhan, yang menghasilkan proliferasi dan diferensiasi keratinosit. Stimulus ini memicu hilangnya molekul adhesi keratinosit, menghambat kontak fisik dengan desmosom dan hemidesmosom, dan meningkatkan migrasi sel-sel ini melalui matriks ekstraseluler (Gushiken dkk., 2021).

#### 4) Maturasi (*Remodeling*)

Maturasi merupakan fase akhir dalam penyembuhan luka. Proses ini terjadi pada hari ke-8 sampai 2 tahun. Lamanya fase ini bergantung pada tingkat keparahan dan ukuran luka yang terbentuk. Fase *remodeling* dimulai pada akhir perkembangan jaringan granulasi. Ketegangan mekanis dan sitokin, misalnya TGF- $\beta$ , mendorong fibroblas berdiferensiasi menjadi miofibroblas, yang mengekspresikan *smooth muscle actin* (SMA) dan mengontraksikan luka. Myofibroblast mengalami apoptosis ketika penyembuhan telah selesai. Pada fase ini, kolagen III yang diproduksi dengan cepat di ECM digantikan oleh kolagen I, yang memiliki kekuatan tarik lebih tinggi tetapi membutuhkan waktu lebih lama untuk disimpan. Jumlah pembuluh darah baru dan aliran darah menurun. Lingkungan avaskular dan aseluler yang matang terbentuk (Gushiken dkk., 2021).

### 1.2.4 Gelatin

Gelatin merupakan biomaterial alami yang berasal dari hidrolisis parsial kolagen dan memiliki struktur yang menyerupai matriks ekstraseluler (extracellular matrix/ECM) kulit. Karena sifat biokompatibel, biodegradable, dan rendah antigenisitas, gelatin banyak dikembangkan sebagai material dalam bidang penyembuhan luka dan rekayasa jaringan. Pada fase awal penyembuhan luka, gelatin berperan dalam mendukung proses hemostasis melalui kemampuannya menyerap darah dan eksudat luka. Sifat hidrofilik dan struktur berpori gelatin memungkinkan pembentukan matriks sementara yang membantu penghentian perdarahan serta menyediakan permukaan awal bagi adhesi sel. Peran ini menciptakan kondisi mikro-lingkungan yang stabil untuk fase penyembuhan berikutnya (Lukin et al., 2022).

Dalam fase inflamasi, gelatin menunjukkan keunggulan sebagai material yang biokompatibel dan rendah antigenisitas, sehingga tidak memicu respons inflamasi berlebihan. Selain itu, gelatin membantu menjaga kelembapan luka dan melindungi jaringan dari iritan eksternal, yang secara tidak langsung berkontribusi terhadap pengendalian inflamasi lokal dan pencegahan kerusakan jaringan lanjutan (Milano et al., 2023).

Peran utama gelatin terlihat jelas pada fase proliferasi. Struktur gelatin yang menyerupai matriks ekstraseluler memungkinkan gelatin berfungsi sebagai scaffold biologis yang mendukung adhesi, migrasi, dan proliferasi sel-sel penting dalam penyembuhan luka, seperti fibroblas, keratinosit, dan sel endotel. Kondisi ini mendorong

pembentukan jaringan granulasi, sintesis kolagen baru, serta angiogenesis yang optimal (Lukin et al., 2022; Milano et al., 2023).

Pada fase remodeling, sifat biodegradable gelatin menjadi faktor kunci. Gelatin mengalami degradasi enzimatik secara bertahap menjadi peptida dan asam amino, seiring dengan maturasi jaringan baru. Proses degradasi ini memungkinkan gelatin digantikan secara alami oleh jaringan kulit yang terbentuk tanpa meninggalkan residu toksik, sehingga mendukung reorganisasi serabut kolagen dan pemulihan fungsi jaringan kulit (Mikhailov, 2023).

### 1.2.5 Photodynamic Therapy

Photodynamic therapy (PDT) merupakan modalitas terapi non-invasif yang bekerja melalui interaksi antara fotosensitizer, sumber cahaya dengan panjang gelombang tertentu, dan oksigen jaringan untuk menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS). ROS yang terbentuk berfungsi sebagai mediator biologis yang mampu memodulasi berbagai proses seluler dan molekuler pada jaringan luka. Dengan mekanisme tersebut, PDT tidak hanya berperan sebagai terapi antimikroba, tetapi juga berkontribusi dalam mendukung regenerasi jaringan kulit pada proses penyembuhan luka (Hasnita et al., 2024; Yin & Hamblin, 2024).

Pada fase awal penyembuhan luka, infeksi dan pembentukan biofilm merupakan faktor utama yang menghambat perbaikan jaringan, khususnya pada luka kronik. PDT memiliki efek antimikroba yang kuat melalui mekanisme oksidatif non-spesifik yang merusak membran sel, protein, dan asam nukleat mikroorganisme. Berbeda dengan antibiotik konvensional, mekanisme ini tidak menimbulkan resistensi bakteri. Penurunan beban mikroba akibat PDT menciptakan lingkungan luka yang lebih bersih dan kondusif bagi berlangsungnya fase penyembuhan berikutnya (de Oliveira et al., 2022; Zhao et al., 2023).

Selain efek antimikroba, PDT juga berperan dalam modulasi respon inflamasi. Produksi ROS dalam kadar terkontrol mampu mengatur ekspresi sitokin proinflamasi, seperti interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukin-6 (IL-6), interleukin-23 (IL-23), dan tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Regulasi ini memungkinkan inflamasi awal tetap berlangsung untuk membersihkan jaringan nekrotik dan patogen, namun mencegah inflamasi berkepanjangan yang dapat menghambat transisi menuju fase proliferasi (Hasnita et al., 2024; Zhao et al., 2023).

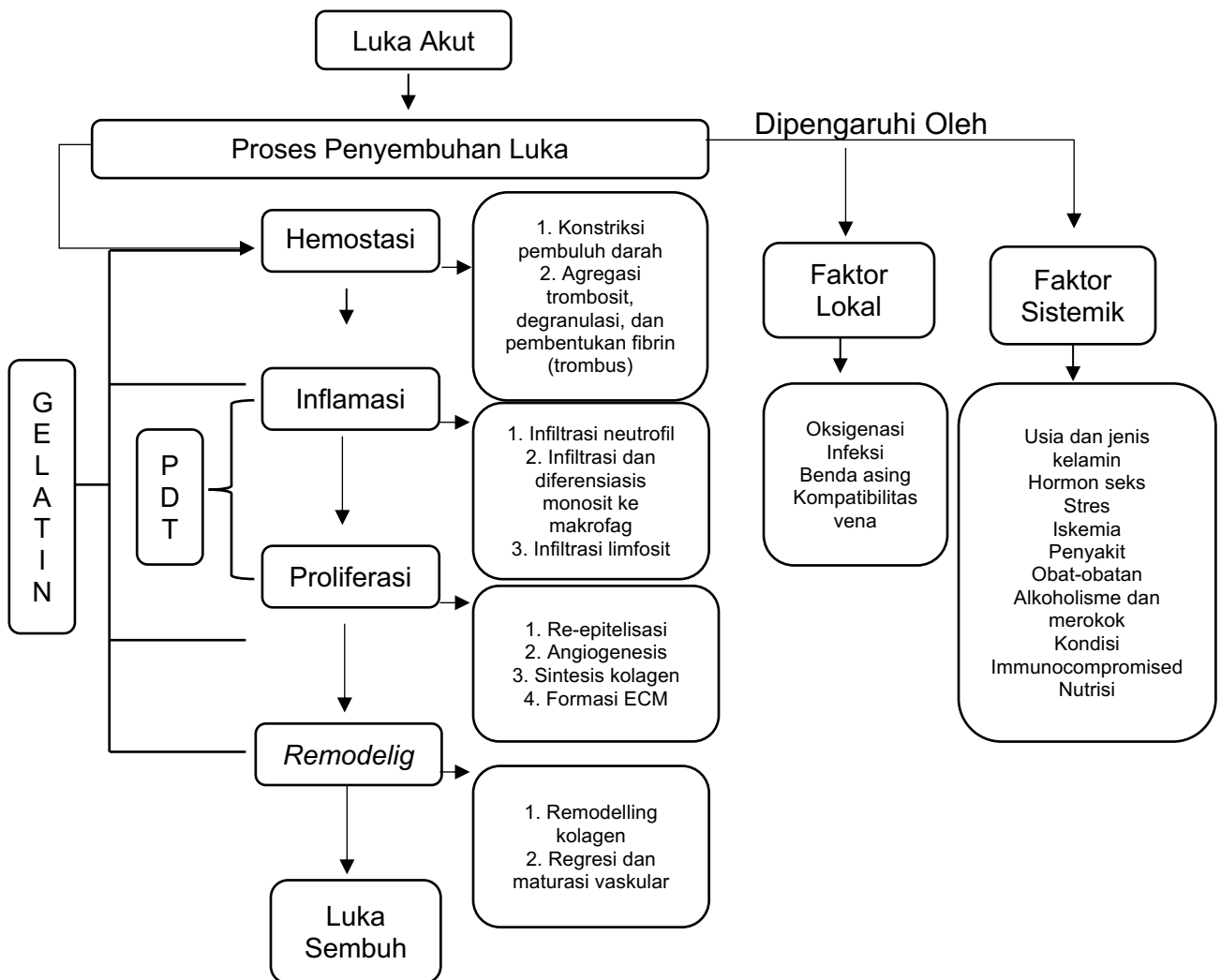
Pada fase proliferasi, PDT terbukti mampu menstimulasi proliferasi dan migrasi berbagai jenis sel yang berperan penting dalam penyembuhan luka, termasuk fibroblas, keratinosit, dan *epidermal stem cells*. Aktivasi sel-sel tersebut berkontribusi terhadap pembentukan jaringan granulasi, peningkatan angiogenesis, serta percepatan re-epitelisasi luka. Selain itu, PDT dilaporkan dapat meningkatkan ekspresi faktor pertumbuhan dan memperbaiki mikrosirkulasi lokal, sehingga suplai oksigen dan nutrisi ke jaringan luka menjadi lebih optimal (Yin & Hamblin, 2024; Hou et al., 2024).

Pada fase remodeling, PDT berperan dalam pengaturan matriks ekstraseluler melalui modulasi aktivitas makrofag dan *matrix metalloproteinases* (MMPs). Terapi ini mendorong pergeseran fenotipe makrofag dari M1 yang bersifat proinflamasi menuju M2

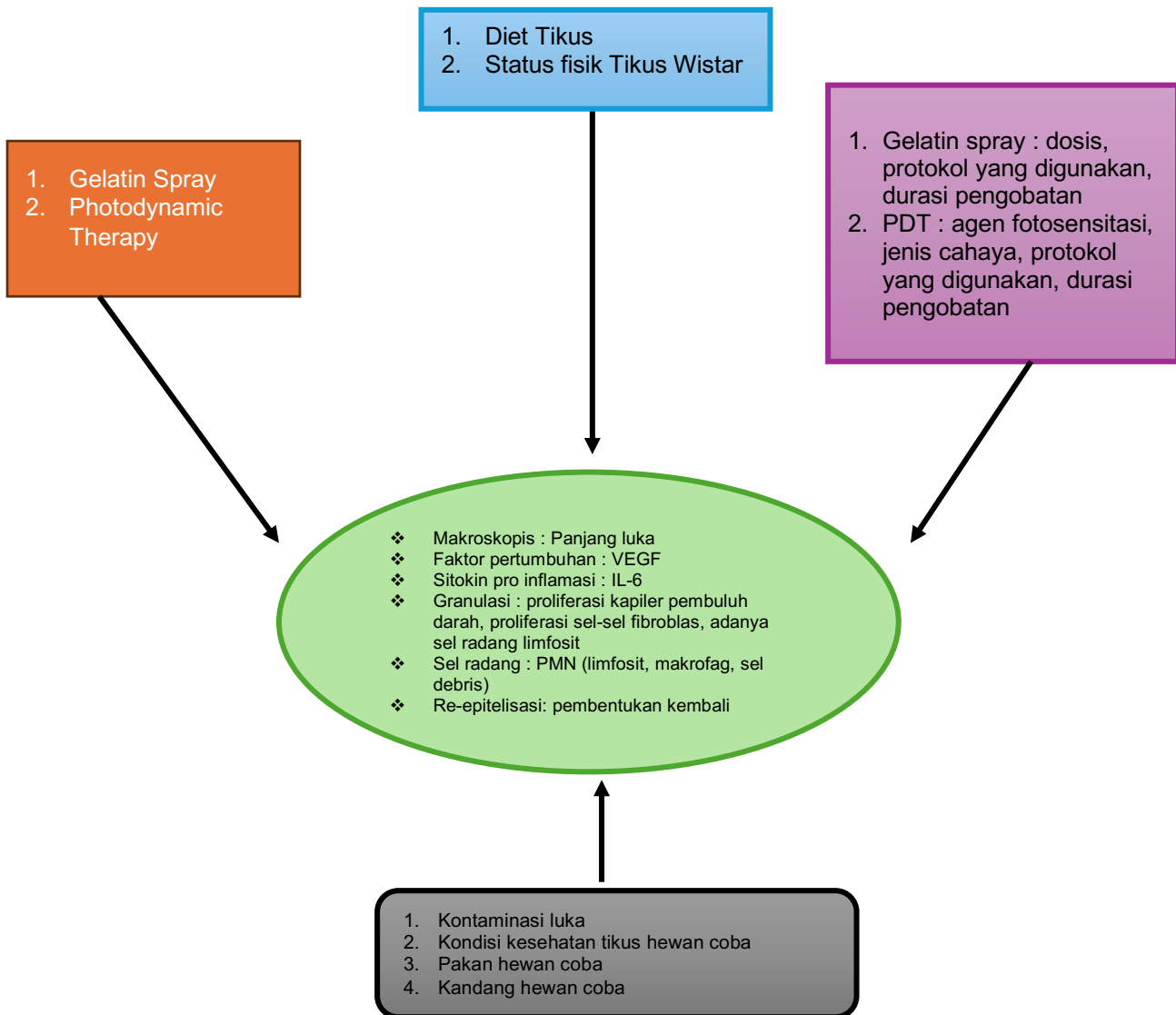
yang mendukung regenerasi jaringan. Proses tersebut berkontribusi terhadap deposisi dan reorganisasi kolagen yang lebih teratur, sehingga menghasilkan jaringan parut yang lebih matang dan fungsional (Zhao et al., 2023).

Secara klinis, berbagai studi dan meta-analisis melaporkan bahwa PDT memberikan perbaikan signifikan pada kecepatan penutupan luka, tingkat penyembuhan, serta kualitas hidup pasien. Efek samping yang ditimbulkan umumnya ringan dan bersifat sementara, seperti nyeri lokal, eritema, dan edema. Temuan tersebut menunjukkan bahwa PDT merupakan terapi yang relatif aman dan dapat ditoleransi dengan baik, serta berpotensi digunakan sebagai terapi adjuvan atau alternatif dalam tata laksana luka kronik (de Oliveira et al., 2022; Hou et al., 2024).

## 1.2.6 Kerangka Teori



### 1.2.7 Kerangka Konsep



| Keterangan |                                          |
|------------|------------------------------------------|
|            | Variabel Bebas<br>( <i>independent</i> ) |
|            | Variabel Kontrol                         |
|            | Variabel Moderat                         |
|            | Variabel Perancu                         |
|            | Variabel terikat<br>( <i>dependent</i> ) |

### 1.3 Rumusan Masalah

Berdasarkan penjelasan diatas sehingga dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut :

- a. Bagaimana perubahan diameter luka pada proses penyembuhan luka tikus wistar yang diberi gelatin spray dan *photodynamic therapy* ?
- b. Bagaimana respon inflamasi pada proses penyembuhan luka tikus wistar yang diberi gelatin spray dan *photodynamic therapy* ?
- c. Bagaimana respon reepitalisasi pada proses penyembuhan luka tikus wistar yang diberi gelatin spray dan *photodynamic therapy* ?
- d. Bagaimana respon granulasi pada proses penyembuhan luka tikus wistar yang diberi gelatin spray dan *photodynamic therapy* ?
- e. Bagaimana kadar IL-6 dan *vascular endothelial growth* (VGEF) pada proses penyembuhan luka tikus wistar yang diberi gelatin spray dan *photodynamic therapy* ?
- f. Bagaimana perbandingan efektivitas gelatin spray dan *photodynamic therapy* terhadap penyembuhan luka pada tikus wistar ?

### 1.4 Tujuan Penelitian

#### 1.4.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas gelatin spray dan *photodynamic therapy* terhadap proses penyembuhan luka pada tikus wistar.

#### 1.4.2 Tujuan Khusus

- a. Mengetahui perubahan diameter luka pada proses penyembuhan luka tikus wistar yang diberi gelatin spray dan *photodynamic therapy* ?
- b. Mengetahui respon inflamasi pada proses penyembuhan luka tikus wistar yang diberi gelatin spray dan *photodynamic therapy*
- c. Mengetahui respon reepitalisasi pada proses penyembuhan luka tikus wistar yang diberi gelatin spray dan *photodynamic therapy*
- d. Mengetahui respon granulasi pada proses penyembuhan luka tikus wistar yang diberi gelatin spray dan *photodynamic therapy*
- e. Mengetahui kadar IL-6 dan *vascular endothelial growth* (VGEF) pada proses penyembuhan luka tikus wistar yang diberi gelatin spray dan *photodynamic therapy*.
- f. Mengetahui perbandingan efektivitas gelatin spray dan *photodynamic therapy* terhadap penyembuhan luka pada tikus wistar.

## 1.5 Hipotesis Penelitian

1. Ada perubahan diameter luka pada proses penyembuhan luka tikus wistar yang diberi gelatin spray dan *photodynamic therapy*
2. Ada perubahan respon inflamasi pada proses penyembuhan luka tikus wistar yang diberi gelatin spray dan *photodynamic therapy*
3. Ada perubahan reepitalisasi pada proses penyembuhan luka tikus wistar yang diberi gelatin spray dan *photodynamic therapy*
4. Ada perubahan granulasi pada proses penyembuhan luka tikus wistar yang diberi gelatin spray dan *photodynamic therapy*
5. Ada perubahan kadar IL-6 dan *vascular endothelial growth factor* (VEGF) pada proses penyembuhan luka tikus wistar yang diberi gelatin spray dan *photodynamic therapy*
6. Ada perbandingan efektivitas gelatin spray dan *photodynamic therapy* terhadap penyembuhan luka pada tikus wistar

## 1.6 Manfaat Penelitian

### 1.6.1 Manfaat Teoritik

Meningkatkan pemahaman tentang efektifitas penggunaan *gelatin spray* dan *photodynamic therapy* dalam mempercepat penyembuhan luka.

### 1.6.2 Manfaat Metodologi

Dapat menjadi rujukan dan menambah pengetahuan khususnya tentang efektifitas *gelatin spray* dan *photodynamic therapy* terapi penyembuhan luka dan bagaimana terapi tersebut berpengaruh terhadap penyembuhan luka jaringan

### 1.6.3 Manfaat Aplikatif

Hasil penelitian ini juga dapat menjadi sumber rujukan bagi peneliti selanjutnya yang ingin meneliti tentang modalitas terapi penyembuhan luka.

## **BAB II**

### **METODE PENELITIAN**

#### **2.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorik, yaitu untuk mempelajari suatu fenomena dalam korelasi sebab akibat dengan memberi perlakuan tertentu pada subjek penelitian kemudian melihat dengan mempelajari efek dari perlakuan tersebut. Tikus dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok kontrol tanpa perlakuan, kelompok yang hanya diberikan gelatin spray, dan kelompok yang diterapi dengan *photodynamic therapy*. Pengamatan dilakukan pada hari ke-2, hari ke-7 dan hari ke-14 setelah pemberian terapi untuk mengevaluasi efektivitas pengobatan dalam mempercepat penyembuhan luka.

#### **2.2 Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Terpadu Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.

#### **2.3 Populasi dan Sampel**

Populasi yang digunakan adalah tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan. Sampel yang diambil adalah tikus jantan dewasa dengan usia 12 minggu dengan berat badan 200-250 gram.

#### **2.4 Perkiraan Besar Sampel**

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

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

Keterangan:

n= jumlah subjek per kelompok

t= jumlah kelompok

Perhitungan:

$$(n-1)(9-1) \geq 15$$

$$8(n-1) \geq 15$$

$$8n-8 \geq 15$$

$$8n \geq 15 + 8$$

$$n \geq 23 : 8$$

$$n \geq 2,8 = 3$$

Jumlah sampel pada penelitian ini berdasarkan rumus federer adalah 3 ekor tikus wistar per kelompok uji, sehingga jumlah tikus wistar pada 9 kelompok uji secara keseluruhan adalah 27 ekor.

## 2.5 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

### 2.5.1 Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi dalam penelitian ini antara lain tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar yang telah ditetapkan dalam standard penelitian LIPI:

- a. Tikus jantan
- b. Usia 12 minggu
- c. Tikus dengan berat badan 200-250 gram
- d. Tikus dalam keadaan sehat

### 2.5.2 Kriteria Eksklusi

- a. Tikus Wistar yang sakit dalam percobaan
- b. Tikus Wistar yang mati dalam percobaan
- c. Tikus Wistar yang secara makroskopis mengalami kelainan

## 2.6 Identifikasi Variabel

- a. Variabel bebas : Gelatin *spray*, *photodynamic therapy*
- b. Variabel kontrol : Diet tikus, status fisik tikus wistar
- c. Variabel Moderat :
  - Gelatin *spray* : dosis, protokol yang digunakan, durasi pengobatan
  - PDT : agen fotosensitasi, jenis cahaya, protokol yang digunakan, durasi pengobatan.
- d. Variabel Perancu : Kontaminasi luka, kondisi kesehatan tikus hewan coba, pakan hewan coba, kandang hewan coba
- e. Variabel terikat :
  - Makroskopis : Panjang luka
  - Faktor pertumbuhan : VEGF
  - Sitokin pro inflamasi : IL-6
  - Granulasi : Proliferasi kapiler pembuluh darah, proliferasi sel-sel fibroblas, adanya sel radang limfosit
  - Sel radang : PMN (limfosit, makrofag, dan sel debris).

## 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**

### **2.8.1 Alat**

- a. *Punch biopsy* ukuran 8 mm
- b. *Blade holder* no.3
- c. *Blade* no.10
- d. *Pinset anatomis*
- e. Kasa steril 5x5 cm
- f. Kapas alkohol 70%
- g. Gunting tajam tumpul kecil
- h. Silet
- i. Mistar besi
- j. Timbangan digital merk KK 500 PS®
- k. Spidol marker
- l. Pot sediaan, ukuran 5 ml
- m. Disposable spuit 1 cc
- n. Mikroskop Olympus DP 12®

### **2.8.2 Bahan**

- a. Ketain ampul
- b. Xylazine ampul
- c. Formalin Buffer hari 3
- d. Spray gelatin
- e. *Photodynamic therapy*
- f. Asam aminolevulinat (ALA)

## **2.9 Prosedur Penelitian**

### **2.9.1 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 akan dimasukan lithium sodium silicate
- ke dalam 200 ml aquadest dingin dan dicampur menggunakan alat mixer hingga
- terlarut sempurna. Kemudian cairan gelatin dimasukan ke dalam larutan lithium sodium silicate dan dilakukan pengadukan. Dimasukkan DM dan alkohol ke dalam
- campuran tersebut hingga tercampur homogen. Diamkan campuran yang sudah jadi
- hingga busanya menghilang.

### 2.9.2 Persiapan sampel tikus

- 27 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus* galur Wistar), usia 12 minggu, dengan berat badan 200-250 gram, dikelompokkan menjadi 3 kelompok yang masing-masing terdiri atas 9 ekor tikus. 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 dan penyembuhan dapat terganggu.
- Makanan tikus putih berupa biji-bijian dan daun dengan frekuensi 3 kali sehari. Tidak diberikan makanan yang mengandung protein tinggi seperti daging karena dapat mempengaruhi proses penyembuhan luka.
- Semua sampel 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 menggunakan gunting dan silet. Area dibersihkan dengan kapas alkohol, kemudian dibuat luka menggunakan teknik *punch biopsy* ukuran diameter 8 mm dengan kedalaman mencapai lapisan subkutis dan dipastikan tidak ada otot yang masuk dalam jaringan yang dieksisi, masing-masing tikus Wistar diberi tanda warna untuk membedakan kelompok kontrol dan perlakuan.
- Pada hari ke-0, 27 tikus wistar (dari semua kelompok) diberi ketamin xilacin sebagai anestesi kemudian diambil jaringan kulit/biopsi pada punggung sekitar daerah luka. Lalu dilakukan pengukuran diameter luka secara mikroskopik dan makroskopik pada 3 ekor tikus.
- Pada hari ke-2, 3 sampel tikus (yang dilakukan pengukuran pada hari ke-0) dimatikan. Tersisa 27 tikus wistar. Kemudian dilakukan perlakuan, sebagai berikut;
  - 3 tikus yang termasuk dalam kelompok gelatin spray, dilakukan penyemprotan gelatin spray di atas dengan jarak 3 cm diatas permukaan luka. Penyemprotan dilakukan 2 kali sehari.
  - 3 tikus yang termasuk dalam kelompok *photodynamic therapy*, diaplikasikan agen fotosensitasi ALA kemudian dilakukan penyinaran pada luka dengan menggunakan *photodynamic therapy* dengan panjang gelombang 620 nm selama 30 menit. Aplikasi ALA dan penyinaran dilakukan 2 kali sehari.
  - 3 sampel tidak diberi perlakuan
- Pada hari ke-7, kelompok tikus wistar pada hari ke-2 dilakukan pengukuran diameter luka secara mikroskopik dan makroskopik, lalu tikus-tikus dari kelompok tersebut dimatikan. Tersisa 18 tikus wistar. Kemudian dilakukan perlakuan, sebagai berikut;
  - 3 tikus yang termasuk dalam kelompok gelatin spray, dilakukan penyemprotan gelatin spray di atas dengan jarak 3 cm diatas permukaan luka. Penyemprotan dilakukan 2 kali sehari.
  - 3 tikus yang termasuk dalam kelompok *photodynamic therapy*, diaplikasikan agen fotosensitasi ALA kemudian dilakukan penyinaran pada luka dengan menggunakan *photodynamic therapy* dengan panjang gelombang 620 nm selama 30 menit. Aplikasi ALA dan penyinaran dilakukan 2 kali sehari.
  - 3 sampel tidak diberi perlakuan.

- Pada hari ke-14, kelompok tikus wistar pada hari ke-7 dilakukan pengukuran diameter luka secara mikroskopik dan makroskopik, lalu tikus-tikus dari kelompok tersebut dimatikan. Tersisa 9 tikus wistar. Kemudian dilakukan perlakuan, sebagai berikut;
  - 3 tikus yang termasuk dalam kelompok gelatin spray, dilakukan penyemprotan gelatin spray di atas luka dengan jarak 3 cm diatas permukaan luka. Penyemprotan dilakukan 2 kali sehari.
  - 3 tikus yang termasuk dalam kelompok *photodynamic therapy*, diaplikasikan agen fotosensitasi ALA kemudian dilakukan penyinaran pada luka dengan menggunakan *photodynamic therapy* dengan panjang gelombang 620 nm selama 10 menit. Aplikasi ALA dan penyinaran dilakukan 2 kali sehari.
  - 3 sampel tidak diberi perlakuan.
  - Dilakukan pengukuran diameter luka secara mikroskopik dan makroskopik.
  - Tikus-tikus dari kelompok tersebut dimatikan.

### 2.9.3 Pemeriksaan Makroskopik

Penyembuhan luka dinilai secara makroskopis yaitu dengan mengukur perubahan diameter luka awal setelah dilakukan *punch biopsy* dan setelah dilakukan perlakuan menggunakan Scion© *Image Beta 4.02* (Scion Corporation, Frederick, Maryland, USA).

### 2.9.4 Pemeriksaan Histopatologis

- Sampel jaringan hasil *punch biopsy* yang difiksasi dengan buffer formalin 10% disimpan dalam blok parafin dan dipotong dengan ketebalan 4-5  $\mu$ M.
  - Tiap bagian yang dipotong kemudian dideparafinasi dengan *xylene* dan dibagi skala dengan serial alkohol ke air kemudian diwarnai dengan hematoxylin eosin untuk evaluasi standar mikroskop Olympus CV®.
- 1) Bahan pewarnaan Hematoxylin Eosin (Modifikasi Harri's)
    - a) Asam alkohol 1%
    - b) *Saturated Lithium Carbonate*
    - c) *Ammonia water*
    - d) Eosin-Phloxine solution
    - e) 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  |
  - 2) Prosedur pewarnaan Hematoxylin Eosin (Modifikasi Harri's)
    - a) Deparafinisasi dan hidrasi pada aqua destilata
    - b) Warnai dalam filtrasi segar Hematoksilin modifikasi Harri's selama 6-15 menit
    - c) Cuci dengan air mengalir selama 2-5 menit
    - d) Diferensiasi dalam asam alkohol 1% 1-2 tetes

- e) Cuci dengan perlahan dan terbalik dibawah air kran
- f) Letakkan pada bagian atas cover ammonia water atau larutan jenuh lithium carbonate sampai tampak berwarna biru kelam.
- g) Cuci secara langsung dalam air mengalir selama 10 menit
- h) Tempatkan 200% etil alkohol untuk 1-2 menit
- i) Dehidrasi dan bersihkan langsung dua perubahan dari masing-masing 95% etil alkohol, etil alkohol absolut dan *xylene* masing-masing 2 menit
- j) Simpan dengan medium *resinous*

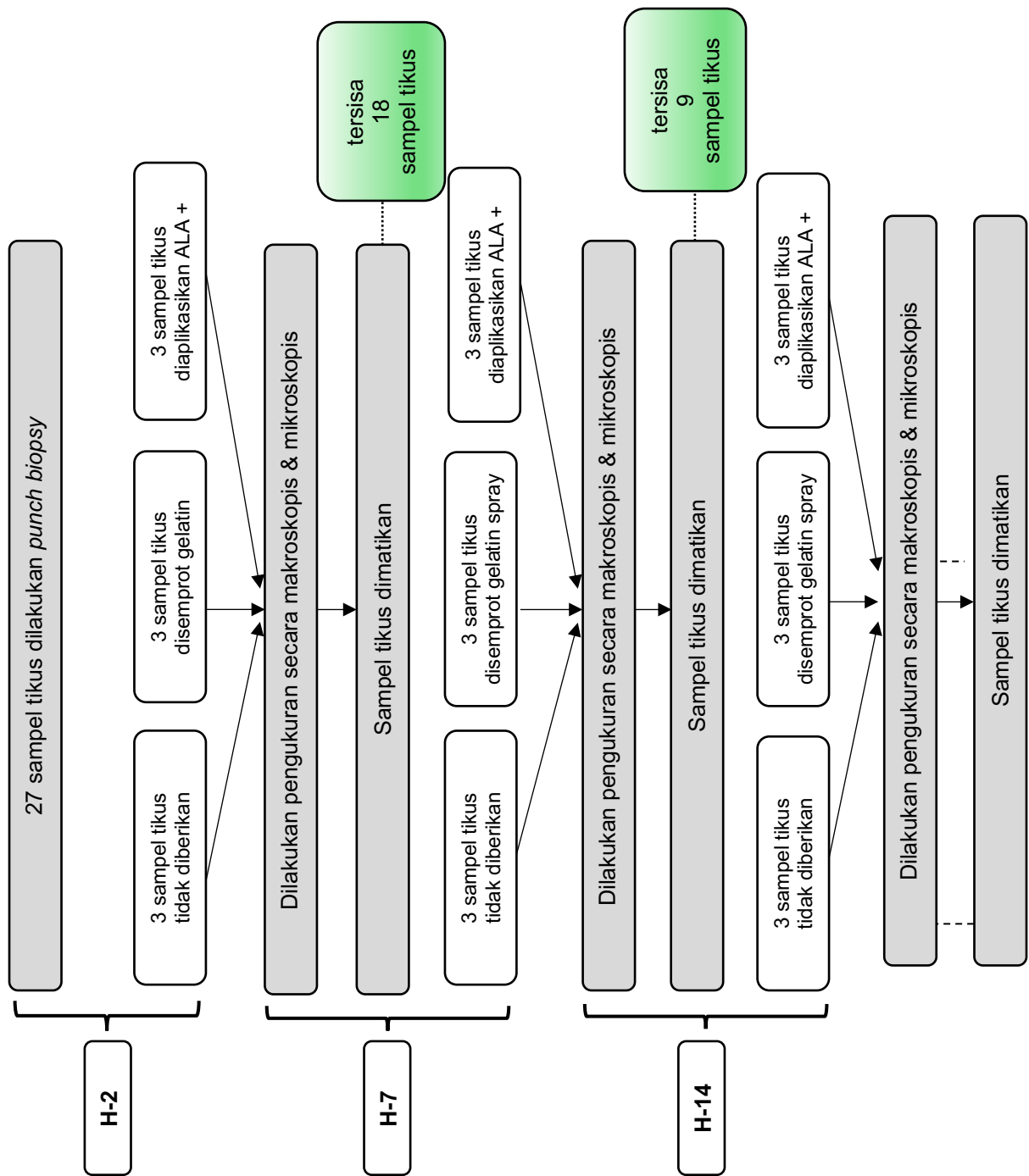
### 2.9.5 Pemeriksaan ELISA

- 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 antibodi ke standar karena larutan standar mengandung antibodi terbiotinilasi.
  - 4) Tambahkan 40ul sampel ke wadah sampel dan kemudian tambahkan 10ul antibodi VEGF ke sumur sampel, lalu tambahkan 50ul streptavidin-HRP ke wadah sampel dan wadah standar (Bukan wadah kontrol kosong). Campur dengan baik. Tutupi wadah dengan sealer. Inkubasi 60 menit pada suhu 37°C.
  - 5) Lepaskan *sealer* dan cuci wadah 5 kali dengan buffer pencuci. Rendam sumur dengan buffer pencuci 300ul selama 30 detik hingga 1 menit untuk setiap pencucian. Untuk pencucian otomatis, aspirasi atau tuang setiap wadah dan cuci 5 kali dengan buffer pencuci. Blot wadah ke handuk kertas atau bahan penyerap 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 optik (nilai OD) masing-masing wadah segera dengan menggunakan pembaca pelat mikro yang disetel ke 450 nm dalam waktu 10 menit setelah menambahkan stop solution.
- 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

#### **2.9.6 Pengamatan dan Pencatatan**

- Dilakukan pengamatan terhadap perkembangan penyembuhan luka pada masing-masing sampel tikus 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



## 2.11 Definisi Operasional Variabel

- a. Spray gelatin ialah solusio gelatin 30% dengan polyethylene glycol (15:3, gelatin/PEG, w/v) dibuat untuk menjadi solusio utama. Kebutuhan solusio tersebut di stabilisasi dengan mencampurkan eter dietil dengan rasio v/v 1:1.
- b. PDT adalah biner terapi yang melibatkan kombinasi cahaya dan fotosensitizer.
- c. Penyembuhan luka makroskopis menilai diameter area luka menggunakan mistar dan satuan mm berupa angka numerik.
- d. Penyembuhan luka adalah serangkaian proses perbaikan jaringan yang rusak yang dapat dinilai secara mikroskopis berdasarkan pemeriksaan histopatologis berupa skoring yang dapat dinilai berdasarkan kriteria berikut:
  - Diameter luka diukur dengan melihat diameter terpanjang luka sebelum perlakuan dan setelah perlakuan. Pengukuran diameter menggunakan jangka sorong dalam satuan millimeter (mm), dilakukan setiap hari.
  - Skor respon sel radang, jaringan granulasi dan reepitelisasi adalah parameter histopatologi dari jaringan kulit tikus wistar yang mengalami proses penyembuhan, yakni antara lain :
    - 1 : Respon minimal, jaringan granulasi 0-25% dengan dominasi sel-sel radang
    - 2 : Respon sedang, jaringan granulasi 50-75% dengan neovaskularisasi yang luas dan sedikit fibroblas
    - 3 : Respon banyak, jaringan granulasi >75% dengan didominasi oleh kolagen dan fibroblas yang luas.
  - Pengukuran skor reepitelisasi adalah epitel yang terbentuk pada saat proses penyembuhan luka, yakni:
    - 1 : Tidak dijumpai reepitelisasi pada penyembuhan luka
    - 2 : Reepitelisasi 1-50 % dari luas luka
    - 3 : Reepitelisasi 50%-9% dari luas luka
    - 4 : Reepitelisasi sempurna 100%
  - Pengukuran skor sel radang adalah keberadaan sel-sel radang pada saat proses penyembuhan luka, yakni:
    - 1 : Sel radang sedikit/ringan, sel tipis, granulasi dewasa didominasi oleh sel inflamasi tetapi memiliki beberapa fibroblas, kapiler atau deposisi kolagen
    - 2 : Sel radang moderate/sedang, yakni lapisan selnya cukup tebal, neovaskularisasi luas
    - 3 : Sel radang padat/berat, yakni lapisan selnya tebal, pembuluh darah jaringan granulasi didominasi oleh fibroblas & deposisi kolagen yang luas.

## **2.12 Pengolahan Data 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 tabel dan dilakukan statistik 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.