

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Kulit adalah organ terbesar dari tubuh yang mempunyai fungsi utama melindungi tubuh dari pengaruh lingkungan, selain itu kulit juga berfungsi memberikan sensasi, termoregulasi, dan kekebalan tubuh, jika terluka akan mengganggu aktivitas, menimbulkan nyeri, memudahkan terjadinya infeksi dan jika luka ini luas dan dalam, akan sukar sembuh. Luka adalah suatu trauma fisik yang mengakibatkan terputusnya diskontinuitas kulit. Penyembuhan luka yang sangat penting untuk restorasi dari terputusnya jaringan, dalam hal ini kulit, baik secara anatomi maupun secara fungsional (Begum, 2000).

Jaringan yang rusak akan memulai proses penyembuhan luka. Penyembuhan luka itu terjadinya penggantian jaringan - jaringan yang telah rusak atau jaringan nekrosis dengan jaringan yang baru dan sehat (Rodhiyah & Sulistiyawati, 2011). Pada proses terjadinya penyembuhan luka fase yang berperan penting antara lain fase *koagulasi*, fase *inflamasi*, fase *proliferasi*, dan fase maturasi atau remodeling (Atik Nur & Iwan Januarsih, 2009 ; Hapsariani, 2014). Proses *vasokonstriksi*, *hemostasis*, dan juga infiltrasi sel radang terjadi pada fase inflamasi yang dimulai dalam beberapa menit setelah luka dan berlangsung sampai beberapa hari (Puti et al, 2011). Fase ini, juga terjadi reaksi vaskuler pada tempat terjadinya luka ditandai dengan banyaknya sel radang yang terikat dalam luka dan aktif melakukan pergerakan dengan lekosit seperti *leukosit polimorfonuklear* (PMN L) atau neutrophil (Hapsariani, 2014). Sel PMN itu sendiri sangat penting terutama pada saat terjadi luka, yaitu dengan terjadinya peningkatan jumlah sel PMN sebagai adanya respon terhadap gerakan dari sel tubuh atau disebut kemotaksis yang dihasilkan oleh *mikroorganisme* (Hapsariani, 2014). Dalam keadaan nyeri, kadar β endorfin yang disekresi kelenjar pituitari meningkat dan mensupresi makrofag sehingga aktifitas makrofag yang dipengaruhi oleh IFN γ menurun. Penurunan aktivitas makrofag ini akan berakibat aktivitas sitokin yang dilepaskan oleh makrofag seperti TNF α , IL-1, IL-6, IL-8, TGF β menurun. Penurunan beberapa faktor pertumbuhan ini akan berakibat hambatan penyembuhan luka. Pada keadaan nyeri juga terjadi peningkatan hormon kortisol dan terjadi hambatan faktor pertumbuhan lain yaitu IL-1 yang bekerja menstimuli sel untuk pembentukan prokolagenase guna proses kolagenase. (Hollmann, 2013)

Tanda-tanda inflamasi mereda seperti rubor, calor, tumor, dolor dan function laesa (Wijaya Y.A et al, 2015). Selanjutnya terjadi fase proliferasi dapat diperhatikan dengan adanya *epitelisasi*, *angiogenesis*, dan *proliferasi fibroblast* dimulai pada hari ketiga setelah luka dan berlangsung selama sekitar 2 minggu setelahnya. Fase ini merupakan pembentukan jaringan granulasi dalam luka itu sendiri maka *macrophage* dan *lymphocyte* masih ikut berperan (Rodhiyah & Sulistiyawati, 2007 ; Velnaret al, 2009). Tahap *proliferasi*, *epitelisasi* merupakan komponen penting yang digunakan sebagai parameter untuk menentukan keberhasilan penyembuhan luka. Jika pada luka tidak ada re-epitelisasi, maka luka tidak dapat dianggap sembuh. Re-epitelisasi merupakan tahapan perbaikan luka yang meliputi mobilisasi, migrasi, mitosis dan diferensiasi sel epitel. Tahapan-tahapan ini akan mengembalikan integritas kulit yang hilang. Permulaan kulit re-epitelisasi akan terjadi melalui pergerakan sel-sel epitel dari tepi jaringan bebas menuju jaringan rusak. Penyembuhan luka sangat dipengaruhi oleh re-epitelisasi, karena semakin cepat proses reepitelisasi maka semakin cepat pula luka tertutup sehingga semakin cepat penyembuhan luka. Kecepatan dari penyembuhan luka dapat dipengaruhi dari zat-zat yang terdapat dalam obat yang diberikan, jika obat tersebut mempunyai kemampuan untuk meningkatkan penyembuhan dengan cara merangsang lebih cepat pertumbuhan sel-sel baru pada kulit (Isrofa, 2013).

Tahap akhir pada proses penyembuhan luka, fase remodeling ditandai dengan adanya remodeling jaringan dan kolagen, maturasi epidermis, dan pengerutan luka atau dengan kata lain fase ini sangat bertanggung jawab untuk pengembangan epitel baru dan pembentukan jaringan scar akhir. Fase remodeling itu sendiri dapat berlangsung 1 atau 2 tahun, atau kadang-kadang untuk jangka waktu yang lebih lama (Velnar et al, 2009).

Pada dasarnya proses penyembuhan luka yang baik dimulai dengan *hemostasis*, *inflamasi*, *proliferasi*, dan *remodelling*. Apabila terjadi gangguan pada salah satu fase tersebut sehingga terjadi

pemanjangan fase penyembuhan luka, maka dapat timbul penyakit seperti infeksi yang disebabkan oleh hilangnya integritas kulit yang berfungsi sebagai lapisan pertama pelindung tubuh.

Salah satu faktor yang berperan penting dalam proses penyembuhan luka dan berhubungan dengan peningkatan kecepatan proses penyembuhan luka adalah *vascular endothelial growth factor* (VEGF). *Vascular endothelial growth factor* (VEGF) adalah salah satu sel yang menjadi mediator terjadinya angiogenesis yang memiliki peranan penting dalam mitosis sel, perubahan bentuk sel dan meningkatkan permeabilitas vascular sehingga dapat memicu neovaskularisasi untuk mengganti pembuluh darah yang telah rusak karena terjadi luka. Vascular endothelial growth factor merupakan salah satu faktor angiogenesis yang pertama diidentifikasi dan dipercaya sebagai regulator terpenting pada proses angiogenesis normal maupun patologis. VEGF memainkan peranan penting dalam perkembangan pembuluh darah. Molekul VEGF mampu menginduksi permeabilitas, vascular leak dan memulai diferensiasi, proliferasi, migrasi serta pembentukan pembuluh darah yang merupakan bagian kunci pada tahap awal angiogenesis. VEGF selain berperan dalam angiogenesis juga terlibat dalam pembentukan jaringan granulasi bersama dengan growth factor lain seperti PDGF dan TGF- β . (Johnson, 2014) Oleh karena itu, sebisa mungkin perlu dipilih penatalaksanaan luka yang dapat meningkatkan kadar VEGF.

Penanganan luka umumnya dimulai dengan mencuci luka dengan air mengalir, kemudian luka tersebut dibalut dengan perban yang diberi obat oles yang tidak lengket pada luka (Schaefer & Szymanski, 2022). Obat oles yang diberikan ini diharapkan dapat membantu menciptakan lingkungan yang optimal untuk proses penyembuhan luka, melindungi luka dari kontaminasi oleh bakteri, serta membantu menyerap eksudat yang keluar dari luka (Sibbald et al., 2021).

Terdapat beberapa pilihan obat oles yang dapat digunakan pada luka seperti herbal madu atau juga obat oles modern seperti gelatin, atau krim silversulfadiazine (Moenadjat, 2003). Selain itu, dewasa ini, beberapa biomaterial alami seperti gelatin juga sering dipertimbangkan kegunaannya dalam penanganan luka. Gelatin merupakan biomaterial alami yang memiliki daya kompatibilitas yang tinggi karena menyerupai matriks ekstraseluler jaringan tubuh manusia. Gelatin dinilai sebagai biomaterial yang fleksibel dan stabil sehingga dapat menjadi pilihan sebagai bahan dari berbagai produk medis yang sifatnya implant (Naomi et al., 2021). Studi oleh Islam et al., menunjukkan bahwa gelatin yang dikemas dalam bentuk *gelatin-based instant gel-forming volatile spray* memiliki dampak positif terhadap penyembuhan luka (Naomi et al., 2021).

Seiring dengan perkembangan teknologi dalam ilmu kedokteran, saat ini tersedia berbagai metode perawatan luka, termasuk pembalut luka, perawatan terapeutik, dan pengobatan. (Kazemi et al., 2020; Tottoli et al., 2020) Oleh sebab itu, pemilihan metode untuk jenis luka tertentu diperlukan untuk penyembuhan yang lebih efektif. Beberapa jenis metode dressing konvensional antara lain: kain kasa, plester, serat, perban alami atau sintetis, dan kapas. (Shukla et al., 2019; Tort et al., 2020) Meski terbukti memiliki kontribusi pada penyembuhan luka, bahan pembalut tersebut dapat memberikan lingkungan yang lembab ke daerah yang terluka sehingga saat ini diganti dengan metode dressing modern dengan formulasi lebih baik. (Kazemi et al., 2020) Dressing modern dirancang tidak hanya untuk melindungi daerah yang terluka dari infeksi eksternal tetapi juga untuk menjaga agar luka tetap terhidrasi dan mempercepat penyembuhan. Namun, sebagian besar pembalut luka modern yang dikomersialkan adalah berbahan dasar polimer sintetis. Saat ini, berbagai biomaterial alami seperti gelatin juga sering dipertimbangkan penggunaannya dalam pengobatan luka. (Tort et al., 2020)

Gelatin merupakan biomaterial alami yang sangat kompatibel karena menyerupai matriks ekstraseluler jaringan tubuh manusia. Gelatin dianggap sebagai biomaterial yang fleksibel dan stabil, sehingga dapat dipilih sebagai bahan berbagai produk medis yang bersifat implant. (Boateng, 2020; Gaspar-Pintilieșcu et al., 2019a) 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. Dibandingkan dengan kolagen, gelatin menunjukkan sifat hemostasis yang lebih superior. (Şelaru et al., 2019) Gelatin juga dapat mengabsorpsi eksudat yang terdapat pada area luka dan membuat lingkungan yang mendukung dimulainya fase-fase penyembuhan luka. Pada fase proliferasi, gelatin merangsang migrasi dari sel-sel terutama fibroblast pada situs luka. (Kang & Park, 2021; Tanaka et al., 2005) Pada

sebuah penelitian menunjukkan bahwa gelatin dapat mempengaruhi ekspresi sitokin pro inflamasi IL-6. Penelitian yang dilakukan oleh Zeng et al menemukan adanya peningkatan ekspresi dari VEGF, HGF, bFGF, dan PDGF pada sel punca yang diberikan gelatin *microgel* (Zeng et al., 2015). Adanya peningkatan dari sistem parakrin ini, maka gelatin dapat mempercepat proses penyembuhan luka.

Metode perawatan luka yang berkembang saat ini adalah menggunakan prinsip yang dikenal sebagai *Modern Calcium Alginate Dressing* atau yang biasa disingkat *Calcium Dressing*, dinyatakan lebih efektif dalam penyembuhan luka (Kartika, 2015). *Calcium dressing* merupakan salah satu metode perawatan luka dengan cara tertutup dan lembab yang difokuskan untuk menjaga luka dari dehidrasi dan meningkatkan proses penyembuhan luka (Dhivya, Padma, & Santhini, 2015).

Luka dengan suasana lembab dapat mempercepat *fibrinolisis*, *angiogenesis*, menurunkan resiko infeksi, pembentukan *growth factor*, dan pembentukan sel aktif (Handayani, 2016). *Calcium dressing* yang telah dikembangkan terbuat dari polimer sintetis dan diklasifikasikan sebagai produk pasif, interaktif dan bioaktif (Dhivya et al., 2015), dalam bentuk hidrokoloid, alginat, hidrogel, film, dan busa (Borda, Macquhae, & Kirsner, 2016). *Calcium dressing* yang mengandung antimikroba telah dikembangkan sejak dua puluh tahun terakhir, efektif membunuh bakteri dan jamur pada luka, mencegah infeksi berulang selama penyembuhan (Boateng & Catanzano, 2015), dan efektif untuk pengobatan luka yang terinfeksi (Martin et al., 2013).

Pada praktik klinis, cara terbaik untuk menilai progresi penyembuhan luka dilihat dari perubahan area permukaan luka. Perubahan ukuran dari luka merupakan parameter klinis yang paling sering digunakan untuk menilai proses penyembuhan luka. (Falanga, 2005). Pemeriksaan histopatologi luka berguna untuk pemantauan progresi penyembuhan luka sebagai respon terhadap terapi. Beberapa komponen histopatologi yang dinilai pada luka yaitu sel darah putih (makrofag, sel mast, limfosit, dan neutrofil), pembuluh darah, fibroblas, dan kolagen. (Masson-Meyers et al., 2020) Beberapa faktor pertumbuhan dan pro inflamasi yang berperan dalam proses penyembuhan luka, salah satunya yaitu *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan interleukin-6 (IL-6). Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah *Calcium Alginate Dressing*. Terapi ini bersifat menghambat pertumbuhan mikroba dan mempercepat proses penyembuhan luka. (Kang & Park, 2021) Pada penelitian ini, peneliti ingin mengevaluasi Efektivitas *Gelatin Spray* dan *Calcium Dressing* Terhadap Penyembuhan Luka Pada Tikus Wistar.

1.2 Luka

1.2.1 Definisi dan Etiologi Luka

Luka dapat diartikan sebagai gangguan pada kontinuitas lapisan epitel kulit atau mukosa yang disebabkan oleh trauma fisik, kimiawi atau termal sehingga mengakibatkan terganggunya fungsi dan anatomis normal dari kulit (Dhivya, Padma dan Santhini, 2015; Tavakoli dan Klar, 2020). Pada luka terjadi terputusnya kontinuitas suatu jaringan oleh karena adanya cedera atau pembedahan dimana terjadi kerusakan fungsi perlindungan kulit yang disertai kehilangan kontinuitas jaringan epitel dengan atau tanpa kerusakan jaringan lain seperti otot.

Berbagai macam penyebab terjadinya luka baik yang disebabkan oleh trauma tumpul maupun karena terjadinya disbebkan oleh trauma benda tajam. Penyebab terjadinya luka yaitu adanya insufisiensi vena, terjadinya iskemia pada jaringan, adanya faktor komorbiditas misalnya DM, dan adanya tekanan yang berlebih pada permukaan kulit (Trostrup, Hannah, 2016). Selain luka akut juga dapat terjadinya luka kronis dimana luka sulit untuk sembuh, adapun penyebab terjadinya luka kronis adalah luka trauma dan luka pembedahan yang terjadi akibat infeksi oleh bakteri atau kuman (Sun, Xiaofang; Ni, Pengwen, 2017). Luka kronis disebabkan karena proses perawatan yang kurang baik, sehingga terjadi infeksi dan juga akibat dari adanya penyakit penyerta pada pasien.

Angka kejadian luka memiliki prevalensi mencapai jutaan kasus pertahunnya. Prevalensi pasien luka di Indonesia dengan angka tertinggi terdapat di provinsi Sulawesi Utara yaitu 75,6% dan jenis luka tertinggi yang dialami penduduk Indonesia adalah luka lecet sebesar 64,1% (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan RI, 2018).

1.2.2 Jenis-jenis Luka

Berdasarkan sifat proses perbaikannya, Tavakoli dan Klar (2020) mengklasifikasikan luka menjadi dua kategori utama sebagai berikut:

1. Luka Akut

Luka akut adalah luka yang dapat sembuh total dalam jangka waktu kurang lebih 8-12 minggu. Luka akut sebagian besar disebabkan oleh cedera mekanis, seperti kontak gesekan antara kulit dan permukaan keras (misalnya pisau), penetrasi tembakan senjata, dan sayatan bedah. Sebaliknya, luka akut terutama disebabkan oleh bahan kimia dan luka bakar setelah radiasi, bahan kimia korosif, listrik, dan cedera termal.

2. Luka Kronis

Luka kronis didefinisikan sebagai luka yang menunjukkan penyembuhan tertunda (lebih dari 12 minggu) setelah cedera awal. Luka kronis sebagian besar disebabkan oleh kerusakan jaringan berulang atau kondisi fisiologis seperti diabetes, gangguan angiogenesis dan persarafan. Luka kronis biasanya terjadi akibat faktor lain dari pasien seperti penyakit kronis penyerta, infeksi, dan perawatan primer yang buruk.

Berdasarkan etiologi penyebabnya, *Wound Healing Society* membagi luka kronis menjadi empat kategori yang berbeda yaitu ulkus-*pressure*, ulkus diabetes, ulkus vena, dan ulkus insufisiensi arteri. Luka berdasarkan gambaran derajat luka dijabarkan sebagai berikut:

1. Stadium I: Luka superfisial (non blanching erithema) yaitu luka yang terjadi pada lapisan epidermis kulit.
2. Stadium II: Luka (partial thickness) yaitu hilangnya lapisan kulit pada lapisan epidermis dan bagian atas dari dermis. Tandanya adalah abrasi, blister atau lubang yang dangkal.
3. Stadium III : Luka (full thickness) yaitu hilangnya kulit keseluruhan meliputi kerusakan atau nekrosis jaringan subkutan yang dapat meluas sampai bawah tetapi tidak melewati jaringan yang mendasarinya.
4. Stadium IV: Luka (full thickness) yang telah mencapai lapisan otot, tendon, dan tulang dengan adanya destruksi kerusakan yang luas.

Tabel 2.1. Jenis luka (Morteza Abazari, Azadeh Ghaffari, 2020)

Ketebalan	Derajat	Kedalaman	Karakteristik
<i>Superfisial</i>	1	Epidermis	Nyeri, kemerahan, pembengkakan ringan
<i>Superfisial Parsial</i>	2	Dermis: wilayah papilari	Nyeri, blister, kulit bernoda, pembengkakan sedang
<i>Deep Parsial</i>	3	Dermis: wilayah reticular	Putih, kulit kasar, relative tidak nyeri
<i>Full thickness</i>	4	Hypodermis (jaringan subcutan)	Hangus, tidak berasa, terdapat eschar

Tabel 1. 1 Jenis Luka (Morteza Abazari, Azadeh Ghaffari, 2020)

Menurut luka (Rajendran. S, 2019) diklasifikasikan berdasarkan integritas kulit dibagi menjadi dua yaitu:

1). Luka terbuka menurut (Rajendran. S, 2019) diantaranya adalah:

- a). Luka Insisi adalah luka bersih yang disebabkan oleh prosedur operasi atau karena luka yang tidak disengaja seperti terkena pecahan gelas.

- b). Laserasi/luka robek adalah kerusakan kulit diakibatkan oleh trauma yang melebihi kekuatan jaringan yang lebih dalam, contohnya luka robek pada kepala akibat trauma tumpul.
- c). Luka Abrasi adalah luka epitel superfisial yang disebabkan oleh gesekan ataupun terkikis.
- d). Avulsi adalah robeknya sebagian atau seluruh kulit dan jaringan di bawahnya akibat dari tembakan, ledakan, kecelakaan berat atau perkelahian.
- e). Ulserasi adalah luka akibat penekanan yang lama pada kulit misalnya akibat baring lama, pemasangan NGT, dll.
- f). Amputasi adalah hilangnya atau terputusnya bagian tubuh.
- g). Penetrasi adalah luka tusuk yang lebih dalam, bergerigi dan tidak teratur, misalnya luka tembak, luka akibat ditikam.
- h). Luka bakar adalah kerusakan lapisan kulit yang disebabkan oleh benda panas, termasuk api, air panas, uap panas, dan sengatan listrik.
- i). Luka terhimpit/*crush wound* adalah luka akibat dari terhimpit dan mendapat tekanan yang kuat dari benda berat yang menyebabkan luka robek, patah tulang, dislokasi sendi, cedera saraf, hancur atau terpotongnya bagian tubuh tertentu hingga perdarahan organ.
- j). Fistula adalah saluran abnormal yang menerobos kulit disekitar luka yang terinfeksi dan bernanah.
- k). Abses adalah luka yang terjadi akibat dari infeksi berat yang mengakibatkan munculnya nanah dan kotoran yang menumpuk dibawah kulit.
- l). Luka tusukan adalah luka yang diakibatkan oleh benda tajam atau runcing.
- m). Ostomi adalah lubang buatan di dinding perut untuk mengeluarkan kotoran dari tubuh.
- n). Luka gigitan atau sengatan adalah luka akibat dari gigitan atau sengatan yang biasanya mengalami reaksi pembengkakan, rasa gatal dan panas.

2). Luka tertutup menurut (Rajendran. S, 2019) yaitu :

- a). Contusio atau biasa disebut luka memar adalah suatu trauma jaringan yang disebabkan oleh, benda tumpul atau akibat ledakan namun jaringan tersebut tidak mengalami luka yang terbuka.
- b). *Blisters* adalah luka melepuh yang berisi cairan.
- c). Seroma adalah penumpukan cairan dibawah kulit setelah operasi.
- d). Hematoma dan tumor, hematoma adalah kumpulan darah diluar pembuluh darah dan mengakibatkan benjolan, sedangkan tumor adalah benjolan yang disebabkan oleh sel yang memperbanyak diri secara berlebihan.

1.2.3 Penyembuhan Luka

Tubuh mempunyai pelindung dalam menahan perubahan lingkungan yaitu kulit. Apabila faktor dari luar tidak mampu ditahan oleh pelindung tersebut maka terjadilah luka. Dalam merespon luka tersebut, tubuh memiliki fungsi fisiologis penyembuhan luka. Proses penyembuhan ini terdiri dari fase awal, intermediate dan fase lanjut. Masing – masing fase memiliki proses biologis dan peranan sel yang berbeda. Pada fase awal, terjadi hemostasis dimana pembuluh darah yang terputus pada luka akan dihentikan dengan terjadinya reaksi vasokonstriksi untuk memulihkan aliran darah serta inflamasi untuk membuang jaringan rusak dan mencegah infeksi bakteri. Pada fase intermediate, terjadi proliferasi sel mesenkim, epitelialisasi dan angiogenesis. Selain itu terjadi pula kontraksi luka dan sintesis kolagen pada fase ini. Sedangkan untuk fase akhir, terjadi pembentukan luka / remodelling (Elena Tsourdi, Andreas Barthel, 2013).

Penyembuhan luka adalah proses yang kompleks dan sangat diatur, yang dapat dikompromikan oleh faktor endogen (patofisiologis) maupun faktor eksogen (mikro-organisme) (Elena Tsourdi, Andreas Barthel, 2013). Proses fisiologis penyembuhan luka terdiri dari fase inflamasi, fase proliferasi dan fase maturasi atau remodeling, fase-fase ini diatur oleh interaksi halus antara faktor seluler dan humoral (Elena Tsourdi, Andreas Barthel, 2013).

1.2.4 Tipe-Tipe Penyembuhan Luka

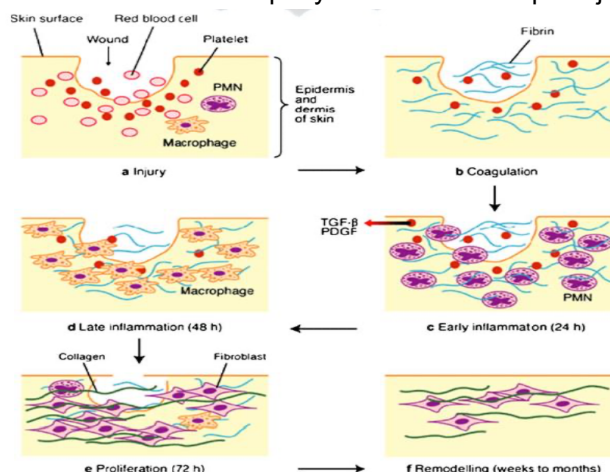
Menurut Rajendran (2018) cara penyembuhan luka terbagi menjadi tiga tipe sebagai berikut:

1. *Primary intention* dilakukan dengan menutup luka menggunakan jahitan, staples, atau perekat lain.

- Luka akan menutup dengan cepat dan resiko bekas luka yang ditimbulkan sangat kecil.
2. *Secondary intention* yaitu luka dibiarkan terbuka. Penyembuhan yang terjadi akan dipicu oleh reepitelisasi dan kontraksi jaringan. Cara ini berlaku untuk ukuran luka yang luas dan diperkirakan tidak akan kembali ke bentuk semula.
 3. *Tertiary healing* yaitu terjadi apabila penutupan luka tertunda selama beberapa hari. Hal ini disebabkan oleh kontaminasi yang terjadi pada luka tersebut. Sehingga diperlukan waktu tambahan untuk membersihkan luka dan memastikan tidak ada bakteri, kuman, ataupun debris yang tersisa di dalam luka.

1.2.5 Mekanisme Penyembuhan luka

Secara fisiologis, tubuh dapat 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 oleh kemampuan sel dan jaringan untuk beregenerasi. (Bagchi et al., 2020; Febrianti et al., 2019; Tanaka et al., 2005) 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 proliferative: (4) Fase maturasi. Fase-fase penyembuhan luka dapat dijabarkan sebagai berikut:



Gambar1. 1 Proses Penyembuhan Luka

1. Homeostasis

Pada luka yang menembus epidermis, akan merusak pembuluh darah menyebabkan pendarahan. Untuk mengatasinya terjadilah proses hemostasis. Proses ini memerlukan peranan platelet dan fibrin. Pada pembuluh darah normal, terdapat produk endotel seperti prostacyclin untuk menghambat pembentukan bekuan darah. Ketika pembuluh darah pecah, proses pembekuan dimulai dari rangsangan collagen terhadap platelet. Platelet menempel dengan platelet lainnya dimediasi oleh protein fibrinogen dan faktor von Willebrand. Agregasi platelet bersama dengan eritrosit akan menutup kapiler untuk menghentikan perdarahan. Segera setelah terjadinya luka, pembuluh darah yang putus mengalami konstriksi (penyempitan) dan retraksi (penyusutan) disertai reaksi hemostasis. Hemostasis adalah interaksi kompleks antara pembuluh darah, trombosit dan protein koagulasi dalam menghentikan perdarahan dengan tetap menjaga aliran darah di pembuluh darah (Chlander, 2005). Fase hemostasis terjadi karena trombosit yang keluar dari pembuluh darah membentuk sumbat trombosit, dan bersama dengan jala fibrin yang terbentuk membekukan darah yang keluar dari pembuluh darah (Sjamsuhidayat dan Jong, 1997).

Koagulasi darah memperkuat sumbat trombosit dan mengubah darah di sekitar tempat cedera menjadi suatu gel yang tidak mengalir. Sebagian besar faktor yang diperlukan untuk pembekuan darah selalu terdapat di dalam plasma dalam bentuk prekursor inaktif. Saat pembuluh mengalami cedera, kolagen

yang terpapar kemudian mengalami reaksi bertahap yang melibatkan suksesif faktor-faktor pembekuan tersebut, yang akhirnya mengubah fibrinogen menjadi fibrin. Fibrin, suatu molekul berbentuk benang yang tidak larut, ditekankan membentuk jaringan bekuan; jaring ini kemudian menangkap sel-sel darah dan menyempurnakan pembentukan bekuan. Darah yang telah keluar ke dalam jaringan juga mengalami koagulasi setelah bertemu dengan tromboplastin jaringan, yang juga memungkinkan terjadinya proses pembekuan (Sjamsuhidayat dan Jong, 1997). Komponen hemostasis akan melepaskan dan mengaktifkan sitokin melalui proses degranulasi platelet yang meliputi faktor pertumbuhan epidermis (*epidermal growth factor*, EGF), faktor pertumbuhan mirip insulin (*insulin-like growth factor*, IGF), faktor pertumbuhan yang berasal dari trombosit (*platelet-derived growth factor*, PDGF), dan faktor pertumbuhan β yang bertransformasi (*beta-transforming growth factor*, TGF- β) yang berperan untuk terjadinya kemotaksis neutrofil, makrofag, mast sel, sel endotelial dan fibroblas. Fibroblas ini nantinya akan membentuk jaringan parut dalam proses penyembuhan luka. Bersamaan dengan ini terjadi pula fase inflamasi (Hanifatunnisa, 2020))

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. (Hanifatunnisa, 2020).

2. Inflamasi

Inflamasi adalah suatu respon protektif yang ditujukan untuk menghilangkan penyebab awal cedera sel serta membuang sel dan jaringan nekrotik yang diakibatkan oleh kerusakan awal (Luscinskas dan Gimbrone, 1996). Menurut Sjamsuhidayat dan Jong (1997), fase ini berlangsung sejak terjadinya luka hingga kira-kira hari kelima. Inflamasi dimulai dengan adanya aktivasi dari komplemen, baik klasik ataupun alternatif dan infiltrasi neutrophil ke lokasi luka dalam waktu 24 – 48 jam. Sel darah putih memiliki beberapa fungsi, yaitu fagositosis material nekrosis dan produksi beberapa sitokin. Neutrofil adalah sel pertama yang memberikan respon terhadap produk kemotaktik platelet. Setelah berada pada lokasi luka, neutrofil akan melekat pada pembuluh darah dan dengan bantuan *cell adhesion molecules* (CAMs) kemudian bermigrasi ke ruang ekstrasvaskular. Neutrofil juga memproduksi *tumor necrosis factor - α* (TNF- α) dan IL-1. Fungsi dari kedua sitokin ini yaitu menarik fibroblas dan sel epitel. (Patel et al., 2016).

Respons inflamasi akut berlangsung singkat dan disertai reaksi sistemik yang disebut respons fase akut. Fase awal inflamasi ditandai dengan vasodilatasi, kebocoran vaskular mikro disertai eksudasi cairan, protein serta infiltrasi lokal sel-sel inflamasi, hal ini terjadi akibat pelepasan mediator vasoaktif dari sel mast (histamin, leukotriene), platelet dan komponen plasma lainnya (bradikinin) dimana secara klinis akan tampak beberapa tanda yaitu kemerahan (rubor), panas (calor), edema (tumor), nyeri (dolor) dan gangguan fungsi tubuh (*functio laesa*) (Roma Pahwa, 2020).

Sebagian besar ciri peradangan akut berlanjut saat peradangan menjadi kronis, termasuk perluasan pembuluh darah (vasodilatasi), peningkatan aliran darah, permeabilitas kapiler dan migrasi neutrofil ke jaringan yang terinfeksi melalui dinding kapiler (diapedesis), dan komposisi sel darah putih segera berubah dan makrofag serta limfosit mulai menggantikan neutrofil yang berumur pendek (Roma Pahwa, 2020). Dengan demikian, ciri peradangan kronis adalah infiltrasi sel inflamasi primer seperti makrofag, limfosit, sel plasma di situs jaringan, menghasilkan sitokin inflamasi, faktor pertumbuhan enzim, berkontribusi pada perkembangan kerusakan jaringan, perbaikan sekunder termasuk fibrosis, dan pembentukan granuloma (Aouba & Sophie Georgin-Lavialle, 2010). Produksi protein fase akut ini distimulasi oleh berbagai sitokin yang dilepaskan selama proses inflamasi, seperti interleukin (IL)-1 β dengan nilai normal < 15 pg/ml, tumor necrosis factor (TNF)- α dengan nilai normal <20 ui/ml, IL-6 dengan nilai normal <8.6 pg/ml, dan CRP dengan nilai normal <5 mg/L (Aouba & Sophie Georgin-Lavialle, 2010). Mendeteksi sitokin pro inflamasi tersebut, dapat mengidentifikasi faktor spesifik yang menyebabkan peradangan kronis (Roma Pahwa, 2020). Secara definisi, protein fase akut adalah protein yang konsentrasinya meningkat (protein fase akut positif) atau menurun (protein fase akut negatif) 25% dalam plasma selama terjadi proses inflamasi, dan penilaian CRP, ESR, PCT, dan IL-6 sangat berharga saat memantau terjadinya inflamasi (Suzanne Av Van Asten, 2017).

Interleukin (IL) -1 adalah sitokin proinflamasi kuat yang mampu memicu berbagai proses fisiologis seperti aktivasi limfosit, induksi protein hati fase akut, infiltrasi leukosit di lokasi infeksi, demam dan anoreksia, dengan jelas mengindikasikan bahwa sitokin ini penting untuk respon imun bawaan. Selain itu,

interleukin (IL)-1 β merupakan sitokin pro-inflamasi yang meningkatkan proliferasi dan aktivasi limfosit-T, meningkatkan pelepasan netrofil dari sumsum tulang dan migrasi netrofil, meningkatkan diferensiasi makrofag/monosit, menurunkan persepsi nyeri melalui peningkatan pelepasan endorfin dan reseptor mirip opiate di otak, meningkatkan induksi IL-6 dan meningkatkan penyembuhan luka, meregulasi fungsi molekul adhesi seperti E-selectin, ICAM-1 dan V-CAM pada sel endotelial vaskular dan menstimulasi produksi kemokin(sitokin kemotaktis) oleh jaringan ikat penghubung dan sel endotelial (Pearl P. Y. Lie, 2013).

Adanya kemokin meningkatkan jumlah leukosit dalam sirkulasi, selanjutnya terjadi perlekatan leukosit dengan endotelium yang cedera sehingga terjadi migrasi ke jaringan (Pearl P. Y. Lie, 2013). Proses fagositosis di area inflamasi atau injuri yang dilakukan oleh leukosit, ditingkatkan oleh kombinasi efek dari TNF- α , IL-1, *colony stimulating factors* dan *chemokines* (Pearl P. Y. Lie, 2013).

3. Proliferasi

Proliferasi sel umumnya dirangsang oleh faktor pertumbuhan intrinsik, luka, kematian sel, atau bahkan oleh deformasi mekanis jaringan. Sel yang sedang berproliferasi berkembang melalui serangkaian tempat dan fase yang sudah ditentukan yang disebut siklus sel. Siklus sel tersebut terdiri atas fase pertumbuhan prasintesis 1 atau G1, fase sintesis DNA atau S, fase pertumbuhan pramitosis 2 atau G2, dan fase mitosis atau M. sel istirahat berada dalam keadaan fisiologis yang disebut G0 (Guyton dan Hall, 1997). Fase ini ditandai oleh adanya migrasi fibroblas, deposisi matriks ekstraseluler dan pembentukan jaringan granulasi. Proliferasi dimulai 3 hari setelah terjadi luka dan dapat bertahan 2 – 4 minggu. Reepitelialisasi merupakan kejadian penting pada fase ini. Proses ini melibatkan migrasi keratinosit dan hubungan ketergantungan antara pergerakan keratinosit di matriks fibrin, rekrutmen fibroblas, dan pembentukan matriks ekstraseluler.

PDGF dan TGF- β akan menarik fibroblas ke lokasi luka. Pada akhirnya fibroblas akan berproliferasi dan memproduksi matriks yang terdiri dari fibronectin, hialuronan, kolagen, dan proteoglikan. Seluruh komponen ini penting untuk pembentukan matriks ekstraseluler yang baru dan perbaikan jaringan. Matriks ekstraseluler terbuat dari beberapa protein perekat yang tertanam pada proteoglikan, glikosaminoglikan, kolagen dan elastin. Selama fase proliferasi, sintesis kolagen diinduksi oleh PDGF, FGF, TGF- β , IL-1 dan TNF. Ekspresi gen kolagen diatur oleh beberapa faktor, seperti TGF- β dan FGF. TGF- β menstimulasi produksi dari kolagen tipe I dan III.(Vaidyanathan, 2021)

Protein perekat seperti fibronectin, laminin, trombospondin, dan integrin membantu dalam migrasi seluler.(Becchetti & Arcangeli, 2010) Fibronectin terhubung permukaan sel, membrane basal dan matriks ekstraseluler. Selain itu, fibronectin dapat melekat pada komponen matriks ekstraseluler seperti kolagen, fibrin, proteoglikan, atau integrin dan secara langsung memediasi terjadinya migrasi sel. Integrin memiliki peranan penting dalam adesi antar sel dan adesi sel dengan matriks. Fungsi dari integrin yaitu membantu regulasi interaksi antara matriks ekstraseluler dengan sitoskeleton.

Setelah matriks sementara telah terbentuk, keratinosit akan bermigrasi untuk membentuk epitel pada luka. *Matrix metalloproteinase* (MMP) memiliki fungsi yang penting pada proses pelepasan keratinosit dari hemidesmosomal dan desomomal pada tepi luka dan bermigrasi melintasi matriks sementara. Protein penting lainnya yaitu *plasminogen activator inhibitor* dan *urokinase plasminogen activator*. Aktivasi dari kedua protein tersebut penting untuk migrasi keratinosit dimana proses ini juga bergantung pada interaksi antara keratinosit dan kolagen. Komponen lain yang memiliki peranan penting untuk migrasi keratinosit dan epitelialisasi yaitu MMP-1. Agar migrasi keratinosit dapat terjadi, dibutuhkan pemotongan kolagen tipe IV dan VII yang diperantai oleh MMP 9.

Proses migrasi keratinosit dari tepi luka dan *skin appendages* dalam 24 jam pertama. Peningkatan aktivitas mitotik pada 12 jam pertama dari basal sel epitel dari tepi luka berguna untuk memfasilitasi migrasi. Selanjutnya keratinosit akan melepaskan perlekatan dari dermis dan bermigrasi. Pada akhirnya akan terbentuk membran basalis baru dan mendukung pertumbuhan dan diferensiasi sel epitel lebih lanjut untuk membentuk epitel.

Sel endotel merupakan target langsung dan tidak langsung dari aktivasi jalur IL-6/IL-6R/gp130, yang berimplikasi pada penyembuhan luka. Ketika dirangsang dengan IL-6, sel endotel lebih proliferaatif dan menghasilkan MCP-1, IL-8, dan IL-6 dengan cara yang bergantung pada JAK/STAT, berkontribusi pada lingkungan mikro inflamasi dengan merekrut leukosit. Fibroblas, keratinosit, dan makrofag mengekspresikan faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF) sebagai respons terhadap IL-6. VEGF adalah salah satu stimulator utama neovaskularisasi. Vaskularisasi merupakan komponen penting penyembuhan luka, dan gangguan vaskularisasi menunda penutupan luka.(Johnson et al., 2020)

4. Maturasi (*Remodeling*)

Pada fase ini terjadi proses pematangan yang terdiri dari penyerapan kembali jaringan yang berlebih, pengerutan sesuai dengan gaya gravitasi, dan akhirnya perupaan kembali jaringan yang baru terbentuk. Fase ini berlangsung selama berbulan-bulan dan dinyatakan berakhir apabila semua tanda radang sudah lenyap. Tubuh berusaha menormalkan kembali semua yang menjadi abnormal karena proses penyembuhan edema dan sel radang diserap, sel yang sedang berproliferasi menjadi matang, kapiler baru menutup dan diserap kembali, kolagen yang berlebih diserap dan sisanya mengerut sesuai dengan regangan yang ada. Interaksi antara matriks ekstraseluler dan fibroblas menyebabkan kontraksi luka dan dipengaruhi oleh banyak sitokin seperti TGF- β , PDGF, dan FGF. TGF- β memegang peran penting pada fase awal dari remodeling. TGF- β mencegah degradasi kolagen dan mempromosikan terjadinya kontraksi luka dengan menginduksi terlepasnya *tissue inhibitor metalloprotease*. Proses remodeling dari matriks ekstraseluler dan pergerakan sel sangat tergantung oleh MMP. MMP diproduksi oleh fibroblas, neutrofil, keratinosit, makrofag, kolagenase interstisial, dan gelatinase. MMP-10 memecah komponen non kolagen matriks ekstraseluler dan memfasilitasi terjadinya migrasi. Aktivitas dari MMP diregulasi secara ketat karena MMP dapat mengakibatkan degradasi kolagen dan mengganggu proses penyembuhan. MMP diaktivasi oleh beberapa protein tertentu dan diinhibisi oleh spesifik metaloproteinase. Selama fase ini, sel pada luka kembali ke fenotipe stabil, material dari matriks ekstraseluler mengalami perubahan dan jaringan granulasi menghilang. (Falanga, 2005)

Selama proses ini dihasilkan jaringan parut yang pucat, tipis dan lemas serta mudah digerakkan dari dasar. Pengerutan maksimal terlihat pada luka. Pada akhir fase ini, perupaan luka kulit mampu menahan regangan kira-kira 80% kemampuan kulit normal. Hal ini tercapai kira-kira 3-6 bulan setelah penyembuhan (Sjamsuhidayat dan Jong, 1997). Penyembuhan luka sangat penting untuk mengembalikan integritasnya sesegera mungkin dan merupakan suatu proses kompleks dan dinamis dengan pola yang dapat diprediksikan. Fase proliferasi merupakan salah satu tahap penting pada penyembuhan luka dan terjadi setelah fase inflamasi (Atik dan Iwan, 2009). Fase proliferasi atau fase fibroplasia akan cepat terjadi, apabila tidak ada infeksi dan kontaminasi pada fase inflamasi (Suriadi, 2004).

1.2.6 Faktor Yang Mempengaruhi Penyembuhan Luka

Faktor yang berperan penting pada penyembuhan luka (Young dan McNaught, 2011) :

1. Nutrisi

Malnutrisi mempengaruhi penyembuhan dengan memperpanjang masa peradangan, menghambat fungsi fibroblas dan mengganggu angiogenesis dan deposisi kolagen. Beberapa nutrisi penting untuk penyembuhan luka diantaranya adalah vitamin A (terlibat dalam pertumbuhan epidermis), karbohidrat (untuk sintesis kolagen), asam lemak omega-3 (memodulasi jalur AA) dan albumin (mempertahankan tekanan onkotik plasma, membantu metabolisme dan transportasi, antiinflamasi, membantu keseimbangan asam basa, antioksidan). Terdapat penelitian oleh Campos dkk pada tahun 2008, bahwa nutrisi (asam amino, vitamin A, C, E, *zinc*, tembaga, selenium, ginkgo biloba) memiliki manfaat dalam perannya meningkatkan penyembuhan luka.

2. Hipoksia

Setiap luka memiliki kondisi hipoksia disebabkan karena pasokan vaskular lokal terganggu, sementara oksigen diperlukan untuk memfasilitasi epitelisasi ulang dan penting untuk menyembuhkan luka. Hipoksia adalah salah satu kemoatraktan untuk neutrofil dan makrofag namun oksigen dibutuhkan untuk proses fagositosis. Kurz dkk pada tahun 1996 melaporkan, bahwa pemberian oksigen tambahan yang diberikan selama tindakan operasi mengurangi risiko infeksi luka. Oksigen juga penting untuk deposisi kolagen karena berfungsi sebagai substrat dalam hidroksilasi residu prolin dan lisin.

3. Infeksi

Profilaksis antibiotik sebelum tindakan bedah terbukti mengurangi risiko infeksi luka. Penutupan luka yang tertunda dapat disebabkan oleh kontaminasi saat melakukan penjahitan luka operasi.

4. Imunosupresi

Pasien dengan *human immunodeficiency virus* (HIV), kanker dan malnutrisi semuanya memiliki tingkat imunosupresi yang dapat menyebabkan keterlambatan penyembuhan luka. Obat anti peradangan yang dapat menghambat kaskade penyembuhan, seperti prednisolon (steroid oral) telah

terbukti mengurangi konsentrasi sitokin selama perbaikan luka namun dapat menyebabkan endapan kolagen berkurang.

5. Penyakit kronik

Penyakit kronik seperti diabetes melitus, gagal ginjal kronik, gangguan fungsi hati dan penyakit yang berhubungan dengan sistem kardiorespirasi dapat mempengaruhi pasokan oksigen dan kadar albumin yang diperlukan untuk penyembuhan luka.

6. Perawatan luka

Lingkungan luka yang higienis adalah prasyarat untuk penyembuhan luka yang baik. Terdapat lebih dari 250 jenis pembalut luka yang digunakan untuk melindungi luka, membiarkannya tetap lembab dan menyerap eksudat yang berlebihan untuk membantu proses penyembuhan.

7. Usia

Pasien usia lanjut memiliki lapisan epidermis yang lebih tipis dan memiliki respon inflamasi, migrasi dan proliferasi yang lebih lambat. Mereka juga lebih cenderung memiliki penyakit kronis, sehingga penyembuhan luka menjadi lebih lambat dan berisiko komplikasi lebih tinggi.

8. Genetik

Bekas luka keloid terjadi ketika ada pertumbuhan berlebih jaringan parut yang melampaui tepi luka dengan gejala terasa sakit, gatal dan memiliki tingkat kekambuhan tinggi. Terdapat komponen genetik yang kuat pada perkembangan keloid yang secara signifikan sering terjadi pada ras kulit hitam, Hispanik atau Asia.

9. Teknik pembedahan

Teknik bedah berperan dalam mengoptimalkan penyembuhan luka. Perlakuan terhadap jaringan, teknik aseptik yang benar, mengurangi tekanan di seluruh luka dan pemilihan teknik penjahitan luka akan berkontribusi untuk meminimalkan komplikasi luka.

1.2.7 Parameter penyembuhan luka

1.2.7.1 Laju penyembuhan luka

Tujuan akhir dari tatalaksana luka adalah penutupan luka yang permanen dan sempurna. Pada praktik klinis, cara terbaik untuk menilai progresi penyembuhan luka dilihat dari perubahan area permukaan luka. Perubahan ukuran dari luka merupakan parameter klinis yang paling sering digunakan untuk menilai proses penyembuhan luka. (Falanga, 2005) Beberapa cara yang dapat dilakukan untuk mengukur area permukaan luka yaitu menggunakan penggaris atau algoritma analisis gambar. Selain itu, terdapat metode *intravital imaging* dimana metode ini menilai sel secara aktual dan langsung menggunakan protein histon H2B dengan *green fluorescent protein* (GFP).

1.2.7.2 Analisis luka menggunakan gambar atau foto

Fotografi merupakan alat yang banyak digunakan di dunia kedokteran, khususnya bidang dermatologi. Gambar atau foto dapat memberikan informasi penting mengenai perubahan morfologi, variasi warna, dan sebagainya selama proses penyembuhan luka. Pada saat mengambil foto secara digital penting untuk menggunakan kamera dengan resolusi tinggi dan angka pixel yang digunakan harus mampu untuk memproduksi

1.2.7.3 Analisis histopatologi

Pemeriksaan histopatologi luka berguna untuk pemantauan progresi penyembuhan luka sebagai respon terhadap terapi. Secara klinis, lokasi terbaik untuk melakukan analisis ini adalah pada tepi luka karena pada daerah tersebut dapat dilakukan perbandingan antara area luka dan kulit sehat di sekitarnya.

Beberapa komponen histopatologi yang dinilai pada luka yaitu sel darah putih (makrofag, sel mast, limfosit, dan neutrofil), pembuluh darah, fibroblas, dan kolagen. Komponen sel darah putih ini digunakan untuk mengevaluasi fase inflamasi. Proses angiogenesis dievaluasi dengan melakukan penilaian terhadap pembuluh darah. Penilaian terhadap serat kolagen penting dikarenakan orientasi dan pengaturan kolagen berperan penting saat fase remodeling dan apabila terjadi gangguan dapat menyebabkan terbentuknya jaringan parut disaat luka sudah menutup. (Masson-Meyers et al., 2020)

1.2.7.4 Metode imunologis

Selama proses penyembuhan luka, terjadi komunikasi antara sel dengan sel dan sel dengan matriks ekstraseluler. Mekanisme komunikasi antar sel dibantu oleh sitokin dan faktor pertumbuhan, dimana

keduanya menginduksi terjadinya perbaikan endogen melalui sinyal ke sel tersebut untuk memperbaiki kerusakan jaringan. Molekul pensinyalan ini dapat diidentifikasi melalui beberapa teknik, seperti imunohistokimia dan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA).

ELISA merupakan metode laboratorium yang paling sering digunakan untuk mengukur konsentrasi dari sebuah *analyte* (biasanya antibodi atau antigen). Metode ini dapat digunakan untuk melihat komponen yang berperan penting pada proses penyembuhan luka, seperti sitokin dan faktor pertumbuhan yang berasal dari jaringan atau kultur sel. Beberapa komponen yang paling sering dinilai pada proses penyembuhan luka seperti sitokin pro inflamasi TNF- α , IL-6, IL-1 β , IFN- γ , sitokin anti inflamasi IL-10, EGF, PDGF, TGF- β 1, VEGF, dan FGF. Kadar dari TNF- α , IL-1 dan IL-6 ditemukan lebih tinggi pada luka yang tidak sembuh dibandingkan pada luka yang telah sembuh. Sebuah studi menemukan kadar IL-1 9,200 U/mL (1,300 – 48,000 U/mL) pada luka yang tidak sembuh dan 2,700 U/mL (400 – 14,000 U/mL) pada luka yang sembuh. (Diegelmann, R. F. et al., 2005) Hal ini juga serupa ditemukan pada kadar TNF- α dan IL-6, dimana kedua sitokin ini didapatkan kadar yang lebih tinggi pada luka yang tidak sembuh. (Diegelmann, R. F. et al., 2005)

1.2.2 Gelatin

1.2.2.1 Definisi Gelatin

Gelatin merupakan salah biomaterial yang sering digunakan dalam sediaan farmasi (Gaspar-Pintiliescu et al., 2019b), (T. Li et al., 2022b). Gelatin merupakan polimer alami yang merupakan derivat dari kolagen tidak terlarut yang diproses melalui hidrolisis. (Neves & Reis, 2016) Gelatin terdiri dari prolin, glisin, dan hidroksiprolin 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 mengandung asam amino glisin yang membuatnya dapat melekat pada jaringan tubuh manusia. Jaringan tubuh juga dapat memetabolisme gelatin serta penggunaannya tidak merangsang reaksi inflamasi sehingga banyak digunakan dalam berbagai sediaan farmasi.

Gelatin terdiri atas prolin, glycin, hidroksiprolin, serta asam amin-asam amino lain yang serupa dengan kolagen. Hal tersebut membuat struktur dari gelatin serupa dengan matriks ekstraseluler. Struktur dari gelatin sendiri bergantung dari proses ekstrasinya. Berdasarkan dari proses ekstrasinya, gelatin dapat dikategorikan menjadi tipe A dan tipe B. Tipe A merupakan gelatin yang melalui ekstraksi melalui asam, sedangkan gelatin tipe B diperoleh dari proses alkalin. Dalam proses ekstraksi tersebut, titik isoelektrik yang didapatkan menentukan ikatan gelatin terhadap agen-agen terapeutik. (Andriani, 2018; Kardikadewi, 2019; Mubarakah, 2019) 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 perancah (scaffold) 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 terjadinya kolonisasi bakteri pada lokasi luka. Gelatin, seperti kolagen alami tidak memiliki sifat sebagai antibakterial. Maka dari itu, inkorporasi efek antibakterial ke dalam biomaterial diperlukan untuk meningkatkan keefektifitasannya. Efek antibakterial dari gelatin dapat diperoleh melalui integrasi gelatin dengan ekstrak ginkgo biloba. Gelatin dapat berpenetrasi ke sel membran dan menjadi molekul aktif yang berfungsi sebagai agen hemostatik untuk menginisiasi penyembuhan luka. Gelatin juga dapat mengabsorpsi eksudat yang terdapat pada area luka dan membuat lingkungan yang mendukung dimulainya fase-fase penyembuhan luka. 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. (Kang & Park, 2021; Tanaka et al., 2005).

Pada sebuah penelitian menunjukkan bahwa gelatin dapat mempengaruhi ekspresi sitokin pro inflamasi IL-6. Penelitian yang dilakukan oleh Zeng et al menemukan adanya peningkatan ekspresi dari VEGF, HGF, bFGF, dan PDGF pada sel punca yang diberikan gelatin *microgel* (Zeng et al., 2015). 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 (Hanifatunnisa, 2020). Choi dkk. menyelidiki efek penyembuhan luka dari gelatin alginat sebagai bahan pembalut luka dengan kemampuan penyembuhannya. 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. (Andriani, 2018) Selain itu, gelatin juga dapat menunjukkan efek antimikrobia 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.

1.2.2.2 Terapi Gelatin Spray

Pembalut modern dirancang tidak hanya untuk melindungi daerah yang terluka dari infeksi eksternal tetapi juga untuk menjaga agar luka tetap terhidrasi dan mempercepat penyembuhan. Namun, sebagian besar balutan luka canggih yang dikomersialkan terutama didasarkan pada polimer sintetik (Dhivya et al., 2015). Beberapa contoh terkenal dari balutan modern termasuk balutan film semipermeabel, balutan busa semipermeabel, balutan hidrogel, balutan hidrokoloid, dan balutan alginat. Jenis lain dari metode perawatan luka adalah balutan obat pengganti kulit yang direkayasa jaringan (Liesenfeld B et al., 2009), dan balutan komposit. Pembalut ini semakin diminati di bidang medis karena biodegradabilitasnya, biokompatibilitasnya, dan tidak toksik terhadap lingkungan. Namun, ada beberapa batasan yang terkait dengan balutan modern tersebut. Misalnya, balutan komposit mahal dan kurang fleksibel; film semipermeabel dan balutan busa membutuhkan balutan yang sering dan tidak cocok untuk luka dengan eksudat rendah, dan balutan alginat membutuhkan balutan sekunder lainnya (Selvaraj et al. 2015). Untuk alasan ini, ahli biokimia, ahli biologi, dan insinyur jaringan masih berjuang untuk produksi massal pengganti kulit yang direkayasa jaringan (Catalano et al., 2013).

Hidrogel lunak menawarkan sifat luar biasa yang mengatasi sebagian besar tantangan yang terkait dengan pembalut luka, seperti mengisi luka yang tidak teratur dan pelepasan senyawa bioaktif yang terkontrol. Namun, hidrogel ini membatasi pertukaran gas di lokasi luka (T. Li et al., 2022a). Selain itu, ada juga kekhawatiran tentang keramahan pengguna dan portabilitas. Masalah ini dapat diatasi dengan mengembangkan semprotan pembentuk gel cepat, yang cocok untuk dioleskan langsung ke luka tanpa

kontak dengan penyeka kapas atau tangan, sehingga mengurangi kemungkinan kontaminasi atau infeksi. Dalam kebanyakan kasus, semprotan ini membentuk lapisan tipis dan bioabsorbing, sehingga tidak ada kemungkinan mengalami trauma sekunder saat menerapkan balutan atau balutan ulang (Y. Li et al., 2021; Retnowati et al., 2021) mengembangkan semprotan nano kurkumin/kitosan yang dimodifikasi EGF dan menerapkannya pada luka dengan ketebalan penuh yang dibuat pada model tikus. Tikus yang diobati dengan formulasi nano-spray menunjukkan karakteristik penyembuhan yang sangat baik dan memiliki tingkat penutupan luka rata-rata ~ 98% dalam 12 hari (Y. Li et al., 2021).

Dalam penelitian lain, (Chen et al., 2020) merancang obat antifibrotik (pirfenidone) yang mengandung asam hialuronat yang dikombinasikan dengan pembalut semprot berbasis kristal cair lyotropik yang membentuk gel rakitan sendiri yang terdiri dari struktur nano kisi. Gel semprot yang disiapkan menunjukkan efek profilaksis bekas luka yang sangat baik dan menunjukkan prognosis penyembuhan luka yang ideal (Chen et al., 2020). (Wayal et al., 2021) menyiapkan semprotan pembentuk film berbahan dasar sutra yang dapat membentuk gel dalam waktu 5 menit di lingkungan terbuka (Wayal et al. 2021).

Semua formulasi semprot yang disebutkan di atas sangat menjanjikan untuk aplikasi penyembuhan luka karena aktivitas proliferasi sel yang ditingkatkan dan menambah kenyamanan. Namun, perbaikan masih diperlukan, terutama pada waktu pembentukan gel untuk memastikan peningkatan perlindungan terhadap infeksi dan kehilangan darah. Larutan semprot harus memiliki viskositas yang lebih tinggi untuk pembentukan gel yang lebih cepat, dan dengan demikian dapat memberikan perawatan luka yang lebih baik (Khan et al., 2010).

Untuk mengatasi masalah tersebut, gel bioadhesif berbasis gelatin mendapatkan prioritas karena biaya produksinya yang lebih rendah, tingkat penyembuhan yang lebih cepat, dan aplikasi yang mudah terlepas dari lokasi luka (Jaipan et al., 2017). Kolagen dan turunannya yang terhidrolisis, gelatin, adalah blok bangunan yang paling tepat untuk menyiapkan pembalut luka karena bersifat biomimetik pada kulit manusia (Gaspar-Pintilieșcu et al., 2019). Selain itu, (1) gelatin lebih mudah larut dibandingkan protein ECM lainnya; sebagai hasilnya, lebih mudah digunakan untuk aplikasi biomedis, (2) memiliki ketersediaan yang lebih tinggi dan lebih murah tetapi memiliki struktur kimia yang mirip dengan kolagen, (3) mengandung bagian pengikat untuk dilampirkan dengan sel, (4) tidak menginduksi toksisitas atau antigenisitas dalam sel, dan (5) gelatin yang dimetabolisme dapat digunakan sebagai prekursor untuk biosintesis protein sehingga dapat menginduksi proses penyembuhan (Bello et al., 2020).

Ikatan silang merupakan fenomena yang sangat baik yang dapat meningkatkan viskositas dengan meningkatkan berat molekul gelatin yang berikatan silang dan mengarah pada peningkatan sifat mekanik (Zaman et al., 2011). Dalam beberapa tahun terakhir, polietilen glikol (PEG) telah mendapatkan pengakuan yang signifikan sebagai eksipien polimer yang dapat digunakan dalam larutan gelatin untuk sifat tambahan seperti gelas yang lebih baik dan peningkatan aktivitas antimikroba (Adamic et al., 1991; J. M. Lee et al., 2020).

Namun demikian, bioadhesive berbasis gelatin yang murah, serta bahan pembalut pertolongan pertama seperti semprotan, belum pernah dilaporkan. Penelitian yang dilakukan oleh Mohammed, dkk merupakan pengembangan solusi pembentuk gel bioadhesif PEG berbasis gelatin yang dapat dengan mudah diterapkan pada luka ringan hingga sedang terlepas dari posisi cedera. Solusinya disiapkan menggunakan bahan baku yang tersedia, diproduksi secara lokal, dan lebih murah. Prosedur pengoperasiannya juga sangat sederhana, cocok untuk produksi skala besar, dan jauh lebih murah. Selain itu, ditemukan biokompatibel, tidak beracun, dan ramah lingkungan, yang menawarkan pengurangan rasa sakit, perlindungan dari infeksi bakteri, dan sifat penyembuhan luka yang cepat.

1.2.2.3 Gelatin Pada Luka

Gelatin dapat berpenetrasi ke sel membran dan menjadi molekul aktif yang berfungsi sebagai agen hemostatik untuk menginisiasi penyembuhan luka. Gelatin juga dapat mengabsorpsi eksudat yang terdapat pada area luka dan membuat lingkungan yang mendukung dimulainya fase-fase penyembuhan luka.^{9,27} Pada fase proliferasi, gelatin merangsang dapat 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.⁹

Berbagai studi menunjukkan bahwa gelatin telah menunjukkan peran gelatin pada proses penyembuhan luka.^{10,28–30} Gelatin diketahui dapat membantu proses pembentukan jaringan granulasi, meningkatkan reepitelisasi, serta angiogenesis. Selain itu, gelatin juga dapat menunjukkan efek antimikrobia jika digabung dengan PEG dan DEE. Atas dasar tersebut, gelatin dapat digunakan sebagai *modern dressing* pada perawatan luka.

1.2.3 Calcium Alginate

Sodium alginat merupakan bahan alami polisakarida yang berasal dari ganggang. Komposit sodium alginat terdiri dari β -D-mannuronate (M) dan α -L-guluronate (G) (Liakos et al., 2014). polimer asam alginat membuat dressing kalsium alginat ideal untuk pembentuk jaringan. Dressing ini juga memiliki mekanisme pembekuan yang seimbang karena kehadiran ion kalsium selama tahap pertama dari penyembuhan luka (Borda et al., 2016).

Dengan demikian, alginat berbasis hidrogel yang mengandung nanosilver dapat menyerap cairan pada luka dan memiliki aktivitas antimikroba yang kuat terhadap mikroorganisme (Sarheed et al., 2016). Selain itu, Alginat juga digunakan untuk luka yang dalam (Dissemond et al., 2014). Oleh sebab itu, alginat mampu membuktikan pembentukan jaringan atau granulasi dan re-epitelisasi lebih cepat (Martin et al., 2013). alginat dengan komposisi pektin yang mengandung gentamicine sulfat mampu merangsang cytokine, diproduksi oleh monosit manusia yang sangat berguna untuk mempercepat penyembuhan luka dalam (De Cicco, Reverchon, et al., 2014; De Cicco, Porta, Sansone, Aquino, & Del Gaudio, 2014). Tetapi tidak direkomendasikan untuk luka kering (Borda et al., 2016)

Alginat sampai saat ini belum dimanfaatkan untuk tekstil medis, terutama sebagai produk alternatif pembalut luka primer. Dari penelitian terdahulu diperoleh membran alginat berdaya serap tinggi, bersifat anti bakteri dan dapat mempercepat penyembuhan luka, namun bukan antibiotik. Penelitian ini adalah penelitian lanjutan yang bertujuan untuk membuat membran alginat yang mengandung obat (Basitrasin dan Neomisin), agar dihasilkan membran dengan kualitas lebih baik, karena dapat menyembuhkan luka yang terinfeksi (Theresia Mutia Dkk)

1.2.2.4 Vascular endothelial growth factor (VEGF)

1.2.2.4.1 Definisi Vascular endothelial growth factor (VEGF)

Faktor pertumbuhan endotel vascular atau *Vascular endothelial growth factor* yang biasa disingkat (VEGF) adalah glikoprotein homodimerik yang memiliki hampir 20% homologi asam amino dengan faktor pertumbuhan turunan trombosit (PDGF). Ia berfungsi sebagai mitogen sel endotel, agen kemotaktik, dan penginduksi permeabilitas pembuluh darah. Faktor pertumbuhan angiogenik lainnya seperti faktor pertumbuhan fibroblas dasar (bFGF) dan faktor pertumbuhan transformasi β (TGF- β) telah dijelaskan, namun VEGF unik karena pengaruhnya terhadap berbagai komponen kaskade penyembuhan luka, termasuk angiogenesis dan baru-baru ini menunjukkan epitelisasi dan pengendapan kolagen.

Faktor pertumbuhan yang dimurnikan dan sel manusia yang dikultur keduanya telah disetujui oleh Food and Drug Administration untuk mempercepat penutupan luka yang tidak dapat disembuhkan. Hal ini telah mengubah bidang penyembuhan luka dengan membangun kemanjuran faktor pertumbuhan topikal dan terapi sel. Karena angiogenesis memegang peranan penting dalam penyembuhan luka, di masa depan, VEGF (terapi tunggal atau kombinasi) dapat digunakan pada pasien dengan luka yang tidak dapat disembuhkan. Tinjauan ini peran angiogenesis oleh VEGF dalam penyembuhan luka.

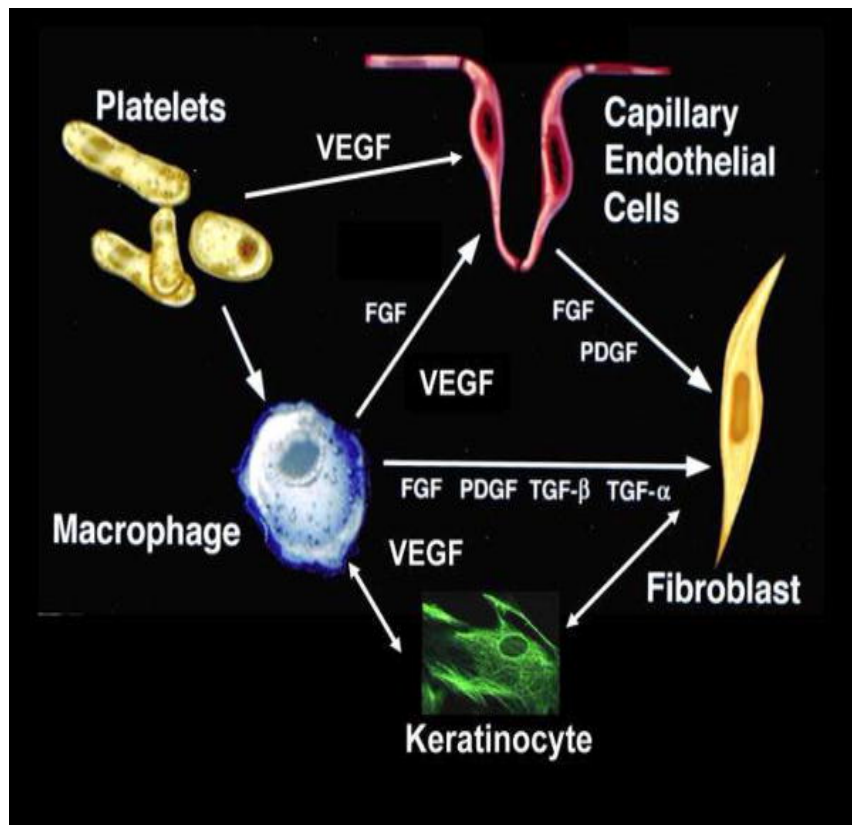
1.2.2.4.2 Peran Vascular endothelial growth factor (VEGF) dalam Penyembuhan Luka

Ciri penting dari perbaikan luka normalnya adalah pembentukan jaringan granulasi, yaitu jaringan fibrovaskular yang mengandung fibroblas, kolagen, dan pembuluh darah, yang merupakan ciri khas dari respons penyembuhan yang sudah ada. Komponen vaskular bergantung pada angiogenesis, dimana pembuluh darah baru muncul pada hari ke 3 setelah luka⁸⁷. Pertumbuhan kapiler pada luka selanjutnya menyediakan saluran nutrisi dan mediator lain dari respon penyembuhan serta pembuangan metabolit. Penghambatan angiogenesis mengganggu penyembuhan luka. Berikut peran *Vascular endothelial growth factor* (VEGF) dalam proses penyembuhan luka :

1. Sel awal pada penyembuhan luka akan mensintesis dan melepaskan VEGF

Berbagai respons seluler terhadap luka melibatkan pelepasan VEGF. Trombosit adalah komponen vaskular pertama yang muncul di lokasi luka, diikuti oleh neutrofil, dan kemudian. Trombosit yang teraktivasi melepaskan VEGF, terutama setelah stimulasi trombin.

Monosit memainkan peran langsung dan tidak langsung dalam efek angiogenik selama penyembuhan luka. Monosit mengekspresikan reseptor VEGF Flt-1 dan merespons secara kemotaktik terhadap VEGF. Setelah direkrut ke dalam jaringan, makrofag menginduksi angiogenesis, sebagian dengan melepaskan $\text{TNF-}\alpha$, yang pada gilirannya dapat menginduksi ekspresi VEGF pada keratinosit dan fibroblas. Sel yang terlibat dalam penyembuhan melepaskan sitokin dan faktor pertumbuhan yang dapat bertindak sebagai faktor parakrin untuk ekspresi VEGF lebih lanjut. Faktor-faktor yang menginduksi transkripsi dan sekresi VEGF meliputi: $\text{TGF-}\beta 1$, EGF, $\text{TGF-}\alpha$, dan KGF (dari keratinosit dan sel otot polos arteri dan bFGF, PDGF-BB, dan $\text{IL-1}\beta$ (dari sel otot polos aorta)).



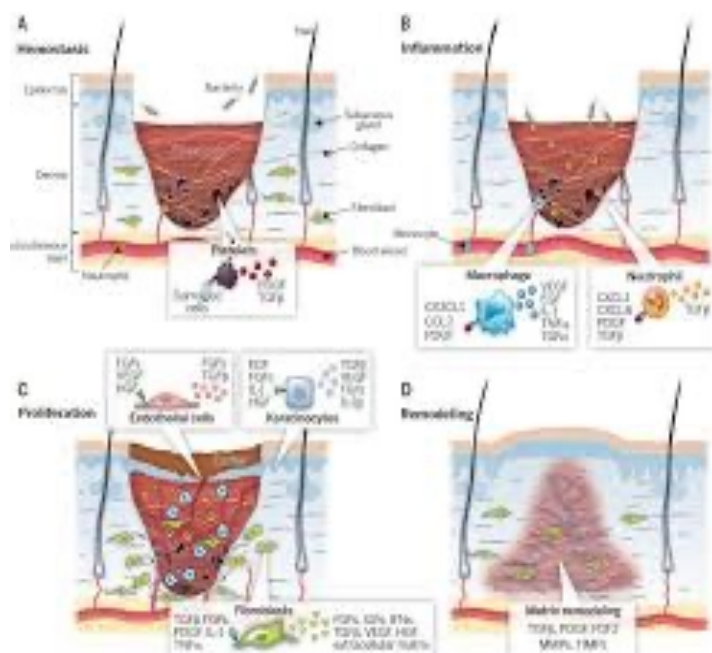
Gambar1. 2 VEGF dan Dasar Penyembuhan Seluler Luka

Perhatikan berbagai peran sel endogen dalam memproduksi VEGF di lingkungan luka lokal. Trombosit tiba pertama kali pada Hari "0" luka, diikuti oleh puncak makrofag pada Hari ke-2. Sel endotel mulai bermigrasi pada Hari ke-2 dan endotel kapiler baru dapat terlihat antara Hari ke-3–4. Pada Hari ke 5, kolagen baru diproduksi dari fibroblas. Sel awal yang melepaskan VEGF adalah trombosit yang masuk ke luka setelah debridemen. Selain itu, makrofag melepaskan VEGF yang merangsang sel endotel untuk berkembang biak dan bermigrasi. VEGF telah terbukti merangsang migrasi keratinosit dan produksi kolagen melalui fibroblas. Sekresi VEGF juga menginduksi pelepasan faktor pertumbuhan lain yang selanjutnya merangsang penyembuhan.

2. Hipoksia menginduksi VEGF

Gangguan metabolik pada lingkungan luka meningkatkan regulasi VEGF. Iskemia dan hipoksia merupakan karakteristik kerusakan jaringan, dimana tekanan oksigen pada luka adalah 6-7 mmHg setelah 5 hari, dibandingkan dengan tingkat jaringan normal sebesar 30-40 mmHg. Angiogenesis memulihkan perfusi jaringan, memulihkan mikrosirkulasi, dan meningkatkan tekanan oksigen hingga 30-40 mmHg. Dengan demikian, hipoksia meningkatkan ekspresi VEGF pada monosit serta berbagai jenis sel lainnya, termasuk fibroblas, keratinosit, miosit, dan sel endotel. Adenosin telah terbukti memediasi respons hipoksia ini dan jalur transduksi selanjutnya meningkatkan transkripsi mRNA VEGF dan waktu paruh. Demikian pula, hipoksia merangsang ekspresi reseptor Flt-1 pada sel endotel yang dikultur. Kultur hipoksia secara akut menurunkan regulasi ekspresi KDR, menjadikannya tidak terdeteksi setelah 24 jam. Namun paparan hipoksia jangka panjang selama 72 jam menghasilkan penerimaan KDR.

Hipoksia meningkatkan regulasi ekspresi VEGF jaringan dan reseptornya, yang pada gilirannya meningkatkan respons angiogenik. Hipoksia, melalui faktor penginduksi hipoksia (HIF)-1 α , menginduksi ekspresi VEGF. Gradien ekspresi VEGF terbentuk sejajar dengan gradien hipoksia, dan sel-sel endotel kemudian bermigrasi menuju area yang paling hipoksia. Makrofag membantu mempertahankan gradien, karena mereka dapat bertahan hidup di daerah dengan tekanan oksigen rendah. Memang benar, gradien jaringan hipoksia wajib dilakukan untuk angiogenesis terkait penyembuhan luka, dan penghilangan gradien tersebut akan menghambat pertumbuhan kapiler.



Gambar1. 3 Peran VEGF dalam penyembuhan

1.2.2.5 Interleukin 6

Interleukin-6 (IL-6) termasuk dalam salah satu kelompok sitokin pro- inflamasi sehingga sitokin ini berpeluang untuk dijadikan indikator menilai tingkat inflamasi yang dialami oleh sel endotel pembuluh darah (Yuniarti, 2014). IL-6 beredar dalam bentuk multiple glycosylated dengan ukuran bervariasi antara 22-27 kDa (Siagian, 2018).

Interleukin 6 adalah salah satu mediator yang paling awal dan penting dalam induksi dan mengontrol sintesa protein fase akut pada trauma, infeksi, pembedahan, dan luka bakar. Setelah terjadi cedera, konsentrasi plasma IL-6 bisa dideteksi dalam 60 menit dengan konsentrasi puncak antara 4 sampai 6 jam, dan dapat bertahan sampai 10 hari. IL-6 dipertimbangkan sebagai marker yang sangat relevan dari derajat kerusakan jaringan dalam prosedur pembedahan yang berhubungan dengan morbiditas pasca operasi (Oliveira et al, 2011).

IL-6 merupakan sitokin yang memiliki banyak fungsi, sebagai sitokin proinflamasi dan memiliki sifat regulasi yang lain. IL-6 berefek pada sel target dengan mengikat reseptor membran yang spesifik IL-6 (IL-6R), yang mengaktifkan *glikoprotein transduser 130* (gp130), subunit kedua dari kompleks IL-6R. Neuron yang tidak terikat membran IL-6R, masih dapat bereaksi terhadap IL-6 ketika IL-6 terikat dalam bentuk IL-6R yang terlarut. IL-6/ kompleks IL-6R terlarut mengaktifkan gp130, yang diekspresikan pada sebagian besar sel-sel, termasuk neuron. Sementara peran fungsional ekspresi gp130 pada neuron belum diketahui secara pasti, protein ini dikaitkan dengan sensitisasi saraf nyeri melalui aktivasi *phosphoinositide 3 kinase*, *protein kinase C-delta* dan *Janus kinase*/sinyal transduser dan jalur signaling aktivator transkripsi 3 dan melalui regulasi.

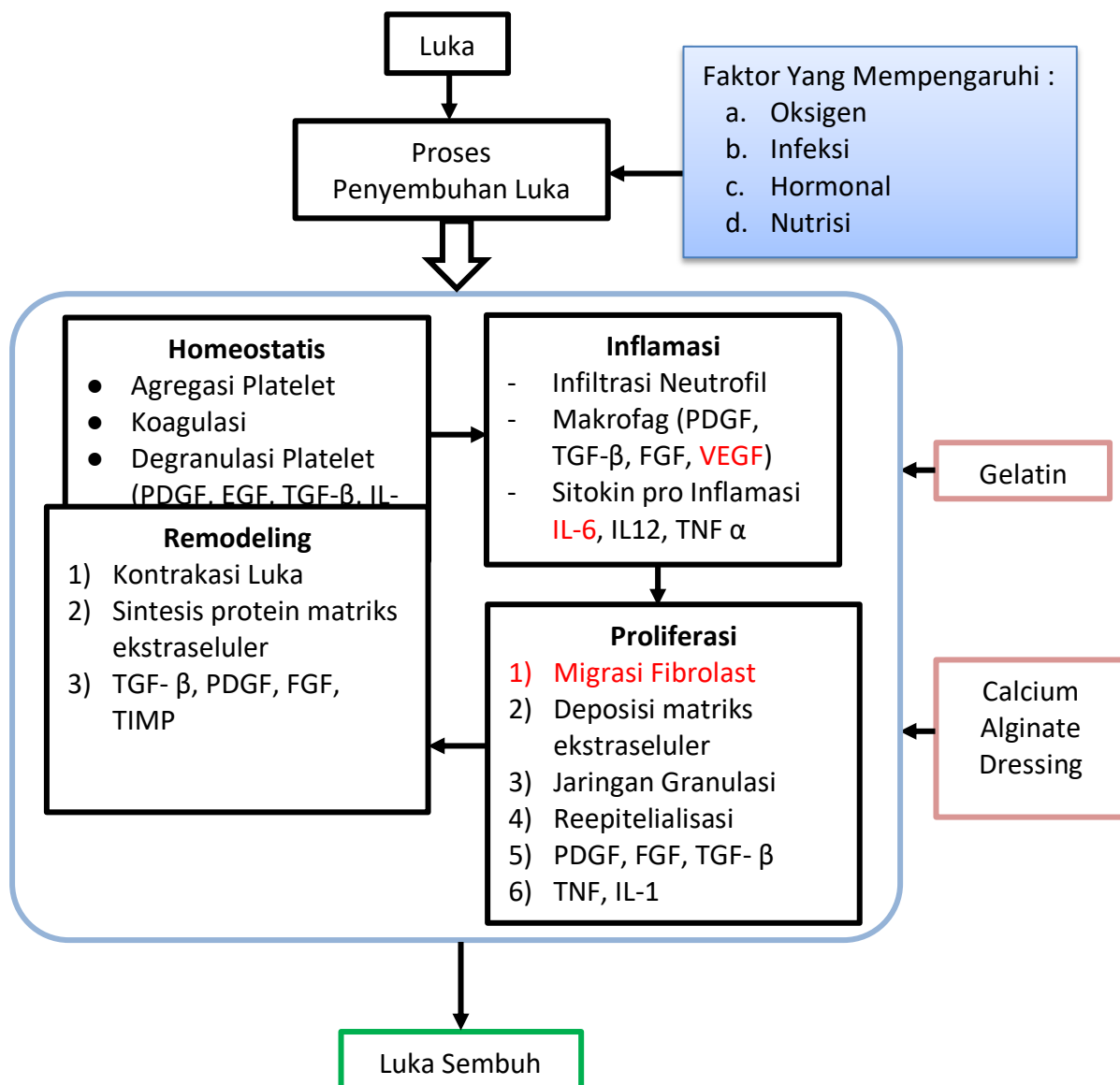
Proses inflamasi setelah insisi pembedahan di jaringan perifer diawali dengan adanya pelepasan mediator inflamasi oleh sel residen, meliputi salah satunya sel mast. Beberapa mediator inflamasi yang dilepaskan oleh sel mast, telah diketahui menghasilkan *nosisepsi* selama periode pasca operasi (Yasuda et al, 2013). Sel mast yang teraktifasi dapat mengeluarkan histamin, berbagai macam mediator inflamasi seperti beberapa *eicosanoid*, *proteoglycan*, *protease*, serta beberapa kemokin dan sitokin proinflamasi seperti tumor *necrosis factor*-(TNF-interleukin IL-6, IL-4, IL-13, dan *transforming growth factor*-. TNF-dan IL-10 dari sel mast meningkatkan migrasi leukosit dan memperberat lesi inflamasi. Walaupun memiliki fungsi yang bermanfaat dalam hal pertahanan diri, sitokin proinflamasi bisa memacu terjadinya kondisi patologis ketika diproduksi secara berlebihan (Kim et al, 2006).

Telah lama diketahui bahwa aktivasi ekspresi gen IL-6 dapat dipengaruhi melalui jalur faktor transkripsi NF- κ B. Beberapa produk gen proinflamasi diidentifikasi memiliki peran penting pada penekanan apoptosis, proliferasi, angiogenesis, invasi, dan metastasis diantaranya produk gen tersebut adalah: TNF- α , IL-6, IL-17, IL-18, MMP-9, VEGF, COX-2 dan 5-LOX. Ekspresi gen ini diatur oleh faktor transkripsi NF- κ B, aktif pada kebanyakan kanker (Lin and Karin, 2007).

IL-6 telah lama dianggap sebagai sitokin proinflamasi yang diinduksi oleh LPS bersama dengan TNF- α dan IL-1. IL-6 sering digunakan sebagai penanda untuk aktivasi sistemik dari sitokin proinflamasi. Seperti banyak sitokin lainnya, IL-6 memiliki kedua sifat, baik proinflamasi, maupun anti inflamasi. Meskipun IL-6 adalah penginduksi kuat dari respon protein fase akut, ia juga memiliki sifat anti inflamasi. Bukti terbaru yang dihasilkan dari tikus yang dihilangkan IL-6 telah menunjukkan bahwa IL-6, seperti anggota lain dari famili ligan reseptor gp 130, terutama bertindak sebagai suatu sitokin anti inflamasi. Setelah terikat ke reseptor α spesifik, kompleks IL-6 dengan sinyal ubiquitin unit transduksi sinyal gp130. IL-6 termasuk dalam famili dari ligan reseptor gp130 yang meliputi IL-11, faktor inhibisi leukemia, ciliary neurotrophic factor, oncostatin M, dan cardiotrophin-1. Karena molekul-molekul peptida menggunakan reseptor seluler umum, mereka berbagi banyak gambaran fisiologis yang diakibatkan oleh IL-6. IL-6 menurunkan sintesis IL-1 dan TNF- α , IL-6 melemahkan sintesis dari sitokin proinflamasi ketika memiliki sedikit efek pada sintesis dari sitokin anti inflamasi seperti IL-10 dan Transforming Growth Factor- β (TGF- β). IL-6 menginduksi sintesis dari glukokortikoid dan meningkatkan sintesis IL-1ra dan mengeluarkan reseptor TNF larut pada sukarelawan manusia. Pada saat yang sama, IL-6 menghambat produksi dari sitokin proinflamasi seperti GM-CSF, IFN- γ , dan MIP-2. Hasil dari efek imunologi ini menempatkan IL-6 diantara kelompok sitokin anti inflamasi (Albinsaid, 2013).

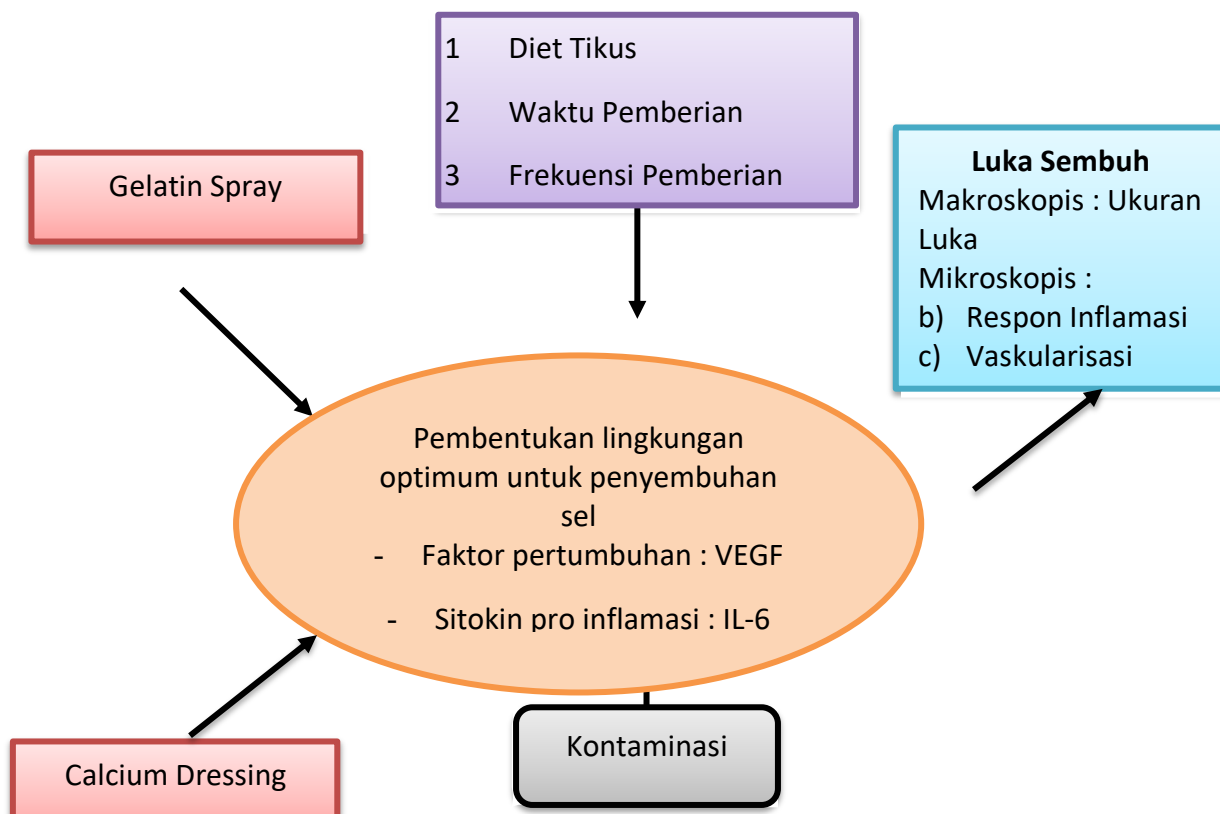
Menurut Siagian (2018), nilai normal kadar interleukin-6 dalam serum adalah < 4 pg/ml. Jika kadar interleukin-6 dalam serum adalah ≥ 4 pg/ml dapat dikatakan meningkat. Hal ini menandakan bahwa telah terjadi suatu proses inflamasi. Peningkatan IL-6 juga memiliki efek yang merugikan seperti meningkatkan suhu tubuh dan dalam peningkatan IL-6 menyebabkan kerusakan jaringan yang ditandai dengan terjadinya proses inflamasi dan peningkatan produksi leukosit (Niu dkk., 2012). Kadar IL-6 dalam serum dapat meningkat seiring dengan bertambahnya usia. Pada usia 65-74 tahun, kadar IL-6 rata-rata adalah 1,4 pg/ml pada laki-laki dan 1,1 pg/ml pada wanita. Pada usia diatas 85 tahun, kadar IL-6 rata-rata pada laki-laki adalah 3,5 pg/ml dan 2,1 pg/ml pada wanita. Peningkatan kadar IL-6 terkait usia diakibatkan stimulasi produksi IL-6 terkait peningkatan jumlah radikal bebas oksigen. Penyebab lainnya adalah adanya gangguan regulasi normal pada ekspresi gen yang mengatur produksi IL-6.

1.3 Kerangka Teori



Gambar1. 4 Kerangka Teori

1.4 Kerangka Konsep



Gambar1. 5 Kerangka Konsep

Keterangan	
	Variabel Bebas
	Variabel Kontrol
	Variabel tergantung
	Variabel Perancu
	Variabel Independen

1.5 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang masalah di atas, maka disusun perumusan masalah yaitu :

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

1.6 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui efektifitas *Gelatin Spray* dan *Calcium Alginate Dressing* terhadap Penyembuhan Luka Pada Tikus Wistar?

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui perubahan diameter luka secara makroskopis pada tikus wistar sebelum dan setelah diterapi dengan *Gelatin spray*.
2. Untuk mengetahui derajat penyembuhan luka berdasarkan gambaran histopatologi pada tikus wistar sebelum dan setelah diterapi dengan *Calcium Alginate Dressing*
3. Untuk mengetahui pengaruh terapi *Gelatin Spray* terhadap peningkatan kadar VEGF dan IL-6 pada luka.
4. Untuk mengetahui pengaruh *Calcium Alginate Dressing* terhadap peningkatan kadar VEGF dan IL-6 pada luka.
5. Untuk mengetahui perbandingan efektivitas terapi *Gelatin spray* dan *Calcium Alginate Dressing* sebagai terapi penyembuhan luka.

1.7 Hipotesis Penelitian

- a. Ada perubahan diameter luka pada proses penyembuhan luka tikus wistar yang diberi *gelatin spray* dan *Calcium Alginate Dressing*
- b. Ada perubahan respon inflamasi pada proses penyembuhan luka tikus wistar yang diberi *gelatin spray* dan *Calcium Alginate Dressing*
- c. Ada perubahan reepitalisasi pada proses penyembuhan luka tikus wistar yang diberi *gelatin spray* dan *Calcium Alginate Dressing*
- d. Ada perubahan vaskularisasi pada proses penyembuhan luka tikus wistar yang diberi *gelatin spray* dan *Calcium Alginate Dressing*
- e. Ada perubahan kadar IL-6 dan vascular endothelial growth (VGEF) pada proses penyembuhan luka tikus wistar yang diberi *gelatin spray* dan *Calcium Alginate Dressing*
- f. Ada perbandingan efektivitas *gelatin spray* dan *Calcium Alginate Dressing* terhadap penyembuhan luka pada tikus wistar

1.8. Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritik

Sebagai bahan acuan terhadap keefektivitasan penggunaan *Gelatin Spray* pada proses penyembuhan luka

2. Manfaat metodologi

Dapat menjadi rujukan dan menambah pengetahuan khususnya tentang keefektifan *Gelatin Spray* sebagai terapi penyembuhan luka dan bagaimana terapi tersebut berpengaruh terhadap penyembuhan jaringan luka.

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. Desain 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. dalam mempercepat proses penyembuhan luka.

2.2. Tempat dan Waktu Penelitian

2.2.1. Tempat Penelitian

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

2.2.2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juni 2024 – Juli 2024 (penelitian dimulai setelah mendapatkan keterangan lolos kaji etik dari Komisi Etik FKUH) dan penelitian ini dilakukan selama 1 bulan.

2.2.3 Sampel Penelitian

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

2.3.1 Cara Pengambilan Sampel

1. Sampel penelitian adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) Galur wistar yang terstandar oleh LIPI (usia 12 minggu, berat badan 200-250 gram, jantan)
2. Sampel penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi selanjutnya ditentukan secara quota usia jumlahnya untuk masing-masing kelompok

2.3.2 Perkiraan Besaran Sampel

Penelitian akan membagi tikus Wistar yang sehat sebagai subjek penelitian yang diisolasi selama 1 minggu kemudian dibagi menjadi 10 kelompok:

1. Kelompok 1, Pada hari ke-0, 3 tikus Wistar dengan luka di punggung tanpa perlakuan dilakukan pemeriksaan diameter luka, histopatologi (Vaskularisasi, reepitelisasi, respon inflamasi), dan kadar IL-6 dan VEGF.
2. Kelompok 2, Pada hari ke- 2, 3 tikus Wistar dengan luka di punggung yang telah disemprot dengan *Gelatin spray* dan ditutup dengan plester luka tembus pandang selama 2 hari dilakukan pemeriksaan diameter luka, histopatologi (Vaskularisasi, reepitelisasi, respon inflamasi), dan kadar IL-6 dan VEGF.
3. Kelompok 3, Pada hari ke- 2, 3 tikus Wistar dengan luka di punggung dibalut dengan kasa yang telah diberikan *Calcium Alginate Dressing* kemudian ditutup dengan plester luka tembus pandang selama 2 hari dilakukan pemeriksaan diameter luka, histopatologi (Vaskularisasi, reepitelisasi, respon inflamasi), dan kadar IL-6 dan VEGF.
4. Kelompok 4, Pada hari ke- 2, 3 tikus Wistar dengan luka di punggung tanpa perlakuan yang telah ditutup dengan plester luka tembus pandang, selama 2 hari dilakukan pemeriksaan diameter luka, histopatologi (Vaskularisasi, reepitelisasi, respon inflamasi), dan kadar IL-6 dan VEGF.
5. Kelompok 5, Pada hari ke- 7, 3 tikus Wistar dengan luka di punggung yang telah disemprot dengan *Gelatin spray* dan ditutup dengan plester luka tembus pandang selama 7 hari dilakukan pemeriksaan diameter luka, histopatologi (Vaskularisasi, reepitelisasi, respon inflamasi), dan kadar IL-6 dan VEGF.
6. Kelompok 6, Pada hari ke- 7, 3 tikus Wistar dengan luka di punggung dibalut dengan kasa yang telah diberikan *Calcium Alginate Dressing* kemudian ditutup dengan plester luka tembus pandang selama 7 hari dilakukan pemeriksaan diameter luka, histopatologi (Vaskularisasi, reepitelisasi, respon inflamasi), dan kadar IL-6 dan VEGF.
7. Kelompok 7, Pada hari ke- 7, 3 tikus Wistar dengan luka di punggung tanpa perlakuan yang telah ditutup dengan plester luka tembus pandang, selama 7 hari dilakukan pemeriksaan diameter luka, histopatologi (Vaskularisasi, reepitelisasi, respon inflamasi), dan kadar IL-6 dan VEGF.
8. Kelompok 8, Pada hari ke- 14, 3 tikus Wistar dengan luka di punggung tanpa perlakuan yang telah ditutup dengan plester luka tembus pandang, selama 14 hari dilakukan pemeriksaan diameter luka, histopatologi (Vaskularisasi, reepitelisasi, respon inflamasi), dan kadar IL-6 dan VEGF.

9. Kelompok 9, Pada hari ke- 14, 3 tikus Wistar dengan luka di punggung yang telah disemprot dengan *Gelatin spray* dan ditutup dengan plester luka tembus pandang selama 7 hari dilakukan pemeriksaan diameter luka, histopatologi (Vaskularisasi, reepitelisasi, respon inflamasi), dan kadar IL-6 dan VEGF.
10. Kelompok 10, Pada hari ke- 14, 3 tikus Wistar dengan luka di punggung dibalut dengan kasa yang telah diberikan *Calcium Alginate Dressing* kemudian ditutup dengan plester luka tembus pandang selama 14 hari dilakukan pemeriksaan diameter luka, histopatologi (Vaskularisasi, reepitelisasi, respon inflamasi), dan kadar IL-6 dan VEGF.

2.3.3 Ukuran Sampel

Penelitian akan membagi tikus dalam 2 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri atas 28 tikus. Kelompok tersebut antara lain:

1. Kelompok ketiga merupakan kelompok yang diberikan *Calcium Alginate Dressing*
2. Kelompok ketiga merupakan kelompok yang diberikan *gelatin-based instant gel-forming volatile spray*

Jumlah sampel pada penelitian ini akan ditentukan menggunakan rumus Federer

Keterangan:

n = Jumlah replikasi

t = jumlah perlakuan

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

$$(n-1)(7-1) \geq 15$$

$$(10-1)(10-1) \geq 15$$

$$9n-9 \geq 15$$

$$9n \geq 15$$

$$n \geq 2,6 = 3$$

Maka dari itu dari rumus diatas, didapati bahwa setiap kelompok membutuhkan 3 sampel tikus. Sehingga total sampel pada penelitian ini adalah sebanyak 30 ekor tikus.

2.3.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

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. Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi dari penelitian ini adalah :

- Tikus yang sakit selama masa penelitian
- Sampel yang mengalami kelainan secara makroskopis

3. Kriteria Drop Out

Tikus yang mati dalam percobaan

2.4 Variabel dan Definisi Operasional

2.4.1 Variabel Penelitian

Variabel bebas, variabel antara, variabel kendali, variabel tergantung, variabel perancu.

1. Variabel bebas : *Gelatin-based instant gel-forming volatile spray*
2. Variabel antara : Pembentukan lingkungan optimum untuk penyembuhan sel
3. Variabel tergantung : Variabel yang nilainya ditentukan oleh variabel lain, yaitu Proses penyembuhan luka, IL-6, dan VEGF

4. Variabel Perancu. : Kontaminasi

2.4.2 Definisi Operasional

- a) *Gelatin Spray* adalah biomaterial senyawa turunan kolagen dalam bentuk sediaan spray yang digunakan sebagai terwapi penyembuhan luka. Spray gelatin ialah solusi gelatin 30% dengan polyethylene glycol (15:3, gelatin/PEG, w/v) dibuat untuk menjadi solusi utama. Kebutuhan solusi tersebut di stabilisasi dengan mencampurkan eter dietil dengan rasio v/v 1:1.
- b) *Calcium Alginate Dressing* merupakan salah satu metode perawatan luka dengan cara tertutup dan lembab yang difokuskan untuk menjaga luka dari dehidrasi dan meningkatkan proses penyembuhan luka. Calcium Alginate yang akan digunakan pada penelitian ini adalah merek Modres yang diproduksi oleh Zhejiang Longterm Medical Teknologi Co, Ltd. Diimpor oleh Pt. Parit Padang Global, Jakarta, Indonesia.
- c) Penyembuhan luka adalah proses alami tubuh dalam memperbaiki kerusakan atau kerusakan jaringan pada tubuh akibat cedera, operasi, atau kondisi medis tertentu. Proses penyembuhan luka terjadi melalui serangkaian tahap yang kompleks, yang melibatkan interaksi antara berbagai jenis sel dan faktor pertumbuhan dalam tubuh. Penyembuhan luka makroskopis menilai diameter area luka menggunakan mistar dan satuan mm berupa angka numerik
- d) Interleukin 6 (IL-6) adalah mitogen dan stimulator fibroproliferasi kuat yang berperan pada fase proliferasi penyembuhan luka dan terlibat dalam pertumbuhan dan diferensiasi berbagai jenis sel. Interleukin-6 (IL-6) merupakan sitokin pro inflamasi yang diproduksi oleh platelet dan makrofag selama proses penyembuhan luka. Sitokin yang diukur berasal dari jaringan luka menggunakan metode ELISA.
- e) Vaskular endotelial growth factor (VEGF) adalah homodimerik glikoprotein yang diproduksi oleh berbagai macam tipe sel dalam proses penyembuhan luka, yaitu sel endotelial, sel fibroblas, sel otot polos, platelet, neutrofil dan makrofag. VEGF yang diukur berasal dari jaringan luka

2.5 Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat
 - a) Punch biopsy ukuran 8 mm
 - b) Blade Holder no.3
 - c) Blade no. 10
 - d) Pinset Antomis
 - 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 Sduit 1 cc
 - n) Mikroskop Olympus DP 12
2. Bahan
 - a) Ketain Ampul
 - b) Xylazine ampul
 - c) Formalin buffer hari 3
 - d) Gelatin Spray
 - e) Calcium Alginate Dressing

2.6 Metode analisis data

Data yang terkumpul diolah melalui analisis statistik. Dilakukan analisis univariat dan bivariate serta hasilnya dinarasikan dan diperjelas oleh tabel. Untuk uji statistik, tingkat kemaknaan (signifikansi) yang digunakan adalah 5%, dimana analisis yang digunakan yaitu:

1. Analisis data secara deskriptif umum, dengan metode analisis univariat untuk perhitungan persentase.
2. Analisis hubungan antara variabel bebas dan tergantung yaitu dengan uji normalitas dengan shapiro-wilk test karena jumlah sampel pada penelitian ini <30 sampel. Dan uji statistik yang digunakan adalah

general linear model

2.7 Prosedur Penelitian

2.7.1 Persiapan

1. Peneliti diberi izin untuk melaksanakan penelitian oleh Bagian Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
2. Rancangan penelitian diajukan ke Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin untuk mendapatkan persetujuan (*ethical clearance*).

2.7.2 Teknik Pelaksanaan

1. Persiapan *Gelatin-based instant gel-forming volatile spray*

- a. Solusio gelatin (30% w/v) disiapkan pada air deionisasi di suhu 60 derajat selsius.
- b. Dilakukan pencampuran dengan PEG dengan rasio 15:3 gelatin/PEG w/v
- c. Solusio tersebut dicampur dan di aduk pada suhu 60 derajat selsius hingga gelatin terlarut secara sempurna.
- d. Dilakukan pencampuran dengan DEE.
- e. Dilakukan pencampuran selama 15 menit dengan *vortex mixer*, VM-2000 pada temepatur 60-65 derajat selsius.
- f. Larutan tersebut didiamkan selama 30 menit untuk memonitor stabilitas.

2. Persiapan sampel tikus

- a. 28 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus* galur Wistar), usia 12 minggu, dengan berat badan 200-250 gram, dikelompokkan menjadi 2 kelompok yang masing-masing terdiri atas 14 ekor perlakuan dengan Calcium Alginate Dressing, 16 ekor ekor perlakuan dengan *Gelatin-based instant gel-forming volatile spray*. Setiap tikus memiliki kandang sendiri, dimana artinya untuk total sampel pada penelitian ini dibutuhkan sebanyak 32 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.
- b. 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.

3. Pelaksanaan Penelitian

- a. Tikus dianestesi dengan injeksi menggunakan ketamin 60 mg/kg dan xylazine sebanyak 10 mg/kg. Pembiusan dilakukan dengan menyuntikan ketamin xylazine secara intraperitoneal.
- b. 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 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 nomor.
- c. Luka pada setiap tikus ditutup dengan kasa tipis yang bersih untuk mencegah terjadinya kontaminasi. Luka tersebut kemudian ditutup dengan kassa.
- d. Gelatin spray dan *Calcium Alginate Dressing* (sesuai kelompok) diaplikasikan di atas luka lalu diratakan menggunakan *cotton bud* bersih dari anterior ke posterior pada kelompok intervensi tikus putih. Pengolesan dilakukan satu kali pada hari ke 1 hingga hari ke 10. *Calcium Alginate Dressing* diaplikasikan pada luka dengan menutupi area luka.
- e. Pada hari ke-0, 3 tikus Wistar yang tidak mendapat perlakuan diberi ketamin xilacin sebagai anestesi kemudian diambil jaringan kulit/biopsi pada punggung sekitar daerah luka. Dilakukan insisi tepi luka dan

bersama dengan lapisan dasar dinding otot dipisahkan dari jaringan sekitarnya. Jaringan difiksasi dalam formalin buffer 10%.

- f. Pada hari ke-2, 9 tikus Wistar masing – masing dari kelompok yang tidak mendapat perlakuan, kelompok *gelatin spray* dan *Calcium Alginate Dressing* diberi ketamin xilacin sebagai anestesi kemudian diambil jaringan kulit/biopsi 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%.
- g. Pada hari ke-7, 3 tikus Wistar masing – masing dari kelompok yang tidak mendapat perlakuan, kelompok *gelatin spray* dan *Calcium alginate Dressing* diberi ketamin xilacin sebagai anestesi kemudian diambil jaringan kulit/biopsi 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%.
- h. Pada hari ke-14, 3 tikus Wistar masing – masing dari kelompok yang tidak mendapat perlakuan, kelompok *gelatin spray* dan *Calcium alginate Dressing* diberi ketamin xilacin sebagai anestesi kemudian diambil jaringan kulit/biopsi 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%.

4. 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.

5. 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 evaluasi standar mikroskop Olympus CV®.

a) Bahan pewarnaan Hematoxylin Eosin (Modifikasi Harri's)

1) Asam alkohol 1%

- 2) *Saturated Lithium Carbonate*
- 3) *Ammonia water*
- 4) Eosin-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*

6. 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 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.

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

7. Pengamatan dan Pencatatan

- a. Dilakukan pengamatan terhadap perkembangan penyembuhan luka bakar pada masing-masing tikus putih pada hari ke 3 dan 10 dengan melihat pengurangan ukuran lukanya
- b. Ukuran luka dihitung dengan cara mengambil foto pada luka dan kemudian diukur luasnya menggunakan *software* foto yaitu *image J*. . Data yang diperoleh akan dilakukan uji statistik.
- c. Perkembangan penyembuhan luka dinilai secara makroskopis, mikroskopis, dan metode ELISA untuk melihat kadar IL-6 dan VEGF.

2.8 Pengolahan dan Analisis Data

2.8.1 Pengolahan Data

Pengelolaan data dilakukan dengan Langkah-langkah sebagai berikut:

1. *Editing* yaitu memeriksa adanya kesalahan atau ketidaklengkapan data
2. *Coding*, yaitu memindahkan data ke dalam kartu kode
3. *Entry* yaitu memasukkan data-data yang ada ke dalam program SPSS versi 22.0
4. *Cleaning*, yaitu memeriksa adanya kesalahan waktu melakukan *coding*.

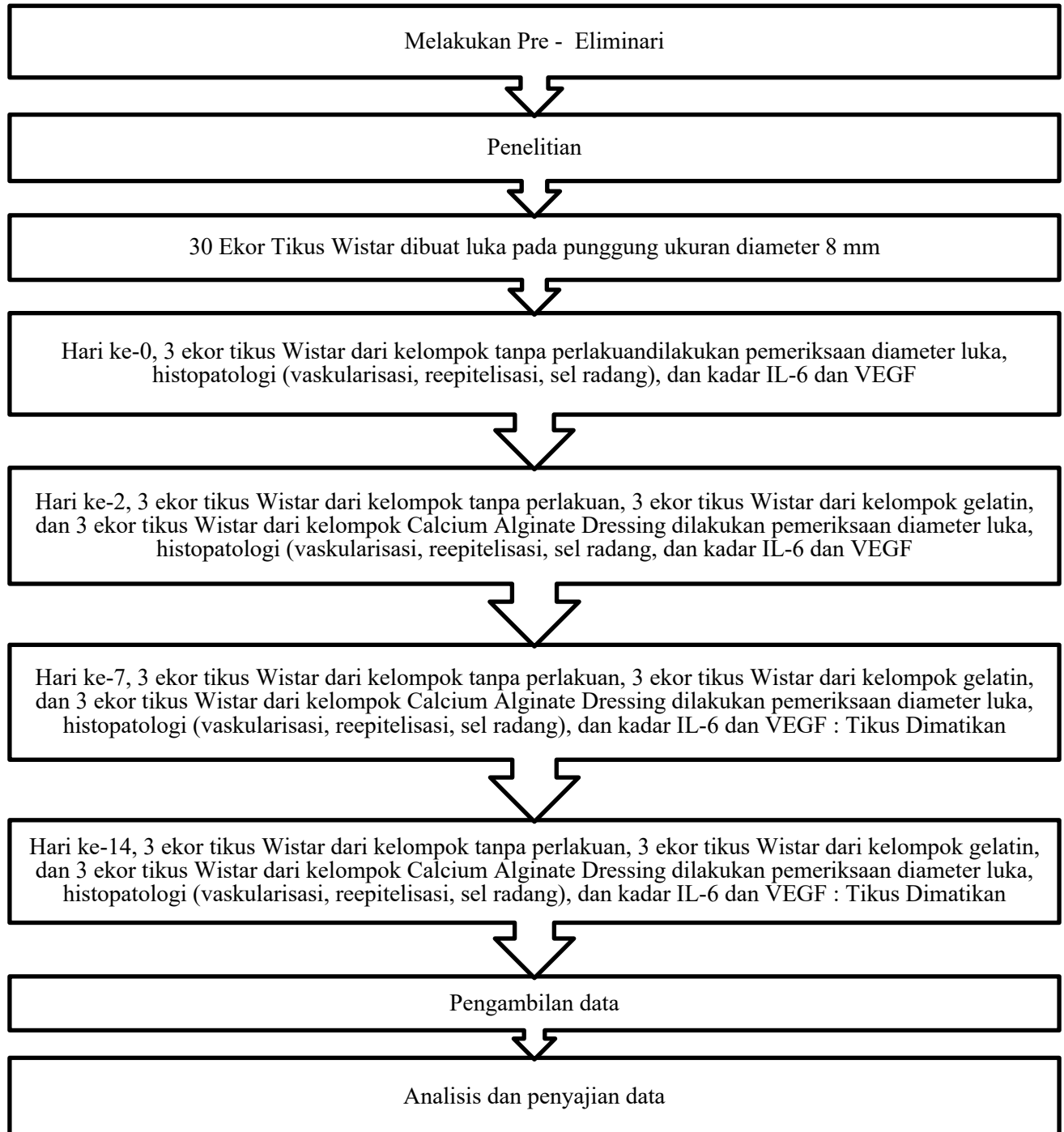
2.8.2 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan Langkah-langkah sebagai berikut:

1. Analisis akan bersifat deskriptif
2. Dilakukan uji normalitas dengan *Saphiro-Wilk test* karena jumlah sampel pada penelitian ini < 50 sampel

3. Uji statistik yang digunakan adalah *General Linear Model*, karena desain penelitian yang merupakan hipotesis komperatif numerik distribusi normal lebih dari dua kelompok tidak berpasangan pengukuran lebih dari satu. Perbedaan bermakna bila nilai $p < 0,0$

2.9 Alur Penelitian



Gambar 2. 1 Alur Penelitian