

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ekstraksi Gigi

2.1.1 Definisi

Salah satu tindakan perawatan gigi adalah ekstraksi gigi. Ekstraksi gigi adalah proses mengeluarkan seluruh bagian gigi dari dalam soket dan menanggulangi komplikasi yang mungkin terjadi (Pedersen, 1996).

2.1.2 Insidensi

Di Indonesia, angka ekstraksi gigi masih tinggi. Hal ini dapat diketahui berdasarkan rasio antara penambalan dan ekstraksi gigi di Indonesia yaitu sebesar 1:6, bahkan di beberapa daerah lebih besar dari angka tersebut (Iis, 2006). Survei kesehatan Rumah Tangga, 2001 menunjukkan bahwa prevalensi kerusakan gigi yang memerlukan ekstraksi gigi pada usia 12-18 tahun sebesar 72,4%-82,5%

Riset Kesehatan Dasar, 2007 menunjukkan motivasi penduduk untuk menumpulkan gigi yang karies sangat rendah yaitu hanya 1,5%. Sebesar 74,8% penduduk mengalami keterlambatan penanganan pada gigi yang karies sehingga harus memerlukan ekstraksi gigi (Badan Litbang Kesehatan, 2009). Berdasarkan data profil kesehatan Provinsi Jawa Tengah, 2012 jumlah tumpatan gigi tetap pada tahun 2012 sebanyak 135.710, sementara ekstraksi gigi tetap sebanyak 138.355 (Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah, 2012).

2.1.3 Indikasi Ekstraksi Gigi

Ekstraksi dapat dilakukan pada gigi dengan karies yang besar atau gigi patah yang sudah tidak dapat direstorasi lagi. Pada beberapa pasien lebih

memilih ekstraksi gigi sebagai alternatif yang lebih murah dari pada dilakukan perawatan dengan penambalan atau pembuatan mahkota pada gigi dengan karies yang besar (Loekman, 2006).

Berikut adalah beberapa contoh indikasi dari ekstraksi gigi:

a. Penyakit periodontal yang parah

Jika periodontitis yang parah telah ada selama beberapa waktu, maka akan nampak kehilangan tulang yang berlebihan dan mobilitas gigi yang irreversibel. Dalam situasi seperti ini, gigi yang mengalami mobilitas yang tinggi harus ekstraksi (Loekman, 2006).

b. Alasan orthodontic

Pasien yang akan mengalami perawatan orthodontik sering membutuhkan ekstraksi gigi agar memberikan ruang untuk keselarasan gigi. Gigi yang paling sering diekstraksi adalah premolar satu rahang atas dan bawah (Peterson, 2003).

c. Ekonomis

Indikasi terakhir untuk ekstraksi gigi adalah faktor ekonomi. Semua indikasi untuk ekstraksi gigi yang telah disebutkan di atas dapat menjadi kuat jika pasien tidak mau atau tidak mampu secara financial untuk mendukung keputusan dalam mempertahankan gigi tersebut. Ketidakmampuan pasien untuk membayar prosedur tersebut memungkinkan untuk dilakukan ekstraksi gigi (Peterson, 2003).

2.1.4 Kontraindikasi Ekstraksi Gigi

Kontraindikasi ekstraksi gigi atau tindakan bedah lainnya disebabkan oleh faktor lokal atau sistemik.

A. Kontraindikasi sistemik (Nina, 2012) :

1. Kelainan jantung
2. Diabetes melitus tidak terkontrol sangat mempengaruhi penyembuhan luka.
3. Terapi dengan antikoagulan.

B. Kontraindikasi lokal (Nina, 2012) :

1. Radang akut.

Keradangan akut dengan cellulitis, terlebih dahulu keradangannya harus dikontrol untuk mencegah penyebaran yang lebih luas, jadi tidak boleh langsung dicabut.

2. Infeksi akut.

Pericoronitis akut, penyakit ini sering terjadi pada saat M3 RB erupsi terlebih dahulu.

3. Gigi yang masih dapat dirawat atau dipertahankan dengan perawatan konservasi, endodontik dan sebagainya

2.1.5 Komplikasi Ekstraksi Gigi

Adapun beberapa faktor penyebab terjadinya komplikasi diantaranya karena kondisi sistemik dan lokal pasien serta keahlian, keterampilan dan pengalaman operator serta standar prosedur pelaksanaan (Irwansyah, 2013).

2.2 Perdarahan pada Luka Pasca Ekstraksi Gigi

Salah satu komplikasi ekstraksi gigi yang sering terjadi adalah perdarahan pada luka pasca ekstraksi. Luka adalah kerusakan jaringan tubuh oleh karena jejas fisik yang menyebabkan terganggunya kontinuitas struktur normal dari jaringan (Robbins *et al.*, 2006). Akibat dari ekstraksi gigi ini adalah

rusaknya jaringan periodontal dan pembuluh darah disekitar gigi yang bersangkutan (Saraf, 2006).

Perdarahan dapat terjadi karena kelainan genetik atau kondisi sistemik pasien serta keadaan lokal di rongga mulut, yaitu:

A. Faktor local (Teguh dkk, 2012).

Perdarahan pasca ekstraksi gigi umumnya disebabkan oleh faktor lokal, seperti:

1. Tidak dipatuhinya instruksi pasca ekstraksi oleh pasien.
2. Tindakan pasien seperti penekanan soket oleh lidah dan kebiasaan menghisap-hisap.
3. Kumur-kumur yang berlebihan.

B. Faktor sistemik (Teguh dkk, 2012).

Beberapa penyakit sistemik yang mempengaruhi terjadinya perdarahan:

1. Hipertensi

Bila anestesi lokal yang kita gunakan mengandung vasokonstriktor, pembuluh darah akan menyempit menyebabkan tekanan darah meningkat, pembuluh darah kecil akan pecah, sehingga terjadi perdarahan. Apabila kita menggunakan anestesi lokal yang tidak mengandung vasokonstriktor, darah dapat tetap mengalir sehingga terjadi perdarahan pasca ekstraksi. Penting juga ditanyakan kepada pasien apakah dia mengkonsumsi obat-obat tertentu seperti obat antihipertensi, obat-obat pengencer darah, dan obat-obatan lain karena juga dapat menyebabkan perdarahan.

2. Diabetes Mellitus

Bila DM tidak terkontrol, akan terjadi gangguan sirkulasi perifer, sehingga penyembuhan luka akan berjalan lambat, fagositosis terganggu, PMN akan

menurun, diapedesis dan kemotaksis juga terganggu karena hiperglikemia sehingga terjadi infeksi yang memudahkan terjadinya perdarahan.

3. Pemakaian obat antikoagulan

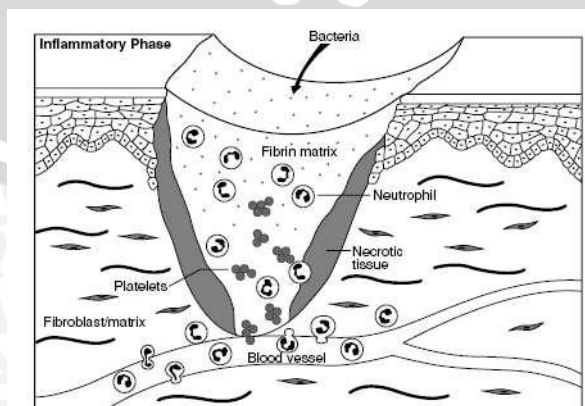
Pada pasien yang mengonsumsi antikoagulan (walfarin) menyebabkan PT dan APTT memanjang. Perlu dilakukan konsultasi terlebih dahulu dengan internist untuk mengatur penghentian obat-obatan sebelum ekstraksi gigi.

2.3 Proses Penyembuhan Luka

Proses penyembuhan luka diawali dengan proses inflamasi, proliferasi dan *remodelling*. Penyembuhan luka ekstraksi gigi pada dasarnya tidak berbeda dengan penyembuhan luka pada bagian tubuh lainnya (Astika dkk, 2012)

2.3.1 Fase Inflamasi (*lag phase*)

Tujuan akhir dari respon inflamasi adalah menarik protein plasma dan fagosit ke tempat yang mengalami cedera atau terinfeksi agar dapat mengisolasi, menghancurkan atau menginaktivkan agen yang masuk, membersihkan debris dan mempersiapkan jaringan untuk proses penyembuhan (Corwin, 2008).



Gambar 2.1 Fase inflamasi (Gurtner *et al.*, 2007)

Komponen jaringan yang mengalami cedera, meliputi *fibrillar collagen* dan *tissue factor*, akan mengaktifasi jalur koagulasi ekstrinsik dan mencegah perdarahan lebih lanjut pada fase ini. Pembuluh darah kapiler yang cedera mengakibatkan termobilisasinya berbagai elemen darah ke lokasi luka. Agregasi platelet akan membentuk plak pada pembuluh darah kapiler yang cedera. Selama proses ini berlangsung, platelet akan mengalami degranulasi dan melepaskan beberapa *growth factor*, seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF) dan *transforming growth factor* (TGF). Hasil akhir koagulasi jalur intrinsik dan ekstrinsik adalah konversi fibrinogen menjadi fibrin (Gurtner *et al.*, 2007).

Berbagai mediator inflamasi yakni prostaglandin, *interleukin-1* (IL-1), *tumor necrotizing factor* (TNF), C5a, TGF- β dan produk degradasi bakteri seperti lipopolisakarida (LPS) akan menarik sel netrofil sehingga menginfiltrasi matriks fibrin dan mengisi kavitas luka. Migrasi netrofil ke luka juga dimungkinkan karena peningkatan permeabilitas kapiler akibat terlepasnya serotonin dan histamin oleh *mast cell* dan jaringan ikat. Netrofil pada umumnya akan ditemukan pada 2 hari pertama dan berperan penting untuk memfagositosis jaringan mati dan mencegah infeksi. Keberadaan netrofil yang berkepanjangan merupakan penyebab utama terjadinya konversi dari luka akut menjadi luka kronis yang tak kunjung sembuh (Gurtner *et al.*, 2007).

Makrofag juga akan mengikuti netrofil menuju luka setelah 48-72 jam dan menjadi sel dominan setelah hari ke-3 pasca cedera. Debris dan bakteri akan difagositosis oleh makrofag. Makrofag juga berperan utama memproduksi berbagai *growth factor* yang dibutuhkan dalam produksi matriks ekstraseluler

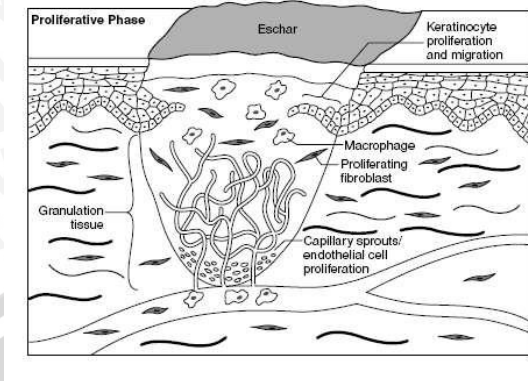
oleh fibroblas dan pembentukan neovaskularisasi. Keberadaan makrofag oleh karenanya sangat penting dalam fase penyembuhan ini (Gurtner *et al.*, 2007).

Limfosit dan *mast cell* merupakan sel terakhir yang bergerak menuju luka dan dapat ditemukan pada hari ke-5 sampai ke-7 pasca cedera (Gurtner *et al.*, 2007). Fase ini disebut juga *lag phase* atau fase lamban karena belum ada *tensile strength*, di mana pertautan luka hanya dipertahankan oleh fibrin dan fibronectin (Regan *et al.*, 1994).

Sel punca mesenkim akan bermigrasi ke luka, membentuk sel untuk regenerasi jaringan baik tulang, kartilago, jaringan fibrosa, pembuluh darah, maupun jaringan lain. Fibroblas akan bermigrasi ke luka dan mulai berproliferasi menghasilkan matriks ekstraseluler. Sel endotel pada pembuluh darah di daerah sekitar luka akan berproliferasi membentuk kapiler untuk mencapai daerah luka. Ini akan menandai dimulainya proses pembentukan pembuluh darah. Pada akhir fase inflamasi, mulai terbentuk jaringan granulasi yang berwarna kemerahan, lunak dan granuler. Jaringan granulasi adalah suatu jaringan kaya vaskuler, berumur pendek, kaya fibroblas, kapiler dan sel radang tetapi tidak mengandung ujung saraf (Anderson, 2000).

2.3.2 Fase Proliferasi

Fase proliferasi berlangsung mulai hari ke-4 hingga hari ke-21 pasca cedera. Keratinosit yang berada pada tepi luka sesungguhnya telah mulai bekerja beberapa jam pasca cedera, menginduksi terjadinya reepitelialisasi. Pada fase ini matriks fibrin yang didominasi oleh platelet dan makrofag secara gradual digantikan oleh jaringan granulasi yang tersusun dari kumpulan fibroblas, makrofag dan sel endotel yang membentuk matriks ekstraseluler dan neovaskular (Gurtner *et al.*, 2007).



Gambar 2.2 Fase proliferasi (Gurtner *et al.*, 2007)

Faktor setempat seperti *growth factor*, sitokin, hormon, nutrisi, pH dan tekanan oksigen sekitar menjadi perantara dalam proses diferensiasi sel punca (Anderson, 2000). Regresi jaringan desmosom antar keratinosit mengakibatkan terlepasnya keratinosit untuk bermigrasi ke daerah luka. Keratinosit juga bermigrasi secara aktif karena terbentuknya filamen aktin di dalam sitoplasma keratinosit. Keratinosit bermigrasi akibat interaksinya dengan protein sekretori seperti fibronektin, vitronektin dan kolagen tipe I melalui perantara integrin spesifik di antara matriks temporer. Matriks temporer ini akan digantikan secara bertahap oleh jaringan granulasi yang kaya akan fibroblas, makrofag dan sel endotel. Sel tersebut akan membentuk matriks ekstraseluler dan pembuluh darah. Jaringan granulasi umumnya mulai dibentuk pada hari ke-4 setelah cedera (Lorenz *et al.*, 2006).

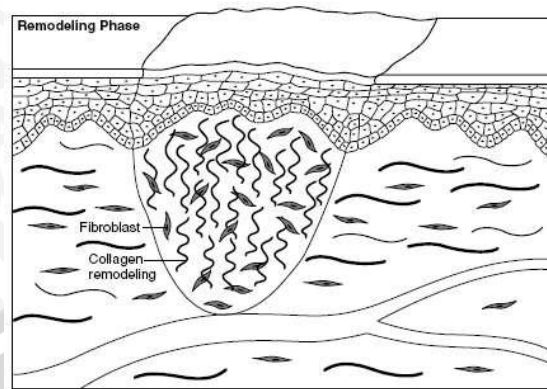
Fibroblas merupakan sel utama selama fase ini dimana akan menyediakan kerangka untuk migrasi keratinosit. Makrofag juga akan menghasilkan *growth factor* seperti PDGF dan TGF- β yang akan menginduksi fibroblas untuk proliferasi, migrasi dan membentuk matriks ekstraseluler. Matriks temporer ini secara bertahap akan digantikan oleh kolagen tipe III. Sel endotel akan membentuk pembuluh darah dengan bantuan protein sekretori VEGF, FGF

dan TSP-1. Pembentukan pembuluh darah dan jaringan granulasi merupakan tanda penting fase proliferasi karena ketiadaannya pembuluh darah kapiler merupakan tanda dari gangguan penyembuhan luka. Setelah kolagen mulai menggantikan matriks temporer, fase proliferasi mulai berhenti dan fase *remodeling* mulai berjalan (Gurtner *et al.*, 2007).

Faktor proangiogenik yang diproduksi makrofag seperti *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *fibroblas growth factor* (FGF)-2, *angiopoietin-1* dan *thrombospondin* akan menstimulasi sel endotel membentuk neovaskular melalui proses pembentukan pembuluh darah kapiler. Hal yang menarik dari fase proliferasi ini adalah bahwa pada suatu titik tertentu, seluruh proses yang telah dijabarkan di atas harus dihentikan. Fibroblas akan segera menghilang segera setelah matriks kolagen mengisi kavitas luka dan pembentukan neovaskular akan menurun melalui proses apoptosis. Kegagalan regulasi pada tahap inilah yang hingga saat ini dianggap sebagai penyebab terjadinya kelainan fibrosis seperti jaringan parut hipertrofik (Gurtner *et al.*, 2007).

2.3.3 Fase Pematangan (*remodeling*)

Fase ketiga dan terakhir adalah fase *remodeling*. Selama fase ini jaringan yang terbentuk akan disusun sedemikian rupa seperti jaringan asalnya. Fase pematangan ini berlangsung mulai hari ke-21 hingga sekitar 1 tahun. Fase ini segera dimulai setelah kavitas luka terisi oleh jaringan granulasi dan proses reepitelialisasi usai. Perubahan yang terjadi adalah penurunan kepadatan sel, vaskularisasi, pembuangan matriks temporer yang berlebihan dan penataan serat kolagen sepanjang garis luka untuk meningkatkan kekuatan jaringan. Fase akhir penyembuhan luka ini dapat berlangsung selama bertahun-tahun (Gurtner *et al.*, 2007).



Gambar 2.3 Fase remodeling (Gurtner *et al.*, 2007)

Kontraksi dari luka dan *remodeling* kolagen terjadi pada fase ini. Kontraksi luka terjadi akibat aktivitas miofibroblas, yakni fibroblas yang mengandung komponen mikrofiliamen aktin intraselular. Kolagen tipe III pada fase ini secara gradual digantikan oleh kolagen tipe I yang disekresi oleh fibroblas, makrofag dan sel endotel. Sekitar 80% kolagen pada kulit adalah kolagen tipe I yang memungkinkan terjadinya *tensile strength* pada kulit (Gurtner *et al.*, 2007).

Keseimbangan antara proses sintesis dan degradasi kolagen terjadi pada fase ini. Kolagen yang berlebihan didegradasi oleh enzim kolagenase dan kemudian diserap. Sisanya akan mengerut sesuai tegangan yang ada. Hasil akhir dari fase ini berupa jaringan parut yang pucat, tipis dan mudah digerakkan dari dasarnya (Bisono dkk, 1997).

Kolagen awalnya tersusun secara tidak beraturan, sehingga membutuhkan *lysyl hydroxylase* untuk mengubah lisin menjadi hidroksilisine yang dianggap bertanggung jawab terhadap terjadinya *cross-linking* antar kolagen. *Cross-linking* inilah yang menyebabkan terjadinya *tensile strength* sehingga luka tidak mudah terkoyak lagi. *Tensile strength* akan bertambah secara cepat dalam 6 minggu pertama, kemudian akan bertambah perlahan selama 1-2 tahun. Pada

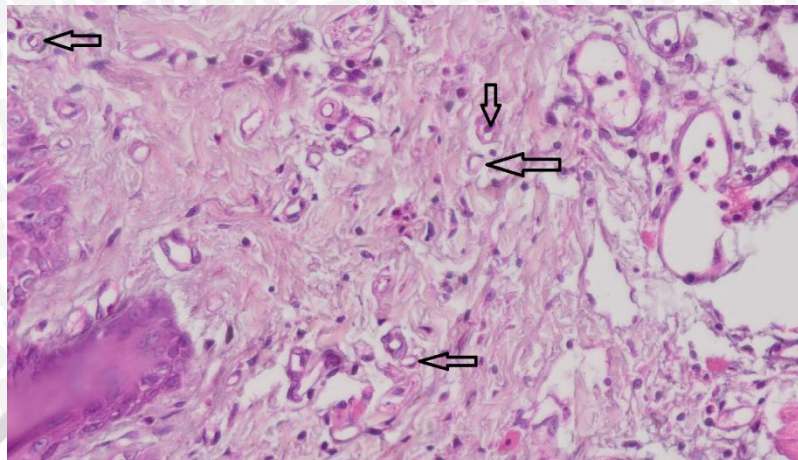
umumnya *tensile strength* pada kulit dan *fascia* tidak akan pernah mencapai 100%, namun hanya sekitar 80% dari normal (Schultz *et al.*, 2007).

Metaloproteinase matriks yang disekresi oleh makrofag, fibroblas dan sel endotel akan mendegradasi kolagen tipe III. Kekuatan jaringan parut bekas luka akan semakin meningkat akibat berubahnya tipe kolagen dan terjadinya *crosslinking* jaringan kolagen. Pada akhir fase *remodeling*, jaringan hanya akan mencapai 70% kekuatan dari jaringan awal (Gurtner *et al.*, 2007).

2.4 Pembuluh darah

2.4.1 Proses Pembentukan Pembuluh darah

Proses pembentukan pembuluh darah di mulai pada hari ke 3 dan puncaknya pada hari ke 7 setelah terjadinya luka (Dipietro *et al.*, 1998). Proses pembentukan pembuluh darah tersusun dari beberapa tahapan yang dimulai dari proses inisiasi, yaitu dilepaskannya enzim protease dari sel endotel yang teraktivasi: pembentukan pembuluh darah vaskular, antara lain terjadinya degradasi *extra cellular matrix* (ECM), migrasi, proliferasi sel endotel, pembuatan ECM yang kemudian dilanjutkan dengan maturasi atau stabilisasi pembuluh darah yang terkontrol dan dimodulasi untuk memenuhi kebutuhan jaringan (Plank *et al.*, 2004).



Gambar 2.4 Histologi Kapiler (Nisa dkk, 2013)

Tahapan-tahapan pembuluh darah dapat dijelaskan sebagai berikut:

A. Pelepasan faktor stimulus angiogenik

Kumpulan sel pada jaringan yang mengalami luka, akan melepaskan faktor angiogenik (berupa faktor pertumbuhan dan protein rantai pendek lainnya) yang dapat berdifusi ke sel-sel pada jaringan sekitarnya. Menyusul proses tersebut, terjadi pula proses inflamasi. Pada proses inflamasi, pembuluh darah kapiler yang secara lokal memegang peranan penting dalam proses yang terjadi, selanjutnya karena pembuluh darah kapiler merupakan suatu jaringan yang dilapisi oleh sel endotel, yang akan berinteraksi dengan faktor peradangan dan angiogenik (Kleinsmith *et al.*, 2008).

B. Pelepasan enzim protease dari sel endotel yang teraktivasi

Faktor angiogenik berupa faktor pertumbuhan kemudian berikatan dengan reseptor yang spesifik terdapat pada reseptor sel endotel di sekitar lokasi pembuluh darah lama. Ketika faktor angiogenik berikatan dengan reseptornya, sel endotel akan teraktivasi dan menghasilkan sinyal yang kemudian dikirim dari permukaan sel ke nukleus. Organel-organel sel endotel kemudian mulai memproduksi molekul antara lain adalah enzim protease yang berperan penting

dalam degradasi matriks ekstraseluler untuk mengakomodasi percabangan pembuluh darah kapiler (Liekens *et al.*, 2008).

C. Disosiasi sel endotel dan degradasi ECM yang melapisi pembuluh darah lama.

Disosiasi sel endotel dari sel-sel di sekitarnya, yang distimulasi oleh faktor pertumbuhan angiopoietin, serta aktivitas enzim-enzim yang dihasilkan oleh sel endotel yang teraktivasi, seperti *urokinase-plasminogen activator* (uPA) yang dibutuhkan untuk menginisiasi terbentuknya pembuluh darah kapiler (Pembuluh darah Foundation, 2008). Dengan sistem enzimatik tersebut, sel endotel dari pembuluh darah lama akan mendegradasi ECM dan menginvasi stroma dari jaringan-jaringan di sekitarnya sehingga sel-sel endotel yang terlepas dari ECM ini akan sangat responsif terhadap signal angiogenik (Polverini, 2002).

D. Migrasi dan proliferasi sel endotel

Degradasi proteolitik dari ECM segera diikuti dengan migrasinya sel endotel ke matriks yang terdegradasi. Proses tersebut kemudian diikuti dengan proliferasi sel endotel yang distimulasi oleh faktor angiogenik, yang beberapa di antaranya dilepaskan dari hasil degradasi ECM, seperti fragmen peptide, fibrin, atau asam hialuronik (Kliensmith, 2008).

E. Pembuatan ECM

Sel endotel yang bermigrasi tersebut kemudian mengalami elongasi dan saling menyejajarkan diri dengan sel endotel lain untuk membuat struktur percabangan pembuluh darah kapiler yang kuat. Proliferasi sel endotel meningkat sepanjang percabangan vaskular. Lumen kemudian terbentuk dengan pembengkokan (pelengkungan) dari sel-sel endotel. Pada tahap ini kontak antar sel endotel mutlak dibutuhkan (Kliensmith, 2008).

F. Fusi pembuluh darah dan inisiasi aliran darah

Struktur pembuluh darah yang terhubung satu sama lain akan membentuk rangkaian atau jalinan pembuluh darah kapiler untuk memediasi terjadinya sirkulasi darah. Pada tahap akhir, pembentukan struktur pembuluh darah kapiler akan distabilkan oleh sel mural (sel otot polos dan *pericytes*) sebagai jaringan penyangga dari pembuluh darah yang terbentuk. Tanpa adanya sel mural, struktur dan jaringan antar pembuluh darah kapiler sangat rentan dan mudah rusak (Carmeliet *et al.*, 1998).

2.4.2 Faktor-Faktor Pembentukan Pembuluh darah

Berdasarkan aksi dan targetnya, faktor-faktor angiogenik dapat dikategorikan menjadi 3 kelompok (Kliensmith, 2008), yaitu sebagai berikut:

1. Kelompok faktor angiogenik yang memiliki target sel endotel, untuk menstimulasi proses mitosis. Contohnya faktor angiogenik *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan angiogenin yang dapat menginduksi pembelahan pada kultur sel endotel (Folkman *et al.*, 1992).
2. Kelompok kedua merupakan molekul yang mengaktivasi sel target secara luas selain sel endotel. Beberapa sitokin, kemokin, dan enzim angiogenik termasuk dalam kelompok ini. *Fibroblast growth factor* (FGF)-2 merupakan sitokin kelompok ini yang pertama kali dikarakterisasi (Angioworld, 2008).
3. Kelompok ketiga merupakan faktor yang bekerja tidak langsung. Faktor-faktor angiogenik pada kelompok ini dihasilkan dari makrofag dan sel endotel. Secara *in vivo*, TGF- β menginduksi pembuluh darah dan menstimulasi ekspresi TNF- α , FGF-2, *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF) dan VEGF dengan menarik sel-sel inflamatori. TNF- α diketahui meningkatkan ekspresi VEGF dan reseptornya, interleukin-8, dan FGF-2 pada sel endotel. Aktivitas

TNF- α ini menjelaskan peranannya dalam pembuluh darah secara *in vivo* (Liekens *et al.*, 2008).

Beberapa kemungkinan mekanisme stimulasi pembuluh darah oleh faktor angiogenik tipe ini antara lain (Polverini, 2002) :

1. Mobilisasi makrofag dan mengaktifasi sel tersebut untuk pertumbuhan atau faktor kemotaktik sel endotel pembuluh darah atau bahkan mensekresi keduanya.
2. Pelepasan mitogen sel endotel (contohnya b-FGF) yang dapat disimpan di ECM.
3. Menstimulasi pelepasan penyimpanan intraseluler faktor pertumbuhan sel endotel.

Beberapa di antara faktor-faktor angiogenik di atas telah dikarakterisasi dengan baik, yang akan dijelaskan sebagai berikut:

2.4.2.1 *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF)

VEGF merupakan glikoprotein pengikat heparin yang disekresi dalam bentuk homodimer (45 kDa). Salah satu fungsi VEGF yang pertama kali diketahui adalah memediasi peningkatan permeabilitas pembuluh darah kapiler pada mikrovaskular tumor. Oleh karena itu, VEGF disebut pula *Vascular Permeability Factor* (VPF) (Carmiliet *et al.*, 1998).

Enam kelompok VEGF telah diketahui antara lain VEGF-A, *Placental Growth Factor* (PLGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, dan VEGF-E. 11,13 VEGF akan berinteraksi dengan reseptor FLK-1 atau KDR (VEGFR-2) sehingga menstimulasi proliferasi, migrasi, ketahanan, dan permeabilisasi sel endotel. Sedangkan VEGFR-1 berfungsi sebagai inhibitor dari aksi VEGFR-2 (Carmeliet *et al.*, 1998).

Dalam keadaan normal, VEGF diekspresikan dalam kadar yang bervariasi oleh berbagai jaringan, termasuk di antaranya otak, ginjal, hati, dan limpa (Polverini, 2002).

VEGF beraksi sebagai mitogen yang terbatas pada sel endotel vaskular. VEGF terlibat dalam banyak tahap respon angiogenik, antara lain menstimulasi degradasi matriks ekstraseluler di sekitar sel endotel, meningkatkan proliferasi dan migrasi sel endotel serta membantu pembentukan struktur pembuluh darah (Folkman *et al.*, 1992).

Tingkat ekspresi molekul VEGF juga dilaporkan meningkat pada masa penyembuhan luka terutama dalam fase granulasi. Bahkan dilaporkan bahwa VEGF juga dapat menarik sel prekursor hematopoietik dan endotel dari sumsum tulang masuk ke dalam sirkulasi peredaran darah (Rini *et al.*, 2005). Hal ini berkaitan dengan adanya populasi sel hemangioblas dalam sumsum tulang yang merupakan sel punca yang dapat berkembang menjadi sel prekursor hematopoietik atau menjadi sel prekursor endotel (Berman *et al.*, 2000).

2.4.2.2 Fibroblast Growth Factor (FGF)

Fibroblast Growth Factor (FGF) merupakan faktor angiogenik yang juga dapat membentuk kompleks dengan heparin. Kompleks heparin-FGF membentuk suatu struktur yang tahan terhadap panas dan protease (Fujita, 2000). Ikatan dengan heparin juga menyebabkan terjadinya bentuk dimer dan oligomer dari FGF yang akan meningkatkan efisiensi aktivasi sel menyusul terjadinya ikatan antara FGF dengan reseptornya (Plotnikov *et al.*, 1999). FGF ditemukan pada kelenjar pituitari, otak, hipotalamus, mata, kartilago, tulang,

corpus luteum, ginjal, plasenta, makrofag, kondrosarkoma dan sel hepatoma (Angioworld, 2008).

Protein a-FGF dan b-FGF ini memiliki homologi asam amino yang cukup tinggi (53%) (Folkman *et al.*, 1992). Meskipun a-FGF dan b-FGF memiliki reseptor yang sama (FGFR-1 sampai FGFR-4) namun memiliki perbedaan tingkat afinitasnya (Cotton *et al.*, 2008). Afinitas a-FGF dalam pengikatan terhadap reseptornya (FGFR1-4) lebih tinggi dibandingkan b-FGF. a-FGF banyak terdapat pada otak dan retina dan diketahui berperan dalam menjaga kondisi fisiologi tubuh, termasuk di antaranya menjaga homeostasis tubuh seperti pertumbuhan pembuluh darah menjelang regenerasi jaringan dan penyembuhan luka (Zhu *et al.*, 1991). Sedangkan b-FGF terdapat pada membran basal, matriks ekstraseluler sub endotel pembuluh darah kapiler. b-FGF berperan dalam memediasi proses pembuluh darah kapiler dan juga penyembuhan luka (Liu *et al.*, 2006).

Spesifitas a-FGF dan b-FGF cukup luas pada sejumlah sel target, termasuk di antaranya adalah sel endotel sel otot polos, fibroblast, dan sel epitel (Polverine, 2002). Diketahui bahwa faktor angiogenik ini tidak hanya menstimulasi proliferasi sel endotel secara *in vitro* (pada konsentrasi 1 sampai 10 ng/ml) namun juga pada proses angiogenik *in vivo*. Diantaranya adalah pertumbuhan pembuluh darah pada proses penyembuhan luka dengan meningkatkan proses reendotelialisasi pada pembuluh darah kapiler yang mengalami kehilangan atau kerusakan sel endotel dan pembentukan pembuluh darah kapiler pada vaskularisasi jantung (Fujita, 2000).

2.4.3 Angiopoietin

Angiopoietin merupakan faktor angiogenik yang terdiri dari dua anggota keluarga, yaitu Ang1 dan Ang2 (Fujita, 2000). Angiopoietin dibutuhkan untuk pematangan pembuluh darah kapiler dan meningkatkan ekspresi dan fungsi VEGF. Ketika Ang-1 dan Ang-2 berikatan dengan reseptornya (Tie-2), hanya ikatan dengan Ang-1 yang dapat menghasilkan transduksi sinyal dan pematangan pembuluh darah (Degreve *et al.*, 2004). Sedangkan ikatan dengan Ang-2 memiliki fungsi sebagai inhibitor Ang-1 dan pematangan pembuluh darah kapiler (Polverini, 2002).

Berbagai faktor yang turut berperan dalam proses pembentukan pembuluh darah kapiler antara lain sebagai berikut.

1. Heparin.

Beberapa fungsi heparin dalam memodulasi pembentukan pembuluh darah kapiler yang sudah diketahui antara lain (Liekens *et al.*, 2008) :

- a. Mengakomodasi migrasi sel endotel meningkatkan a-FGF, melalui peningkatan afinitas a-FGF pada reseptor nya.
- b. Meningkatkan afinitas VEGF (*Endothelial Cell Growth Factor*) pada reseptor sel endotel (Berman *et al.*, 2000)
- c. Stabilisasi struktur molekul a-FGF dan b-FGF dari inaktivasi atau degradasi akibat panas, asam, dan protease

2. Copper (Cu)

Beberapa fungsi Cu dalam memodulasi pembentukan pembuluh darah kapiler yang sudah diketahui antara lain.

- a. Meningkatkan migrasi sel endotel secara *in vitro*.

b. Beberapa kompleks Cu tertentu dilaporkan bersifat angiogenik, seperti kompleks copper dengan tripeptida Gly-His-Lys, ceruloplasmin, dan heparin (Folkman *et al.*, 1992).

3. Hipoksia

Rendahnya kadar oksigen yang dihasilkan dari tidak tercukupinya kebutuhan oksigen dan nutrisi akibat berjauhannya letak antara sel endotel dengan pembuluh darah lama menginduksi terjadinya pembentukan pembuluh darah. Kondisi hipoksia menginduksi ekspresi VEGF dan reseptornya melalui *hypoxia-inducible factor-1a* (HIF-1a) yang juga merupakan molekul penarik sel makrofag. Kondisi tersebut mengakibatkan terbentuknya pembuluh darah yang dapat berperan dalam penyembuhan berbagai penyakit, seperti miokard infark dan penyembuhan luka (Liekens *et al.*, 2001).

4. Fibrin

Fibrin memegang peran penting dalam membangun dasar kapiler. Dalam uji *in vitro*, diketahui fibrin menstimulasi pergerakan sel endotel dan menginduksi influks makrofag dan pembuluh darah ketika diimplantasi secara *in vivo* (Kleinsmith *et al.*, 2008).

2.4.4 Pengaturan Kinetik Proses Pembentukan Pembuluh darah

Tubuh yang sehat atau normal akan menjaga keseimbangan baik modulasi maupun inhibisi pembuluh darah kapiler melalui regulasi ekspresi faktor angiogenik secara ketat. Ketika jumlah faktor angiogenik diproduksi dalam jumlah melebihi inhibitor angiogenik, maka sel endotel akan teraktivasi sehingga terjadi pembentukan pembuluh darah kapiler. Sebaliknya, ketika faktor inhibitor berada dalam jumlah yang melebihi faktor inhibitor maka sel endotel tidak teraktivasi

sehingga tidak terjadi atau terhentinya proses pembuluh darah kapiler (Carmeliet *et al.*, 1998).

2.5 Bekicot (*Achatina fulica*)

2.5.1 Bekicot (*Achatina fulica*)

Bekicot adalah hewan yang termasuk dalam phylum Molusca (Widodo, 2002). Molusca itu sendiri dapat diartikan sebagai hewan yang bertubuh lunak, akan tetapi sebagian besar molusca terlindungi oleh cangkang keras yang mengandung kalsium karbonat (Campbell dkk, 2000)

2.5.2 Taksonomi

Taksonomi bekicot adalah sebagai berikut (Campbell dkk, 2000) :

Filum : *Mollusca*

Kelas : *Gastropoda*

Ordo : *Pulmonata*

Famili : *Achatinidae*

Genus : *Achatina*

Spesies: *Achatina fulica*

2.5.3 Morfologi

Bekicot (*Achantina fulica*) memiliki sebuah cangkang berbentuk kerucut yang panjangnya dua kali lebar tubuhnya dan terdiri dari tujuh hingga sembilan ruas lingkaran ketika umurnya telah dewasa. Cangkang bekicot memiliki warna coklat kemerahan dengan corak vertikal berwarna kuning tetapi pewarnaan dari spesies tersebut tergantung pada keadaan lingkungan dan makanan yang

dikonsumsi. Bekicot dewasa panjangnya dapat mencapai 20 cm, tetapi rerata panjangnya sekitar 5-10 cm. Sedangkan berat rerata bekicot kurang lebih 32 gram (Pracaya, 2008).



Gambar 2.5 Morfologi bekicot (*Achatina fulica*) (Szabakareptiles, 2009)

2.5.4 Asal usul

Bekicot berasal dari Afrika Timur, tersebar keseluruh dunia dalam waktu yang relatif singkat dan berkembang biak dengan cepat (Pracaya, 2008). Spesies yang banyak terdapat di Asia dan Afrika, khususnya di Indonesia adalah *Achatina fulica* (Dewi, 2010).

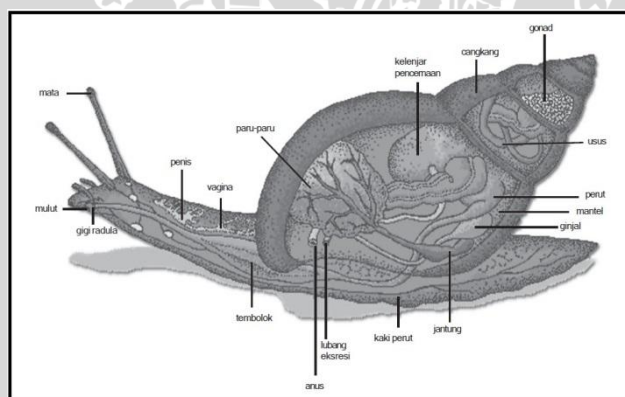
2.5.5 Habitat dan daerah distribusi

Bekicot (*Achatina fulica*) hidup di negara yang memiliki iklim tropis yang hangat, suhu ringan sepanjang tahun dan tingkat kelembaban yang tinggi (Venette *et al.*, 2004). Spesies ini dapat hidup di daerah pertanian, wilayah pesisir dan lahan basah, hutan alami, semak belukar dan daerah perkotaan. Bekicot dapat hidup secara liar di hutan maupun di perkebunan atau tempat budidaya (Raut *et al.*, 2002). Untuk bertahan hidup, bekicot perlu temperatur di atas titik beku sepanjang tahun dan kelembaban yang tinggi sepanjang tahun.

Bekicot menjadi tidak aktif atau dominan untuk menghindari sinar matahari (Venette *et al.*, 2004). Bekicot (*Achatina fulica*) bertahan pada suhu 2°C dengan cara *hibernasi* dan pada suhu 30°C dengan keadaan *dorman* dan tetap aktif pada suhu 9°C hingga 29°C (Fowler, 2003).

2.5.6 Kandungan Lendir bekicot

Bekicot (*Achatina fulica*) sejak dahulu digunakan sebagai obat penyembuh luka ringan, penyakit kuning dan penyakit kulit. Lendir bekicot menghilangkan rasa nyeri dengan menghambat mediator nyeri sehingga rangsangan reseptor nyeri ke pusat nyeri dapat dihalangi. Lendir bekicot juga dapat digunakan untuk meredakan sakit gigi, yaitu dengan menempelkan lendir bekicot pada daerah sekitar gigi yang sakit dengan kapas (Agung dkk, 2009).



Gambar 2.6 Anatomi bekicot (*Achatina fulica*) (Szabakareptiles, 2009)

Lendir bekicot mengandung *glikokonjugat* kompleks, yaitu *glikosaminoglikan* dan *proteoglikan*. Kandungan tersebut tersusun dari gula sulfat atau karbohidrat, protein globuler terlarut, asam urat dan oligoelemen (tembaga, seng, kalsium dan besi). *Glikosaminoglikan* dan *proteoglikan* merupakan pengontrol aktif fungsi sel, berperan pada interaksi matriks sel, proliferasi fibroblas dengan menghasilkan kolagen yang berperan dalam menyembuhkan

luka, migrasi dan epitelisasi serta secara efektif mengontrol fenotip selular. (Kim *et al.*, 1996).

Granula yang terdapat di dalam tubuh bekicot berperan dalam mensekresikan *glikokonjugat* utama pada lendir bekicot yaitu *glikosaminoglikan*. *Glikosaminoglikan* yang terisolasi dari bekicot (*Achatina fulica*) ini termasuk dalam golongan *heparin* dan *heparan sulfat* (Kim *et al.*, 1996). Heparan sulfat sebagai salah satu *glikosaminoglikan* berfungsi sebagai pengikat dan penyimpanan bagi faktor pertumbuhan fibroblas dasar (bFGF) yang disekresikan kedalam *extracellular matrix* (ECM). ECM dapat melepaskan bFGF yang akan merangsang rekrutmen sel radang yaitu PMN, makrofag dan limfosit serta aktivasi fibroblas dan pembentukan pembuluh darah setiap cedera (Robbins dkk, 2007). Lendir bekicot juga mengikat *kation divales* seperti tembaga (II) yang dapat mempercepat proses pembuluh darah yang secara tidak langsung mempengaruhi kecepatan proses penyembuhan luka (Kim *et al.*, 1996).

2.6 Heparan Sulfat

Salah satu kandungan dari lendir bekicot adalah heparan sulfat yang bermanfaat dalam mempercepat proses penyembuhan luka dengan membantu proses pembekuan darah dan proliferasi sel fibroblas (Nuringtyas, 2012). Heparan sulfat juga berfungsi memproduksi berbagai growth factor seperti *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dan *Basic Fibroblast Growth Factor* untuk merangsang sel endotel membentuk pembuluh darah kapiler (Vieira *et al.*, 2004).

2.7 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) atau biasa dikenal dengan nama lain *Norway Rat* berasal dari wilayah Cina dan menyebar ke Eropa bagian barat (Sirois *et al.*, 2005). Pada wilayah Asia Tenggara, tikus putih berkembang biak di Filipina, Indonesia, Laos, Malaysia, dan Singapura (Adiyati, 2011).

Tikus putih saat ini menjadi salah satu yang strain tikus paling populer yang digunakan untuk penelitian laboratorium. Ditandai dengan adanya kepala lebar, telinga panjang, dan memiliki panjang ekor yang selalu kurang dari panjang tubuhnya. Galur tikus *Sprague dawley* dan *Long-Evans* dikembangkan dari galur Wistar (Sirois *et al.*, 2005).

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* termasuk ke dalam hewan mamalia yang memiliki ekor panjang. Ciri-ciri galur ini yaitu bertubuh panjang dengan kepala sempit. Telinga tikus putih ini tebal dan pendek dengan rambut halus. Berat badan tikus putih jantan pada umur dua belas minggu mencapai 240 gram sedangkan betinanya mencapai 200 gram. Tikus putih memiliki lama hidup berkisar antara 4-5 tahun dengan berat badan umum tikus putih jantan berkisar antara 267-500 gram dan betina 225-325 gram (Sirois *et al.*, 2005).

Berikut adalah klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*):

Kingdom : Animalia
Kelas : Mamalia
Ordo : Rodentia
Famili : Muridae
Genus : *Rattus*
Spesies : *Rattus norvegicus*
Galur/Strain : *Sprague dawley*



Gambar 2.7 Tikus putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague Dawley (Sirois *et al.*, 2005)