

repository.ub.ac.id

**PENGARUH PEMBERIAN AIR Ag (PERAK) TERHADAP
EKSPRESI TNF- α (*Tumor Necrosis Factor- α*) DAN
KETEBALAN EPIDERMIS PADA PROSES
PENYEMBUHAN LUKA TERBUKA
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Oleh:
DIAH PUSPITA DEWI
155130101111060



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**



repository.ub.ac.id

**PENGARUH PEMBERIAN AIR Ag (PERAK) TERHADAP
EKSPRESI TNF- α (*Tumor Necrosis Factor- α*) DAN
KETEBALAN EPIDERMIS PADA PROSES
PENYEMBUHAN LUKA TERBUKA
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:
DAH PUSPITA DEWI
155130101111060



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**Pengaruh Pemberian Air Ag (Perak) Terhadap Ekspresi TNF- α
(*Tumor Necrosis Factor - α*) dan Ketebalan Epidermis pada
Proses Penyembuhan Luka Terbuka Tikus
Putih (*Rattus norvegicus*)**

Oleh:

DIAH PUSPITA DEWI
NIM. 155130101111060

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 01 Juli 2019
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Edwin Widodo, S.Si., M.Sc., Ph.D
NIP. 19810504 200501 1 001

drh. Dian Vidiastuti, M.Si
NIP. 19820207 200912 2 003

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono M App. Sc.
NIP. 19631216 198803 1 002

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Diah Puspita Dewi

NIM : 155130101111060

Program Studi : Kedokteran Hewan

Penulis Skripsi berjudul:

Pengaruh Pemberian Air Ag (Perak) Terhadap Ekspresi TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α) dan Ketebalan Epidermis pada Proses Penyembuhan Luka Terbuka Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Juli 2019

Yang menyatakan,

Diah Puspita Dewi

NIM. 155130101111060

Pengaruh Pemberian Air Ag (Perak) Terhadap Ekspresi TNF- α (*Tumor Necrosis Factor- α*) dan Ketebalan Epidermis pada Proses Penyembuhan Luka Terbuka Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

ABSTRAK

Luka insisi merupakan salah satu jenis luka terbuka yang terjadi karena teriris oleh instrumen yang tajam seperti saat dilakukan tindakan medis pada proses pembedahan. Pada saat terjadi perlukaan, tubuh secara alami akan melakukan penyembuhan luka melalui tiga fase yaitu: inflamasi, proliferasi, dan maturasi (*remodelling*). Air Ag (perak) memiliki efek antibakteri serta dapat meningkatkan sel fibroblast yang berguna dalam mempercepat proses penyembuhan luka. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian air Ag (perak) terhadap ekspresi TNF- α dan ketebalan epidermis pada proses penyembuhan luka insisi. Hewan coba dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar jantan dengan berat 150-250 gram berumur 8-12 minggu, yang dibagi menjadi 4 kelompok. Kelompok kontrol negatif tanpa perlakuan. Kelompok perlakuan pertama yang diinsisi dan diberi terapi *Povidone Iodine* 0,5 ml. Kelompok perlakuan kedua yang diberikan air Ag 0,5 ml. Kelompok perlakuan ketiga yang diberikan terapi kombinasi air Ag 0,5 ml dan povidon iodin 0,5 ml. Pemberian terapi dilakukan selama 7 hari. Ekspresi TNF- α diukur menggunakan metode *flowcytometry* dan ketebalan epidermis diamati secara histopatologi dengan pewarnaan Hemaktosilen Eosin (HE). Ekspresi TNF- α dianalisis menggunakan uji Kruskal Wallis sedangkan data ketebalan epidermis dianalisis menggunakan uji one way ANOVA dan uji lanjutan BNJ dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha= 0,05$). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terapi kombinasi *Povidon Iodine* 10% dan air Ag cenderung menurunkan ekspresi TNF- α dan lebih baik dalam meningkatkan regenerasi sel epidermis ditinjau dari ketebalan epidermis. Kesimpulan penelitian ini yaitu terapi kombinasi dapat mempercepat proses kesembuhan luka.

Kata kunci: Luka insisi, air Ag (perak), TNF- α , dan ketebalan epidermis.

The Effect of Ag (Silver) Solution based on Expression TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α) and Epidermal Thickness in Open Wound of the White Rat (*Rattus norvegicus*)

ABSTRACT

Incision wounds are one type of open wounds that occur caused by a sharp instruments such as a result of medical procedure in surgery process. At the time of injury, body will naturally heal that wounds through three phases, inflammation, proliferation, and maturation (remodeling). Ag (silver) solution can accelerate wound healing because it has antibacterial properties and another ingredients who will increase fibroblast cells production. This study aims to determine the effect of Ag (silver) solution based on expression TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α) and epidermal thickness in incision wound of the white rat (*Rattus norvegicus*) Wistar strain. The experimental animals were male white rat (*Rattus norvegicus*) Wistar strains weighing 150-250 grams, aged 8-12 weeks divided into 4 groups. Negative control group without treatment. First therapeutic group that is incised and treated by 10% Povidone Iodine with doses 0,5 ml. Second therapeutic group that incised and treated by Ag (silver) solution with doses 0,5 ml. Third therapeutic group that incised and treated by combination between 0,5 ml ag (silver) solution and 0,5 ml Povidone Iodine. All treatments was given for seven days. TNF- α expression was measured using the flowcytometry method and epidermal thickness was observed histopathologically by Haematoxyllen Eosin (HE) staining. Data analysis TNF- α expression was performed by Kruskal Wallis test while epidermal thickness were analyzed by one way ANOVA test and BNJ follow-up test with 95% confidence level ($\alpha = 0.05$). The results of this study showed that combination therapy of Povidone Iodine 10% and Ag solution tends to decrease TNF- α expression and showed increasing cell regeneration of the epidermis in terms of epidermal thickness. The conclusion of this study is that combination therapy can accelerate the wound healing process.

Key words: Incision wound, Ag (silver) solution, TNF- α , and epidermal thickness.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT Pencipta alam semesta dan segala isi di dalamnya, Maha Kuasa Allah dalam menentukan apapun sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir skripsi dengan judul **“Pengaruh Pemberian Air Ag (Perak) terhadap Ekspresi TNF- α (*Tumor Necrosis Factor- α*) dan Ketebalan Epidermis pada Proses Penyembuhan Luka Terbuka Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)”** sebagai syarat kelulusan menjadi Sarjana Kedokteran Hewan.

Dalam penyusunan Tugas Akhir ini tidak lepas akan adanya bantuan serta dukungan moril dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis berterima kasih kepada:

1. Edwin Widodo, S.Si., M.Sc., Ph.D dan drh. Dian Vidiastuti, M.Sc selaku Dosen Pembimbing I dan II yang telah memberikan bimbingan, arahan, kesabaran, fasilitas, serta waktu dalam penyusunan skripsi penulis.
2. drh. Wawid Purwatiningsih, M.Vet dan drh. Arfan Lesmana, M.Sc selaku Dosen Penguji I dan II yang telah memberikan kritik dan saran serta arahan dalam penyusunan skripsi penulis.
3. Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono M App. Sc. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya atas kepemimpinan dan dukungan demi kemajuan FKH UB.
4. Ibu Dhita Evi Aryani, S.Farm, Apt., M.Farm.Klin., dan drh. Wawid Purwatiningsih, M.Vet yang telah memperkenalkan penulis untuk ikut serta dalam penelitian ini.

5. Keluarga Besar Kasanudin yang telah memberikan doa, kasih sayang, dukungan, serta pengorbanan kepada penulis.
6. Rekan seperjuangan penelitian Winona Apriliaste, Patricia Erwini, Talitha Nindya, dan Dwika Bagus untuk waktu dan inspirasi yang diberikan untuk penulis.
7. Seluruh dosen yang telah membimbing dan memberikan ilmu selama menjalankan studi di Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Universitas Brawijaya.
8. Seluruh kolega di Program Studi Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya, khususnya teman-teman “CLASY CLASS” Kelas 2015-C, “DNA” angkatan 2015, keluarga besar “VALAK”, “INDRAMUHAMAD”, ”SSI”, dan beberapa asprak histologi yang selalu menjadi semangat untuk meraih kesuksesan bersama.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam penulisan tugas akhir skripsi ini. Oleh karena itu, penulis sangat menerima kritik atau saran yang membangun. Semoga tugas akhir ini dapat memberikan manfaat.

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Kulit	6
2.1.1 Epidermis	6
2.1.2 Dermis	9
2.1.3 Hipodermis	10
2.2 Luka	10
2.3 Penyembuhan Luka	11
2.3.1 Fase Inflamasi	12
2.3.2 Fase Proliferasi	14
2.3.3 Fase Maturasi (<i>Remodelling</i>)	16
2.4 Faktor Kesembuhan Luka	17
2.5 TNF- α	19
2.6 <i>Povidone Iodine</i>	21
2.7 Air Ag (Perak)	22
2.7 Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	23
BAB III. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	25
3.1 Kerangka Konseptual	25
3.2 Hipotesis Penelitian	28

BAB IV. METODELOGI PENELITIAN	29
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	29
4.2 Sampel Penelitian	29
4.3 Rancangan Penelitian	30
4.4 Variabel Penelitian	30
4.5 Alat dan Bahan	31
4.5.1 Alat	31
4.5.2 Bahan	31
4.6 Tahapan Penelitian	32
4.6.1 Persiapan Hewan Model	32
4.6.2 Pembuatan Air Ag (Perak)	32
4.6.3 Perlakuan Insisi Hewan Coba	32
4.6.4 Pengambilan dan Pembuatan Preparat Histopatologi.....	33
4.6.5 Pewarnaan Hematoxyllin- Eosin	34
4.6.6 Pengamatan TNF- α dengan Metode Flowcytometry	35
4.6.7 Analisa Data	36
BAB V. HASIL dan PEMBAHASAN	38
5.1 Pengaruh Pemberian Air Ag terhadap Gambaran Makroskopis	38
5.2 Pengaruh Pemberian Air Ag terhadap Ekspresi TNF- α	42
5.3 Pengaruh Pemberian Air Ag terhadap Ketebalan Epidermis	47
BAB VI. KESIMPULAN dan SARAN	53
6.1 Kesimpulan.....	53
6.2 Saran	53
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN	59



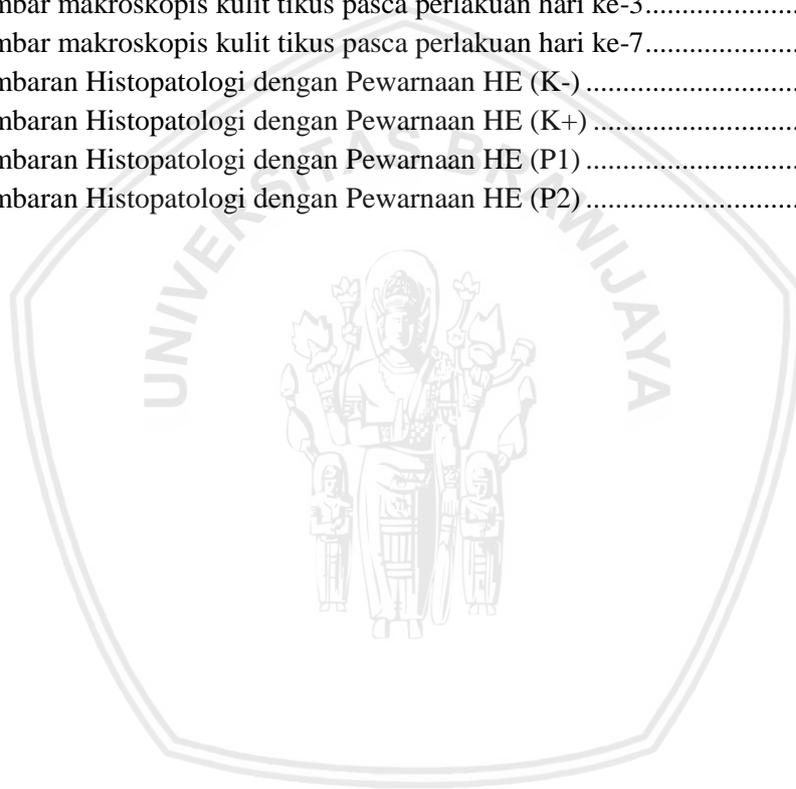
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Rancangan kelompok penelitian.....	30
5.1 Rata-rata kadar relatif TNF- α	44
5.2 Rata- rata ketebalan epidermis	47



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Fase Inflamasi	12
2.2 Fase Proliferasi.....	15
2.3 Fase Maturasi	17
2.4 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	24
5.1 Gambar makroskopis kulit tikus pasca perlakuan hari ke-3.....	38
5.2 Gambar makroskopis kulit tikus pasca perlakuan hari ke-7.....	40
5.3 Gambaran Histopatologi dengan Pewarnaan HE (K-)	48
5.4 Gambaran Histopatologi dengan Pewarnaan HE (K+)	48
5.5 Gambaran Histopatologi dengan Pewarnaan HE (P1)	49
5.6 Gambaran Histopatologi dengan Pewarnaan HE (P2).....	49



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Kerangka Operasional Penelitian	60
2. Diagram Kerja Penelitian	61
2.1 Pembuatan Preparat Organ Kulit	61
2.2 Prosedur Pewarnaan Haemathoxyllen Eosin	62
2.3 Isolasi Organ.....	63
3. Perhitungan Dosis.....	64
4. Sertifikat Laik Etik	65
5. Perkembangan Berat Badan Hewan Coba.....	66
6. Dokumentasi Prosedur <i>Flowcytometry</i>	68
7. Data Uji Statistika Kadar Relatif TNF- α	70
8. Kurva Kadar Relatif TNF- α	72
9. Data Uji Statistika Perhitungan Ketebalan Epidermis.....	74
10. Penyembuhan Luka pada Hari ke-3 dan ke-7.....	76

DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

Simbol/Singkatan	Keterangan
µg	Mikrogram
µl	Mikroliter
ANOVA	<i>Analisis of Variant</i>
BB	Berat Badan
cm	centimeter
GAG	<i>Glycosaminoglican</i>
Gr	Gram
HE	<i>Haematoxylin and eosin</i>
IFN-γ	Interferon Gamma
IL	Interleukin
LPS	Lipopolisakarida
mm	mili meter
mm ²	mili meter persegi
MMP	<i>Matrix Metalloproteinase</i>
NaCl	<i>Natrium Clorida</i>
NK	<i>Natural Killer</i>
PBS	<i>Phosphat buffered saline</i>
pH	<i>Potential of Hydrogen</i>
PMN	<i>Polymorfonucleat</i>
PVP	<i>Polyvinylpyrolidone</i>
RAL	Rancangan Acak Lengkap
SPSS	<i>Statistical Package for The Social Science</i>
TEWL	<i>Transepidermal Water Loss</i>
TGF-β	<i>Tumor Growth Factor Beta</i>
TNF-α	<i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Hewan maupun manusia dalam pekerjaan sehari-hari selalu dihadapkan pada bahaya-bahaya tertentu, misalnya bahaya infeksius, reagensia yang toksik, peralatan listrik maupun peralatan lain yang digunakan sehari-hari sehingga berpotensi mengalami resiko luka (Purbani, 2009). Luka merupakan suatu bentuk kerusakan pada jaringan kulit yang disebabkan kontak dengan sumber panas (seperti bahan kimia, air panas, api, radiasi, dan listrik), hasil tindakan medis, perubahan kondisi fisiologis, maupun gigitan hewan (Reksoprodjo, 2012). Luka menyebabkan gangguan fungsi dan struktur anatomi tubuh, merusak kontinuitas kulit, mukosa, membran, ataupun organ tubuh lain (Purnama *et al.*, 2015). Efek lain dari adanya luka yaitu hilangnya fungsi organ tubuh secara cepat, timbulnya respon stress dari simpatis yang menyebabkan perubahan fisiologis secara cepat, terjadinya pendarahan yang diikuti dengan hemostasis, timbulnya infeksi akibat kontaminasi bakteri di sekitar daerah luka, kematian sel dan jaringan, atau bahkan yang lebih fatal yaitu kematian. Pada luka insisi ukuran luka dari luar (*external component*) lebih panjang daripada kedalaman luka (*internal component*) (Vij, 2011).

Ketika terjadi perlukaan pada jaringan kulit, proses kesembuhan dan regenerasi sel terjadi secara otomatis dan respon fisiologis tubuh (Lostapa *et al.*, 2016). Proses penyembuhan luka terjadi secara normal tanpa bantuan,

walaupun beberapa bahan perawatan dapat membantu untuk mendukung proses penyembuhan jaringan (Taylor, 1997). Proses penyembuhan luka secara fisiologis terjadi melalui beberapa fase, yaitu inflamasi, proliferasi, dan *remodeling* (maturasi) (Sugiaman, 2011). Proses inflamasi dimulai setelah pembentukan pembekuan darah, proses ini terjadi segera setelah adanya insisi dibagian kulit. Pada proses ini diperlukan mediator pro- inflamasi seperti *Tumor Necrotic Factor* (TNF- α). TNF- α merupakan mediator pro-inflamasi yang dirangsang oleh netrofil yang bermanfaat untuk merangsang sel inflamasi, fibroblast dan sel epitel. Semakin tinggi ekspresi TNF- α pada luka, menandakan proses inflamasi sedang berlangsung, sedangkan apabila ekspresi TNF- α menurun, menandakan luka mulai membaik. Bertambah baik dan maksimal kerja mediator pro-inflamasi untuk meningkatkan kerja sel inflamasi pada fase inflamasi, maka pembersihan luka semakin baik dan semakin cepat pula penyembuhan luka (Granick dan Gamelli, 2007).

Tujuan dari penanganan luka yaitu untuk menyembuhkan luka lebih cepat dengan meminimalkan rasa sakit, bekas luka, dan ketidaknyamanan pasien, selain itu juga untuk mencegah terjadinya kerusakan pada kulit, membran mukosa atau jaringan lain yang disebabkan oleh adanya trauma, fraktur, luka operasi yang dapat merusak permukaan kulit (De Jong, 2010). Pada kasus luka terbuka sering terjadi adanya infeksi yang disebabkan masuknya bakteri pada luka, keadaan akan lebih buruk bila tidak segera diberi antiseptik dengan segera. Antiseptik yang bersifat kimia seperti *Povidon Iodine* (Purbani, 2009). *Povidon Iodine* merupakan bahan yang

paling sering digunakan sebagai primary dressing pada perawatan luka. *Povidon Iodine* mengandung iodine bebas dan polyvinylpyrrolidone (PVP) yang memiliki efek anti mikroba kuat, namun bahan ini juga diketahui memiliki efek toksik terhadap sel-sel tubuh. *Povidon Iodine* 10% dapat menyebabkan dermatitis kontak pada kulit, bersifat toksik terhadap fibroblast dan leukosit, menghambat neutrophil dan menurunkan monosit sehingga memperlambat proses penyembuhan luka (Zakariya *et al.*, 2009).

Penggunaan partikel logam dalam penyembuhan luka masih sangat sedikit digunakan, khususnya di Indonesia. Perlu diketahui bahwa tanah menyimpan banyak sekali biomaterial salah satu diantaranya yaitu perak (Ag). Nardwony *et al* (2010) menjelaskan, air Ag (Perak) dapat digunakan sebagai bahan untuk menyembuhkan luka, kandungan antibakteri yang tinggi pada air Ag dapat digunakan untuk mengobati jaringan epitel yang rusak pada kulit. Aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh air Ag (perak) secara bersamaan akan menginduksi apoptosis pada sel-sel yang mengalami inflamasi sehingga luka akan segera berlanjut pada fase selanjutnya hingga luka menutup. Air perak juga akan menginduksi jumlah sel fibroblas, mengurangi infiltrasi netrofil dan makrofag pada luka insisi, dalam penyembuhan luka (Pereira and Bartolo, 2016).

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini bertujuan mengkaji respon terapi pemberian Ag (perak) pada penyembuhan luka insisi berdasarkan ekspresi TNF- α dan ketebalan epidermis pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Hasil dari penelitian diharapkan dapat dijadikan sebagai salah satu alternatif dalam penyembuhan luka.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah yang didapat adalah:

1. Apakah pemberian air Ag (perak) secara topikal dapat mempengaruhi ekspresi TNF- α pada kulit hewan coba?
2. Apakah pemberian Ag (perak) secara topikal dapat mempengaruhi ketebalan epidermis pada kulit hewan coba?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, penelitian ini dibatasi pada hal-hal berikut ini:

1. Hewan model yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar jantan dengan umur 8 – 10 minggu, dengan berat badan 150 – 250 g (Widyaastuti *et al*, 2011), yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Penggunaan hewan model telah mendapat sertifikasi laik etik No. 1020-KEP-UB
2. Air Ag (perak) yang digunakan untuk terapi didapatkan dari produk yang diolah di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya dengan kadar 20 ppm.

3. Luka insisi dilakukan pada bagian dorsal sepanjang 2 cm, dengan kedalaman hingga mencapai subkutane (bagian m. Panniculus carnosus).
4. Pengukuran panjang luka dilakukan dengan menggunakan mistar yang telah dibersihkan dengan alkohol 10%.
5. *Blade* yang digunakan untuk insisi berukuran 24 G.
6. Variabel yang diamati adalah ketebalan epidermis dan ekspresi TNF- α
7. Ketebalan epidermis dihitung menggunakan pewarnaan *Haematoxylin Eosin* (HE) dan epidermis yang tumbuh dibagian tepi luka diukur menggunakan *microruller*.
8. Ekspresi TNF- α yang dianalisa menggunakan metode *flowcytometry*.

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka tujuan penelitian adalah:

1. Mengetahui pengaruh pemberian air Ag (perak) secara topikal terhadap ekspresi TNF- α pada kulit hewan coba.
2. Mengetahui pengaruh pemberian Ag (perak) secara topikal terhadap ketebalan epidermis pada kulit hewan coba.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk menunjukkan potensi air Ag (perak), terutama dalam penyembuhan luka serta meningkatkan pengembangan penelitian mengenai pemanfaatan air Ag (perak) dalam penyembuhan luka yang masih sangat minim di Indonesia.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit

Kulit merupakan organ tubuh yang terletak paling luar dari tubuh manusia. Kulit dikatakan sehat dan normal apabila lapisan luar kulit mengandung lebih dari 10% air. Hal itu disebabkan oleh karena adanya regulasi keseimbangan cairan didalam kulit. Kulit tersusun oleh banyak macam jaringan, termasuk pembuluh darah, kelenjar keringat, saraf, jaringan ikat, otot polos, dan lemak (Nurzanty, 2015).

Kulit mempunyai beberapa fungsi diantara lain yaitu sebagai fungsi proteksi dengan menjaga bagian dalam tubuh dari gangguan fisis maupun mekanis, fungsi absorpsi, fungsi ekskresi, fungsi termoregulasi (pengaturan suhu tubuh), dengan mengeluarkan keringat dan mengerutkannya (kontraksi oleh otot) pembuluh darah kulit, dan fungsi pembentukan pigmen, sel pembentuk pigmen (melanosit).

Kulit terdiri atas 2 lapisan utama yaitu epidermis dan dermis.

2.1.1 Epidermis

Epidermis merupakan lapisan kulit dan terdiri atas epitel berlapis gepeng dengan lapisan tanduk. Epidermis hanya terdiri jaringan epitel, tidak mempunyai pembuluh darah maupun limf, oleh karena itu semua nutrisi dan oksigen diperoleh dari kapiler pada lapisan dermis. Menurut Kalangi (2013), epidermis terdiri atas 5 lapisan yaitu,

dari dalam ke luar, stratum basal, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lusidum, dan stratum korneum.

a. Stratum basal (lapis basal, lapis benih)

Lapisan ini terletak paling dalam dan terdiri atas satu lapis sel yang tersusun berderet-deret di atas membran basal dan melekat pada dermis di bawahnya. Sel-selnya kuboid atau silindris. Intinya besar, jika dibanding ukuran selnya, dan sitoplasmanya basofilik. Lapisan sel basal berfungsi melindungi epidermis dengan terus menerus memperbarui selnya. Lapisan ini mengandung banyak keratinosit. Selain itu, juga terdapat sel melanosit untuk mensintesis melanin dan sel merkel untuk sensasi. Pergerakan ini dipercepat oleh adanya luka, dan regenerasinya dalam keadaan normal cepat.

b. Stratum spinosum (lapis taju)

Lapisan ini terdiri atas beberapa lapis sel yang besar-besar berbentuk poligonal dengan inti lonjong. Sitoplasmanya kebiruan. Bila dilakukan pengamatan dengan pembesaran obyektif 45x, maka pada dinding sel yang berbatasan dengan sel di sebelahnya akan terlihat taju-taju yang seolah-olah menghubungkan sel yang satu dengan yang lainnya. Lapisan ini berfungsi untuk menahan gesekan dan tekanan dari luar, tebal dan terdapat di daerah tubuh yang banyak bersentuhan atau menahan beban dan tekanan seperti tumit dan pangkal telapak kaki (Kalangi, 2013).

c. Stratum granulosum (lapis berbutir)

Lapisan ini terdiri atas 2-4 lapis sel gepeng yang mengandung banyak granula basofilik yang disebut granula keratohialin, yang dengan mikroskop elektron ternyata merupakan partikel amorf tanpa membran tetapi dikelilingi ribosom. Mikrofilamen melekat pada permukaan granula. Lapisan ini menghalangi masuknya benda asing, kuman, dan bahan kimia masuk ke dalam tubuh (Kalangi, 2013).

d. Stratum lusidum (lapis bening)

Lapisan ini dibentuk oleh 2-3 lapisan sel gepeng yang tembus cahaya, dan agak eosinofilik. Tak ada inti maupun organel pada sel-sel lapisan ini. Walaupun ada sedikit desmosom, tetapi pada lapisan ini adhesi kurang sehingga pada sajian seringkali tampak garis celah yang memisahkan stratum korneum dari lapisan lain di bawahnya. Lapisan ini ditemukan pada daerah tubuh yang berkulit tebal seperti telapak kaki dan telapak tangan (Kalangi, 2013).

e. Stratum korneum (lapis tanduk)

Lapisan ini terdiri atas banyak lapisan sel-sel mati, pipih dan tidak berinti serta sitoplasmanya digantikan oleh keratin. Lapisan ini memberikan perlindungan mekanik pada kulit dan sebagai barier untuk mencegah kehilangan air pada kulit atau untuk mencegah terjadi *transepidermal water loss* (TEWL) (Nuzantry, 2013).

2.1.2 Dermis

Dermis adalah lapisan tebal jaringan ikat tempat melekatnya epidermis (Perdanakusuma, 2007). Menurut Suriadi (2004), lapisan dermis lebih tebal dari pada lapisan epidermis. Menurut Kalangi (2013), lapisan ini terdiri atas dua stratum yaitu stratum papilaris di bagian luar dan stratum retikularis di bagian dalam.

Stratum papilaris tersusun lebih longgar, ditandai oleh adanya papila dermis yang jumlahnya bervariasi antara 50–250/mm². Jumlahnya terbanyak dan lebih dalam pada daerah di mana tekanan paling besar, seperti pada telapak kaki. Sebagian besar papila mengandung pembuluh-pembuluh kapiler yang memberi nutrisi pada epitel di atasnya. Papila lainnya mengandung badan akhir saraf sensoris yaitu badan Meissner. Tepat di bawah epidermis serat-serat kolagen tersusun rapat (Kalangi, 2013).

Stratum retikularis merupakan bagian yang menonjol ke arah subkutan. Lapisan ini lebih tebal dan dalam. Berkas-berkas kolagen kasar dan sejumlah kecil serat elastin membentuk jalinan yang padat ireguler. Pada bagian lebih dalam, jalinan lebih terbuka, rongga-rongga diantaranya terisi jaringan lemak, kelenjar keringat dan sebacea, serta folikel rambut. Lapisan ini terdiri atas serabut – serabut penunjang misalnya serabut kolagen, elastin, dan retikulin. Dasar (matriks) lapisan ini terdiri atas cairan kental asam hialuronat

dan kondroitin sulfat, di bagian ini terdapat pula fibroblas. Serabut kolagen dibentuk oleh fibroblas, membentuk ikatan (bundel) yang mengandung hidroksi prolin dan hidroksisilin (Kalangi, 2013).

2.1.3 Hipodermis

Lapisan hipodermis merupakan lapisan yang berada pada dasar dermis. Lapisan ini terdiri atas jaringan adipose dan jaringan ikat yang berfungsi sebagai peredam kejut, selain itu lapisan ini juga berfungsi sebagai tempat penyimpanan kalori. Ujung- ujung syaraf tepi, pembuluh darah, serta saluran getah bening (Syarif, 2007).

2.2 Luka

Luka merupakan kerusakan kontinuitas kulit, mukosa, membran, dan tulang atau organ tubuh lain yang dapat terjadi ketika kulit terpapar suhu, pH, zat kimia, gesekan, trauma tekanan, maupun radiasi (Mansjoerl, 2000). Luka juga dapat disebabkan oleh ledakan, sengatan listrik, maupun gigitan hewan. Besar suatu luka dimulai dari lapisan epitel dan lebih dalam hingga lapisan subkutan yang kemudian mencederai struktur lain seperti otot, pembuluh darah, dan syaraf. Jaringan yang rusak ini kemudian mengalami proses penyembuhan luka.

Berdasarkan jenis luka, luka diklasifikasikan menjadi luka terbuka dan luka tertutup. Luka terbuka adalah luka dimana kulit atau jaringan di bawahnya mengalami kerusakan. Penyebab luka ini adalah benda tajam, tembakan, benturan benda keras, dan lain- lain. Beberapa contoh luka terbuka

diantaranya yaitu luka lecet (*ekskoriasi*), luka gigitan (*vulnus marsum*), luka iris/sayat (*vulnus scisum*), luka bacok (*vulnus caesum*), luka robek (*vulnus traumaticum*), luka tembak (*vulnus sclopetinum*), luka hancur (*vulnus lacerum*) dan luka bakar. Luka tertutup ialah luka yang diakibatkan oleh trauma benda tumpul. Luka tertutup umumnya dikenal sebagai luka memar yang dapat digolongkan menjadi dua jenis yaitu kontusio dan hematoma (Dorland, 2006).

Kartika (2015) menambahkan, berdasarkan onset terjadinya luka, luka diklasifikasikan sebagai berikut luka akut dan kronis. Luka akut disebabkan oleh trauma atau pembedahan. Waktu penyembuhan relatif cepat, dengan penyembuhan secara primer. Penyembuhan pada luka ini terjadi dalam 2-3 minggu. Luka kronis yang merupakan segala jenis luka yang tidak ada tanda-tanda sembuh dalam jangka lebih dari 4-6 minggu. Luka ini dapat disebabkan oleh luka bakar yang luas, gangguan sirkulasi, tekanan yang berlangsung lama (*pressure ulcers/ ulkus dekubitus*), maupun ulkus diabetik.

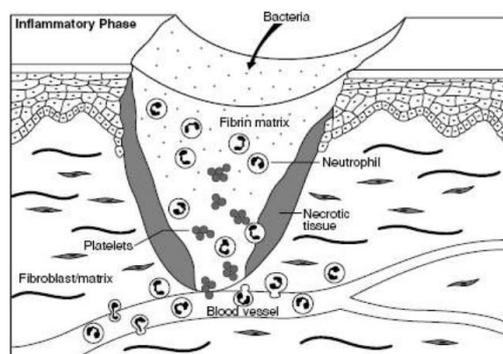
2.3 Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka merupakan proses kompleks dan sistematis yang dibagi dalam tiga fase penyembuhan, yaitu inflamasi, proliferasi, dan remodelling. Penyembuhan luka terkait dengan regenerasi sel sampai fungsi organ tubuh kembali pulih, ditunjukkan dengan tanda-tanda dan respon yang berurutan dimana sel bersama-sama berinteraksi, melakukan tugas dan berfungsi secara normal (Tari dkk, 2013).

2.3.1 Fase Inflamasi

Fase inflamasi terjadi pada hari 0 – 5. Luka karena trauma atau luka karena pembedahan menimbulkan kerusakan jaringan dan mengakibatkan perdarahan. Tujuan utama fase ini adalah hemostasis, hilangnya jaringan yang mati dan pencegahan kolonisasi maupun infeksi oleh agen mikrobial patogen (Gurtner, 2007).

Sugiaman (2011) menyebutkan bahwa, inflamasi ditandai oleh beberapa hal diantaranya yaitu rubor (kemerahan) yang terjadi karena banyak darah mengalir ke dalam microsomal local pada tempat peradangan, calor (panas) dimana terjadi karena lebih banyak darah yang disalurkan pada tempat peradangan daripada yang disalurkan ke daerah normal, dolor (nyeri) dikarenakan adanya pembengkakan pada jaringan mengakibatkan peningkatan tekanan lokal dan adanya pengeluaran zat histamin dan zat kimia bioaktif, tumor (pembengkakan) karena pengeluaran cairan- cairan ke jaringan interstitial, serta *function laesa* (perubahan fungsi) karena terganggunya fungsi organ tubuh.



Gambar 2.1 Fase Inflamasi (Gurtner, 2007)

Pembuluh darah yang cidera mengakibatkan termobilisasinya berbagai elemen darah ke lokasi luka. Agregasi platelet akan membentuk plak pada pembuluh darah yang cidera. Pada proses ini platelet mengalami degranulasi dan melepaskan beberapa *growth factor*, seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF) dan *transforming growth factor- β* (TGF- β). Hasil akhir kaskade koagulasi jalur intrinsik dan ekstrinsik adalah konversi fibrinogen menjadi fibrin (Gurtner, 2007).

Mediator inflamasi berupa prostaglandin, *interleukin-1* (IL-1), *tumor necrotizing factor* (TNF), TGF- β dan produk degradasi bakteri seperti lipopolisakarida (LPS) akan menarik sel netrofil sehingga menginfiltrasi matriks fibrin dan mengisi kavitas luka. Sularsih, dkk (2016) menambahkan, TNF- α juga akan mengubah kapiler di dekatnya sehingga sirkulasi sel darah putih dapat dengan mudah menuju ke tempat infeksi. Migrasi netrofil ke luka menyebabkan 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.

Makrofag juga akan mengikuti netrofil menuju luka setelah 48-72 jam dan menjadi sel dominan setelah hari ke-3 pasca cidera.

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 (Regan and Barbul, 1994). 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).

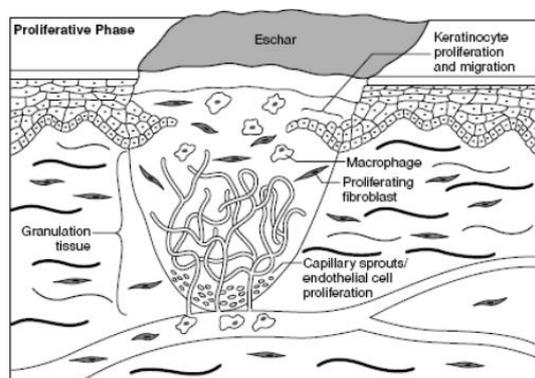
2.3.2 Fase Proliferasi

Fase ini terjadi pada hari ke 3 – 14 dari akhir fase inflamasi sampai kira-kira akhir minggu ketiga. Fase proliferasi ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi pada luka. 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, 2007).

Fibroblas memproduksi matriks ekstraseluler, kolagen primer, dan fibronectin untuk migrasi dan proliferasi sel. Fibroblas berasal dari sel mesenkim yang belum berdiferensiasi terutama yang berhubungan dengan lapisan adventisia, pertumbuhannya disebabkan oleh sitokin yang diproduksi oleh makrofag dan limfosit. Fibroblas menghasilkan mukopolisakarida, asam aminoglisin, dan prolin yang merupakan bahan dasar serat kolagen yang akan mempertautkan tepi luka. Fibroblas

mencerna matriks fibrin dan menggantikannya dengan *glycosaminoglican* (GAG) dengan bantuan *matrix metalloproteinase* (MMP). Matriks ekstraselluler akan digantikan oleh kolagen tipe III yang juga diproduksi oleh fibroblas seiring waktu. Kolagen ini merupakan komponen yang tersusun atas 33% glisin, 25% hidroksiprolin dan senyawa lain seperti air, glukosa dan galaktosa.

Proses angiogenesis juga terjadi pada fase ini yang ditandai dengan terbentuknya formasi pembuluh darah baru dan dimulainya pertumbuhan saraf pada ujung luka (Sugiaman, 2011). Keratinosit berproliferasi dan bermigrasi dari tepi luka untuk melakukan epitelisasi menutup permukaan luka, menyediakan barrier pertahanan alami terhadap kontaminan dan infeksi dari luar. Epitel tepi luka yang terdiri atas sel basal, terlepas dari dasarnya dan berpindah mengisi permukaan luka. Tempatnya kemudian diisi oleh sel baru yang terbentuk dari proses mitosis. Terhentinya proses proliferasi yaitu saat sel epitel saling menyentuh dan menutup permukaan luka, sehingga proses fibroplasia akan terhenti dan berlanjut fase maturasi (Sugiaman, 2011).

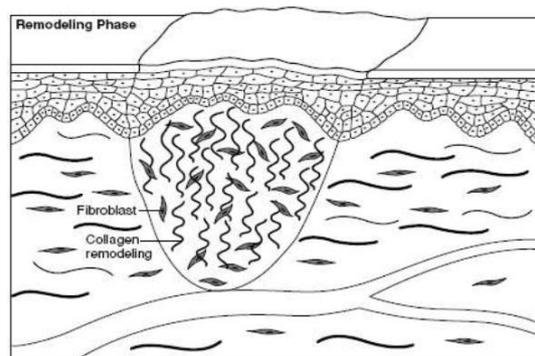


Gambar 2.2 Fase Proliferasi (Gurtner, 2007)

2.3.3 Fase Maturasi (*Remodeling*)

Fase ini merupakan fase terakhir dari proses penyembuhan luka pada jaringan lunak dan kadang-kadang disebut fase pematangan luka. Pada fase ini terjadi perubahan bentuk, kepadatan, dan kekuatan luka. Kontraksi luka terjadi akibat adanya komponen mikrofilamen aktin intraselluler. MMP kemudian akan menginisiasi pergantian kolagen tipe III menjadi kolagen tipe I. Pada umumnya 80% dari kolagen pada kulit adalah kolagen tipe I yang memungkinkan adanya *tensile strenght* pada kulit (Gurtner, 2007).

Selama proses ini, dihasilkan jaringan parut yang pucat, tipis, lemas, dan mudah digerakkan dari dasarnya. Terlihat pengerutan maksimal dari luka, terjadi peningkatan kekuatan luka, dan berkurangnya jumlah makrofag dan fibroblas yang berakibat terhadap penurunan jumlah kolagen. Secara mikroskopis terjadi perubahan dalam susunan serat kolagen menjadi lebih terorganisasi (Werner and Richard, 2003). Tahap maturasi berkembang dengan pembentukan jaringan penghubung selular dan penguatan epitel baru yang ditentukan oleh besarnya luka. Jaringan granular selular berubah menjadi massa aselular dalam waktu beberapa bulan sampai 2 tahun (Zhang *et al*, 2015). Pada akhir fase ini akan didapatkan parut luka matang dengan kekuatan 80% dari kulit normal (Sugiaman, 2011).



Gambar 2.3 Fase Maturasi (Gurtner, 2007)

2.4 Faktor yang Mempengaruhi Kesembuhan Luka

Kartika (2015) menjelaskan bahwa, proses penyembuhan luka dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya yaitu:

a. Status imunologi atau kekebalan tubuh

Penyembuhan luka merupakan proses biologis yang kompleks, terdiri dari serangkaian peristiwa berurutan bertujuan untuk memperbaiki jaringan yang terluka. Peran sistem imun dalam proses ini tidak hanya untuk mengenali atau memerangi antigen baru dari luka, tetapi juga untuk proses regenerasi sel (Kartika, 2015).

b. Kadar gula darah

Peningkatan gula darah akibat terjadinya hambatan sekresi insulin, seperti pada penderita diabetes mellitus, juga menyebabkan nutrisi tidak dapat masuk ke dalam sel, akibatnya terjadi penurunan protein dan kalori tubuh. Luka yang terjadi sering iskemia karena gangguan pada pembuluh darah kecil sehingga mengganggu mikrosirkulasi dan menglikasi hemoglobin sehingga menyebabkan hemoglobin memiliki

afinitas lebih tinggi terhadap oksigen dan tidak segera melepaskan oksigen ke jaringan yang memerlukan. Konsekuensi hiperglikemia juga termasuk penghambatan aktivitas makrofag dan peningkatan risiko infeksi pada luka (Kartika, 2015).

c. Nutrisi

Nutrisi yang optimal penting untuk semua tahap penyembuhan karena kebutuhan metabolisme meningkat. Kekurangan vitamin A dan C dalam jangka panjang mengakibatkan jaringan ikat tidak terbentuk dengan baik dan sangat mempengaruhi penyembuhan karena merupakan kofaktor yang diperlukan untuk sintesis kolagen. Mores (2013) menambahkan bahwa vitamin C berguna untuk sintesis kolagen, vitamin A meningkatkan epitelisasi, dan seng (zinc) diperlukan untuk mitosis sel dan proliferasi sel. Nutrien lain, termasuk besi, seng, mangan, dan tembaga juga diperlukan sebagai kofaktor untuk sintesis kolagen. Malnutrisi meningkatkan risiko terjadinya infeksi luka, memperlambat penyembuhan, dan menurunkan kekuatan regangan luka.

d. Kortikosteroid

Steroid memiliki efek antagonis terhadap faktor-faktor pertumbuhan dan deposisi kolagen dalam penyembuhan luka. Steroid juga menekan sistem kekebalan tubuh/sistem imun yang sangat dibutuhkan dalam penyembuhan luka. Selain itu, steroid juga mencegah makrofag bermigrasi ke tempat terjadinya luka, menghambat pelepasan kolagenase dan aktivator plasminogen, serta menghambat migrasi fibroblas ke dalam

luka selama tahap proliferaatif dan menghambat epitelialisasi (Kartika, 2015).

e. Suplai oksigen dan vaskulerisasi

Oksigen merupakan prasyarat untuk proses reparatif, seperti proliferasi sel, pertahanan bakteri, angiogenesis, dan sintesis kolagen. Penyembuhan luka akan terhambat bila terjadi hipoksia jaringan (Kartika, 2015).

2.5 TNF- α (*Tumor Necrosis Factor- Alpha*)

Menurut Abbas *et al* (2007), secara fungsional sitokin dapat dibagi atas 3 kategori berdasarkan kerja biologis utamanya diantaranya yaitu mediator dan regulator yang berasal dari *innate immunity* yang dihasilkan oleh fagosit mononuklear sebagai respon terhadap agen infeksius, misalnya TNF- α , IL-1, IL-12 dan IFN- γ ; selanjutnya yaitu mediator dan regulator *adaptive immunity* yang dihasilkan oleh limfosit T sebagai respon terhadap pengenalan spesifik antigen asing, misalnya IL-2, IL-4, IL-5 dan IFN- γ ; serta stimulator hematopoiesis yang dihasilkan oleh sel stroma sumsum tulang, lekosit dan sel-sel lainnya dan berfungsi merangsang pertumbuhan dan diferensiasi leukosit *immature*.

Tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) merupakan sitokin utama pada respon inflamasi akut terhadap bakteri gram negatif dan mikroba lainnya. Infeksi yang berat dapat memicu produksi TNF dalam jumlah besar yang menimbulkan reaksi sistemik. Soeroso (2007), menambahkan terdapat dua

bentuk TNF, yaitu TNF- α dan TNF- β . Sumber utama TNF- α ialah fagosit mononuclear dan sel T yang diaktifkan antigen, sel NK, dan sel mast. Pembentukannya terjadi akibat respons terhadap rangsangan bakteri, virus, maupun sitokin lain, misalnya IL-1, IL-2, dan IFN- γ . Lipopolisakarida merupakan rangsangan poten terhadap makrofag untuk menyekresi TNF- α . IFN- γ yang diproduksi sel T dan sel NK juga merangsang makrofag antara lain meningkatkan sintesis TNF- α (Baratawidjaya dan Rengganis, 2010).

Selama terjadi infeksi, tubuh mengenali bakteri patogen yang mengarah kepada *cellular recruitment* dan timbulnya respon sitokin proinflamatori termasuk IL-6 dan TNF- α . Respon inflamasi ini berlanjut ke pembersihan bakteri patogen dan memungkinkan tubuh kembali ke keadaan homeostasis imunitas dan penderita selamat (D'Elia *et al*, 2013). TNF- α mempunyai beberapa fungsi dalam proses inflamasi, yaitu dapat meningkatkan peran pro trombotik dan merangsang molekul adhesi dari sel leukosit serta menginduksi sel endotel, berperan dalam mengatur aktivitas makrofag dan respon imun dalam jaringan dengan merangsang faktor pertumbuhan dan sitokin lain, berfungsi sebagai regulator dari hematopoetik serta komitogen untuk sel T dan sel B serta aktivitas sel neutrophil dan makrofag. TNF- α juga memiliki fungsi tambahan yang menguntungkan termasuk peranannya dalam respon imun terhadap bakteri, virus, jamur, dan invasi parasite (Supit *et al*, 2015). TNF- α juga berfungsi sebagai migrasi *polymorfonucleat* (PMN), apoptosis sel, sintesa sel *matrix metalloproteinase*

(MMP), stimulasi produksi macam macam protease khususnya MMPs yang berpengaruh terhadap apoptosis fibroblast.

Bertambah baik dan maksimal kerja mediator pro-inflamasi untuk meningkatkan kerja sel inflamasi pada fase inflamasi, maka proses pembersihan luka semakin baik sehingga akan mempercepat proses penyembuhan luka. Semakin tinggi kadar TNF- α pada luka, menandakan proses inflamasi sedang berlangsung, kalau kadar TNF- α menurun, menandakan luka mulai membaik (Granick dan Gamelli, 2007).

2.6 Povidone Iodine

Povidone Iodine merupakan senyawa anti bakteri lokal yang efektif membunuh bakteri dan spora serta digunakan secara luas untuk antiseptik kulit. Secara umum, *Povidone Iodine* mempunyai sifat antiseptik (membunuh bakteri) baik bakteri gram positif maupun gram negatif. Mekanisme kerja *Povidone Iodine* dimulai setelah kontak langsung dengan jaringan maka material *iodine* akan dilepaskan secara perlahan-lahan dengan aktifitas menghambat metabolisme enzim bakteri sehingga mengganggu multiplikasi bakteri yang mengakibatkan bakteri menjadi lemah (Tjay dan Rahardja, 2007).

Povidone Iodine juga bersifat iritatif dan lebih toksik bila masuk ke pembuluh darah. *Povidone Iodine* yang biasa digunakan dalam perawatan luka hanya 10%. *Povidone Iodine* 10% dapat mengurangi populasi bakteri hingga 85%, efektif untuk satu jam dan kembali kepopulasi normal setelah 8 jam. *Povidone Iodine* dalam konsentrasi tinggi dapat menyebabkan iritasi kulit.

Povidone Iodine dalam penggunaan yang berlebihan juga dapat menghambat granulasi luka, iodine dalam menginflamasi akan menghambat interleukin-1 dan interleukin-8 (Tjay dan Rahardja, 2007).

2.7 Air Ag (Perak)

Perak telah banyak digunakan dalam penyembuhan luka. Ion perak digunakan dalam formula komposit resin gigi, dalam lapisan perangkat medis; sebagai pelapis bakterisida dalam filter air. Dalam bidang medis, perak dalam bentuk nanopartikel diaplikasikan dalam pembalut luka, instrumen bedah dan prostesis tulang. Perak banyak dimanfaatkan karena mempunyai efek anti mikroba (ion-ion perak menunjukkan efek inhibisi yang kuat terhadap bakteri) (Elumalai *et al*, 2011).

Terapi perak memiliki beberapa manfaat, diantaranya dapat meningkatkan efek antibakteri dengan mengikat dinding serta membran sel bakteri sehingga menghambat respirasi bakteri dan mengurangi kemungkinan resisten terhadap bakteri, efektif dalam melawan organisme yang resisten terhadap berbagai jenis obat, serta memiliki toksisitas yang rendah. Menurut Li *et al* (2008), mekanisme anti bakteri perak yaitu adhesi terhadap permukaan bakteri yang mengubah sifat membrane kemudian partikel perak akan masuk ke dalam sel bakteri menyebabkan kerusakan DNA. Ion perak menyebabkan penghilangan ion K^+ dari bakteri, kemudian plasma bakteri atau membrane sitoplasma yang terasosiasi dengan beberapa enzim DNA yang merupakan target ion perak. Ketika pertumbuhan bakteri terhambat, ion perak terdeposisi

ke dalam vakuola dan dinding sel seperti granula. Ion perak menghambat divisi sel dan merusak membrane sel dan isi sel bakteri.

Pemberian air Ag (perak) akan mengurangi pelepasan sitrokin pro-inflamasi seperti TNF- α (Sharma *et al*, 2016). Pereira and Bartolo (2016), menambahkan bahwa material dalam perak akan menambah jumlah sel fibroblast pada sel, mengurangi infiltrasi netrofil dan makrofag pada luka insisi, selain itu juga akan menambah cepat dalam perbaikan epidermis. Perak juga diketahui akan mengurangi reglasi MMPs dalam proses penyembuhan luka dan meningkatkan apoptosis sel (Atiyeh *et al*, 2007).

2.8 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar menurut Myres & Armitage (2004):

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Sciurognathi
Famili	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>
Galur/Strain	: Wistar



Gambar 2.4 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Koolhaas, 2010)

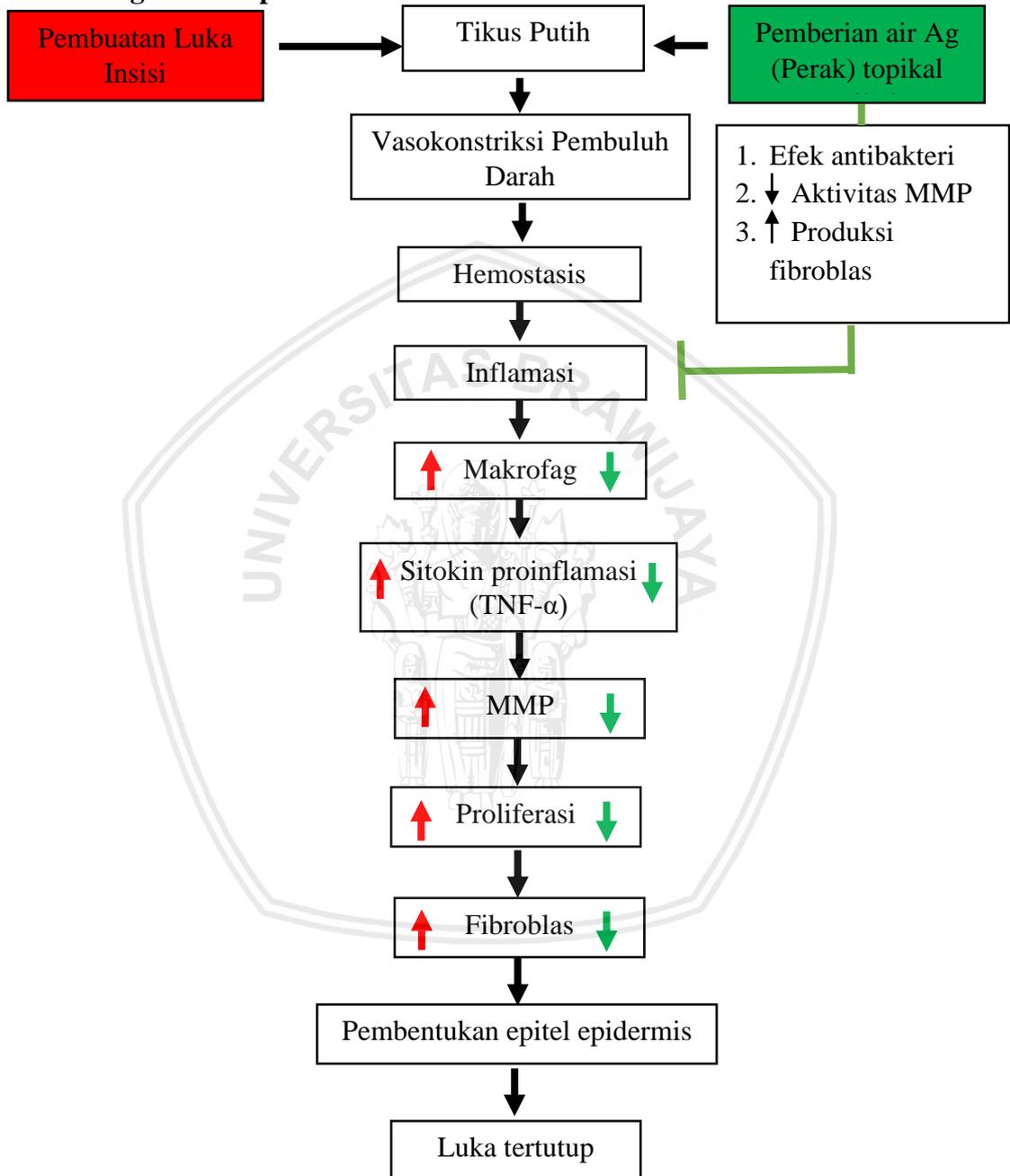
Penelitian ini dilakukan menggunakan tikus putih jantan sebagai hewan percobaan dikarenakan tikus putih jantan dapat memberikan hasil penelitian yang lebih stabil karena tidak dipengaruhi oleh adanya siklus menstruasi dan kehamilan seperti pada tikus putih betina. Tikus putih jantan juga mempunyai kecepatan metabolisme obat yang lebih cepat dan kondisi biologis tubuh yang lebih stabil dibanding tikus betina (Kumar dkk, 2012).

Galur tikus yang sering digunakan untuk penelitian adalah galur Wistar. Ciri-ciri galur Wistar, yaitu bertubuh panjang dengan kepala lebih sempit, telinga tebal dan pendek dengan rambut halus, mata berwarna merah, dan ekornya tidak pernah lebih panjang dari tubuhnya. Bobot badan tikus jantan pada umur dua belas minggu mencapai 240 g sedangkan betinanya mencapai 200 g (Sirois, 2005).

Tikus putih sebagai hewan percobaan relatif resisten terhadap infeksi dan sangat cerdas. Tikus putih tidak bersifat fotofobik seperti halnya mencit dan kecenderungan untuk berkumpul dengan sesamanya tidak begitu besar. Aktifitasnya tidak terganggu oleh adanya manusia di sekitarnya (Kumar dkk, 2012).

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian.

Keterangan :

↓ : Patomekanisme

↑ : Peningkatan

■ : Terapi

⊥ : Menghambat

↓ : Penurunan

■ : Paparan

Perlakuan luka insisi yang diberikan kepada tikus menyebabkan terpotongnya pembuluh darah serta kerusakan pada jaringan. Proses ini akan mengakibatkan darah keluar secara berlebihan, dan memodulasi adanya antigen pada daerah yang mengalami luka (Purnama dkk, 2015), sehingga untuk mencegah keluarnya darah berlebih maka tubuh akan merespon dengan mengeluarkan platelet dan menyebabkan terjadinya hemostasis. Platelet dengan cepat akan menyebabkan vasokonstriksi selama beberapa detik kemudian disusul dengan vasodilatasi yang menyebabkan darah semakin cepat menuju ke area luka. Respon hemostasis oleh tubuh kemudian akan dilanjutkan dengan fase inflamasi. Tujuan dari fase ini yaitu untuk menghilangkan jaringan yang mati dan pencegahan kolonisasi maupun infeksi oleh agen mikrobial pathogen.

Fase ini ditunjukkan dengan semakin banyak aliran darah ke sekitar luka yang akan menyebabkan daerah disekitar luka mengalami pembengkakan, kemerahan, demam, dan ketidaknyamanan. Kemerahan pada luka disebabkan karena luka mengalami peradangan, karena reaksi platelet yang teraktifasi dan pembuluh darah yang banyak mengeluarkan protein fibrinogen. Kerusakan jaringan pada jaringan menginisiasi pengeluaran mediator inflamasi seperti prostaglandin, IL-1, TNF, TGF, dan produk degradasi bakteri seperti LPS yang akan menarik sel netrofil ke dalam luka untuk menginfiltrasi matriks fibrin dan mengisi kavitas luka. Makrofag juga akan mengikuti netrofil menuju luka, selain itu juga berfungsi dalam memproduksi berbagai *growth factor* dalam produksi matriks ekstraseluler oleh fibroblas dan pembentukan neovaskularisasi. Apabila proses inflamasi selesai, akan berlanjut pada proses selanjutnya yaitu proliferasi.

Proses ini ditandai dengan adanya jaringan granulasi yang tersusun dari kumpulan fibroblas. Fibroblas memproduksi matriks ekstraseluler seperti matriks metalloproteinase. Matriks metalloproteinase merupakan enzim yang mendegradasi kolagen. Proses penyembuhan luka berjalan lambat apabila terjadi peningkatan MMP, sitokin, dan radikal bebas yang menyebabkan kerusakan pada jaringan.

Pemberian air Ag (perak) memiliki efek antibakteri yang dapat mempercepat proses penyembuhan luka. Mekanisme antibakteri oleh air perak dimulai saat terjadi luka, dimana saat terjadi perlukaan terutama luka terbuka maka potensi adanya infeksi oleh bakteri sangat mungkin terjadi, selanjutnya ion perak akan melekat pada membran sel bakteri dan menembus dinding sel bakteri. Ion perak akan berinteraksi dengan protein pada bakteri seperti fosfor yang mengandung komponen DNA. Ion perak akan menyerang bakteri pada proses pembelahan sel bakteri dan menyebabkan kematian pada sel bakteri. Aktivitas ion perak juga akan mengurangi pelepasan sitokin proinflamasi seperti TNF- α (Sharma *et al*, 2016). Apabila respon inflamasi telah selesai, kemudian proses penyembuhan luka akan berlanjut pada fase proliferasi.

Proliferasi banyak ditandai dengan adanya jaringan granulasi pada luka yang tersusun dari kumpulan fibroblast, makrofag, dan sel endotel, serta terbentuknya epitelisasi kembali. Perak yang diberikan akan terserap oleh sel epidermis untuk menginduksi produksi metallotheinin yang akan meningkatkan penyerapan zink dan tembaga dalam sel, sintesis RNA dan DNA untuk proses proliferasi dan perbaikan jaringan. Zink dan tembaga merupakan mikronutrien esensial dalam tubuh yang berperan dalam proliferasi sel epitel. Bertambahnya

jumlah zink akan meningkatkan sintesis RNA, DNA serta enzim esensial lainnya yang berguna dalam penyembuhan luka (Atiyeh *et al*, 2007). Pereira and Bartolo (2016), menambahkan bahwa material dalam perak juga akan menambah jumlah sel fibroblast pada sel, mengurangi infiltrasi netrofil dan makrofag pada luka insisi, selain itu juga akan menambah cepat dalam perbaikan epidermis. Penambahan jumlah fibroblast dalam sel mengakibatkan semakin baik pertautan tepi luka, sehingga luka akan mengalami proses terakhir penyembuhan luka yaitu fase maturasi, dimana pada fase ini epitel baru berdasarkan pada besarnya luka mengalami penguatan hingga luka menutup serta akan ditandai pula dengan adanya jaringan parut.

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Pemberian air Ag (perak) secara topikal dapat menurunkan ekspresi TNF- α pada tikus putih (*Rattus novergicus*).
2. Pemberian air Ag (perak) secara topikal dapat mempercepat proses regenerasi epitel epidermis pada tikus putih (*Rattus novergicus*).

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober sampai dengan bulan November 2018 :

- a. Pembuatan air Ag (perak) dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya, Malang
- b. Pemeliharaan dan pemberian perlakuan hewan coba di Laboratorium Farmakologi Universitas Brawijaya, Malang.
- c. Pembuatan dan pewarnaan preparat histopatologi organ kulit dengan metode pewarnaan HE dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang
- d. Pengukuran ekspresi TNF- α dengan metode *Flowcytometry* dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya, Malang.

4.2 Sampel Penelitian

Penelitian menggunakan hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) jantan *strain* Wistar berumur 8 – 12 minggu dengan berat badan antara 150 – 250 gram dari Laboratorium Farmakologi Universitas Brawijaya. Hewan coba diaklimatisasi selama tujuh hari untuk menyesuaikan dengan kondisi di Laboratorium. Hewan coba dibagi menjadi empat kelompok perlakuan.

Pengulangan sampel sebanyak lima kali dihitung menggunakan rumus

Kusriningrum (2008):

$p(n-1)$	≥ 15	Keterangan: p : jumlah kelompok perlakuan n : jumlah ulangan yang diperlukan
$4(n-1)$	≥ 15	
$4n-4$	≥ 15	
$4n$	≥ 19	
N	≥ 5	

4.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan penelitian ditunjukkan pada

Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Rancangan kelompok penelitian

Kelompok Tikus	Perlakuan
KN (Kontrol negatif)	Kelompok tikus tidak beri perlakuan apapun
P1	Kelompok tikus yang diinsisi dan diberikan antiseptik (<i>Povidon Iodine</i> 10%) secara topikal sebanyak 2x0,5 ml (pagi dan sore).
P2	Kelompok tikus yang diinsisi dan diberi terapi air Ag (Perak) secara topikal sebanyak 2x0,5 ml (pagi dan sore).
P3	Kelompok tikus yang diinsisi dan diberi terapi berupa campuran air Ag (Perak) dan <i>Povidon Iodine</i> secara topikal sebanyak 2x0,5 ml (pagi dan sore).

4.4 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang diamati pada penelitian ini adalah:

- a. Variabel bebas :
 1. Luka Insisi
 2. Terapi air Ag (perak)

- b. Variabel terikat :
 1. Ketebalan epidermis
 2. Ekspresi TNF- α
- c. Variabel kontrol :
 1. Homogenitas tikus (berat badan, umur, jenis kelamin, usia), jenis pakan, kandang
 2. Penggantian kasa steril pada lokasi luka

4.5 Alat dan Bahan

4.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: kandang tikus, botol minum tikus, sekam, *box* pakan, alat sonde, *dissecting set*, papan bedah, sarung tangan (*glove*), *masker*, blender, timbangan digital, *object glass*, *cover glass*, *disposable syringe*, mikrotom, mortar dan alu, botol *spray*, botol kaca, mikroskop cahaya (*Olympus BX51*), kamera digital, tabung reaksi, pot organ, lemari pendingin, ware, *blue tip*, *yellow tip*, *sentrifuse*, *flowcytometry*, *software Image Raster®*, dan *software BD Cell Quest Pro™*.

4.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) *strain* Wistar umur 8 – 12 minggu dengan berat badan 150- 250 gram, pakan, air minum, air Ag (perak) ppm 20, aquades, etanol 70%, etanol 80%, etanol 90%, etanol 95%, etanol absolut, NaCl fisiologis, *Xylol*, Alkohol (70%, 80%, 90%, absolut), parafin blok, pewarna *haematoxylin* dan *eosin*, antibodi primer *anti-rat* TNF- α , PBS, dan formalin 10%.

4.6 Tahapan Penelitian

4.6.1 Persiapan Hewan Model

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar berumur 8 – 12 minggu dengan berat badan tikus antara 150 – 250 gram yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Aklimatisasi hewan coba selama 7 hari dengan tujuan mengadaptasikan hewan coba dengan lingkungannya yang baru. Pada tahap ini dilakukan pengamatan terhadap keadaan umum hewan coba. Pemberian pakan selama masa aklimatisasi berupa pakan standar sesuai kebutuhan yaitu 20 gram/ekor/hari dalam bentuk pelet (10% dari berat badan) dan air minum diberikan secara *ad libitum*.

4.6.2 Pembuatan Air Ag (Perak)

Air Ag (perak) yang digunakan dalam penelitian ini diolah di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya menggunakan metode elektrolisis. Kadar air Ag (perak) yang digunakan dalam perlakuan pada 1 L pelarut yaitu 20 ppm, sehingga dalam setiap 1 mL pelarut (aquabides) terdapat 0,02 mg perak, artinya pada pemberian 0,5 mL air Ag maka mengandung 0,01 mg perak.

4.6.3 Perlakuan Insisi Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebanyak 20 ekor diaklimatisasi pada kondisi laboratorium terlebih dahulu selama 7 hari, kemudian dibagi menjadi 4 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari

5 ekor. Masing-masing kandang kelompok diberi keterangan menggunakan label. Bagian dorsal diusap dengan kapas beralkohol 70% dan dilakukan anestesi dengan menggunakan kombinasi ketamin dosis 40-75 mg/kg dan xylazine 5-12 mg/kg secara intra-muskular (Plumb, 2008), setelah itu dicukur bagian rambut bagian dorsal sampai bersih seluas 5x5 cm dan dilakukan pembuatan insisi sepanjang 2 cm pada bagian median dorsal vertebrae abdominalis dengan kedalaman sampai bagian subkutan hingga m.punnicullus carnosus menggunakan *blade* steril dengan ukuran 24 G (Pratiwi dkk., 2015).

4.6.4 Pengambilan dan Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit

Pengambilan jaringan kulit pada tikus putih dilakukan pada hari ke-8 setelah dilakukan insisi. Proses eutanasi pada tikus putih dilakukan dengan memberikan anestesi ketamine dan xylazin terlebih dahulu kemudian dislokasio os cervicalis pertama, setelah itu tikus diletakan diatas papan posisi dengan dorsoventral. Isolasi dilakukan dengan memotong kulit selebar 3 x 3 cm dan kedalaman hingga subkutan, kemudian dilakukan proses fiksasi menggunakan larutan *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10% minimal 48 jam hingga mengeras (matang). Sampel organ yang terfiksasi dengan sempurna *ditrimming* setebal $\pm 0,5$ cm, selanjutnya potongan dimasukkan dalam *tissue cassette*.

Proses selanjutnya yaitu dehidrasi, guna untuk menarik air dari jaringan dan mencegah terjadinya pengerutan sampel yang diuji. Dehidrasi dilakukan setelah *trimming*, dengan merendam sampel dalam

larutan alkohol dengan konsentrasi bertingkat (70%, 80%, 90%, 95% dan alkohol absolut). Perendaman pada masing- masing konsentrasi alkohol dilakukan selama 2 jam. Proses selanjutnya yaitu clearing atau penjernihan yang dilakukan dengan 2 tahap menggunakan *xylol* I dan *xylol* II. Penggunaan *xylol* dimaksudkan untuk melarutkan alkohol dan parafin.

Tahap selanjutnya yaitu infiltrasi atau proses pengisian parafin ke dalam pori-pori jaringan. Pengisian pori-pori ini bertujuan untuk mengeraskan jaringan agar mudah dipotong dengan pisau mikrotom. Parafin yang digunakan mempunyai titik cair 56-58°C. Proses selanjutnya yaitu *embedding* dan *blocking*. Proses ini merupakan proses penanaman jaringan dalam blok parafin. Tahap terakhir sebelum dilakukan pewarnaan yaitu *sectioning* atau pemotongan jaringan. Proses ini dilakukan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5 μm . Potongan tersebut kemudian di letakan pada gelas objek yang sebelumnya diolesi *Mayer's egg albumin* dan ditetesi aquades kemudian dibiarkan kering pada suhu kamar (Isdadiyanto, 2015).

4.6.5 Pewarnaan Hematoxyllin-Eosin

Preparat sebelum dilakukan pewarnaan, preparat dideparafinisasi dengan larutan *xylol* (I dan II) selama 15 menit. Kemudian dilakukan proses rehidrasi dengan mencelupkan sediaan ke dalam alkohol bertingkat (alkohol absolut, alkohol 95%, alkohol 80%). Perendaman dalam alkohol dilakukan selama 1 menit. Sediaan kemudian

dicuci dengan air mengalir selama 1 menit dan diwarnai dengan pewarnaan *Mayer's Hematoxyllin* selama 5 menit untuk mewarnai nukleus (inti sel). Hematoxyllin merupakan kombinasi antara dicuci dengan air mengalir 30 detik, dicelupkan ke dalam larutan asam alkalin sebanyak 2 kali selama 15-30 detik, dicuci kebalikan dengan air mengalir guna menetralkan asam dan pembebasan gugus OH yang merubah warna nukleus menjadi biru (Allamand *et al*, 2011).

Proses selanjutnya yaitu pewarnaan Eosin dengan menambahkan asam asetat (1:100) kedalam 0,5% larutan Eosin selama 10 menit, untuk mewarnai serat menjadi merah. Selanjutnya dicuci 3 kali selama 1 menit untuk menghilangkan sisa eosin. Preparat kemudian dicelupkan ke dalam larutan alkohol (70% 1 menit, 90% 30 detik, 100% 30 detik), kemudian dicelupkan ke dalam larutan xylol I dan xylol II selama 30 detik. Preparat kemudian dilakukan proses mounting, dengan *Permount* (perekat), proses ini berguna untuk menghentikan larutan xylol. Preparat selanjutnya ditutup dengan cover glass dan dibiarkan pada suhu ruang selama 10 menit (Allamand *et al*, 2011)

4.6.6 Pengamatan Ekspresi TNF- α dengan Metode *Flowcytometry*

Sampel yang akan diuji menggunakan metode *Flowcytometry* yaitu kulit area luka dengan panjang ± 3 cm. Sampel kemudian dikoleksi dan direndam dalam larutan PBS. Sampel dibilas dan diletakan ke dalam cawan petri, selanjutnya digerus menggunakan pangkal spuit baru pada larutan PBS. Sampel selanjutnya disaring dengan wire dan dimasukkan

ke propilen 15 ml, kemudian disentrifugasi 2500 rpm, selama 5 menit, dan dibuang supernatan. Sampel kemudian diresuspensi dengan PBS dan dimasukkan pada microtube 1,5 ml. Sampel dalam *microtube* selanjutnya disentrifugasi kembali 2500 rpm selama 5 menit, dan dibuang lagi supernatant. Sel yang diperoleh kemudian diberi pewarnaan ekstraseluler dilanjut dengan pewarnaan intraseluler menggunakan antibodi *anti-rat* TNF- α dan diinkubasi. Sampel yang telah selesai diinkubasi kemudian diberi PBS dan dipindahkan ke kuvet *flowcytometry*. Data hasil *flowcytomtery* dianalisis menggunakan *software BD cellquest ProTM*. Program diatur sesuai dengan pewarnaan dan jenis sel yang akan diidentifikasi. *Flowcytometry* menggunakan prinsip menyebarkan cahaya, eksitasi cahaya, dan pemancaran molekul flourokrom untuk menghasilkan multiparameter data yang spesifik dari partikel dan sel yang memiliki rentan ukuran diameter antara 0,5-40 μm . sel kemudian difokuskan dalam sebuah tabung berisi PBS sebelum ditangkap oleh sumber cahaya. Sumber cahaya yang digunakan berupa laser. Sampel dimasukkan hingga pusat suatu aliran, sehingga sel akan mengalir pada pusat tersebut. Pada tahap ini sel akan tersinari oleh laser dan dipresentasikan dalam bentuk suatu diagram (Ormerod, 2000).

4.6.7 Analisis Data

Pengukuran ketebalan epidermis pada preparat pewarnaan HE diukur secara tegak lurus dari lapisan korneum hingga lapisan basal (dari dalam ke luar) menggunakan satuan mikrometer. Lapisan dipilih dari

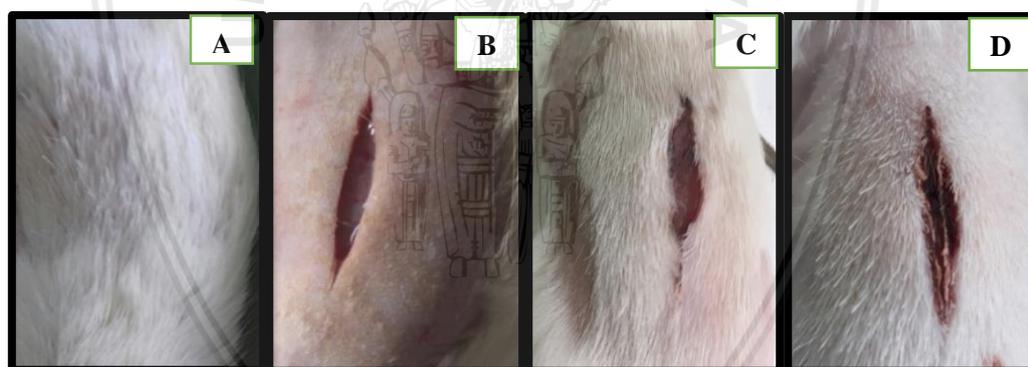
yang paling tebal hingga paling tipis (Kartikaningtias, 2015). Perhitungan ketebalan epidermis dilakukan secara kuantitatif yang telah dirata-rata menggunakan *Software Image Raster*®. Data kuantitatif kadar relatif TNF- α dianalisis secara statistik dengan uji Kruskal-Wallis dengan taraf signifikansi 0,05. Ketebalan epidermis dianalisis secara statistik dengan uji *one way* ANOVA dilanjutkan dengan uji BNJ (Beda Nyata Jujur) dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).



BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Pemberian Terapi Air Ag (Perak) terhadap Gambaran Makroskopis pada Kulit Tikus Pasca Luka Insisi

Luka merupakan suatu cedera dimana kulit robek, terpotong atau tertusuk, ataupun trauma benda tumpul yang menyebabkan kontusi. Luka terbagi menjadi dua jenis yaitu luka terbuka dan luka tertutup. Luka terbuka diklasifikasikan berdasarkan obyek penyebab luka antara lain: luka insisi, luka laserasi, luka abrasi, luka tusuk, luka penetrasi, dan luka tembak. Luka insisi merupakan luka yang disebabkan oleh benda tajam yang menyebabkan jaringan mengalami kerusakan.



Gambar 5.1 Gambaran makroskopis kulit tikus pasca perlakuan hari ke-3

Keterangan: (A) Kelompok kontrol negatif (K-), (B) Kelompok Perlakuan 1 terapi *Povidone iodine 10%* (P1), (C) Kelompok Perlakuan 2 terapi Air Ag (perak) 0,5 ml (P2), (D) Kelompok Perlakuan 3 terapi *Povidon Iodin 10%* 0,5 ml dan Air Ag (perak) 0,5 ml perbandingan 1:1 (P3)

Gambaran makroskopis jaringan kulit tikus kontrol negatif menunjukkan kulit dalam kondisi normal. Kelompok ini dijadikan sebagai indikator kulit yang normal (**Gambar 5.1.A**). Tikus P1 yang dilakukan insisi dan diberi terapi *Povidon*

Iodine dengan konsentrasi 10% sebesar 0,5 ml. Kelompok ini dijadikan sebagai indikator kesembuhan luka yang diberikan terapi menggunakan bahan yang umum digunakan di lingkungan masyarakat yaitu *Povidon Iodine* 10%. Kelompok ini menunjukkan bahwa luka sudah mulai mengering akan tetapi luka masih terbuka, dan berwarna merah. Kemerahan (*rubor*) merupakan hal pertama yang terlihat di daerah yang mengalami peradang (Qomariah dkk, 2014). (**Gambar 5.1.B**). Tikus perlakuan 2 (P2), yaitu tikus yang diinsisi dan dilakukan terapi menggunakan air Ag (perak) menunjukkan luka sudah mulai mengering, rambut di sekitar luka juga mulai tumbuh, tetapi masih belum menutup (**Gambar 5.1.C**). Tikus perlakuan 3 (P3), yaitu tikus yang diinsisi dan dilakukan terapi menggunakan kombinasi *Povidon Iodine* 10% dan air Ag (perak) yang masing- masing sebanyak 0,5 ml dengan perbandingan 1:1, hasil menunjukkan bahwa luka masih menunjukkan kemerahan dan masih terlihat adanya keropeng (**Gambar 5.1.D**). Luka dengan adanya kemerahan (*rubor*) menunjukkan bahwa luka tersebut sudah masuk ke fase inflamasi. Hal tersebut terjadi karena banyak darah mengalir ke dalam mikrosomal lokal pada tempat peradangan (Sugiaman, 2011).



Gambar 5.2 Gambar makroskopis kulit tikus pasca perlakuan hari ke-7

Keterangan: (A) Kelompok kontrol negatif (K-), (B) Kelompok Perlakuan 1 terapi *Povidone iodine 10%* (P1), (C) Kelompok Perlakuan 2 terapi Air Ag (perak) 0,5 ml (P2), (D) Kelompok Perlakuan 3 terapi Povidon Iodin 10% 0,5 ml dan Air Ag (perak) 0,5 ml perbandingan 1:1 (P3)

Gambaran makroskopis pada hari ke -7 jaringan kulit tikus kontrol negatif (K-) yang tidak diberikan perlakuan apapun menunjukkan kulit dalam keadaan normal **Gambar 5.2 (A)**. Kelompok perlakuan 1 (P1) menunjukkan area luka yang masih merah dan sedikit mengalami pembengkakan. Menurut Argamula (2008) warna merah pada luka tikus merupakan hasil peradangan terhadap luka. Reaksi ini berupa vasokonstriksi dari pembuluh darah yang segera diikuti oleh vasodilatasi. Adanya gumpalan darah merupakan reaksi platelet yang teraktivasi dan protein fibrinogen yang banyak dikeluarkan oleh pembuluh darah. Platelet akan teraktivasi untuk membentuk benang-benang fibrin yang akan menghentikan hemoraghi dan akan terlihat berupa gumpalan darah (Qomariah dkk, 2014) **Gambar 5.2 (B)**. Kelompok perlakuan 2 (P2) yang diberikan perlakuan luka insisi dengan terapi Air Ag (Perak) 0,5 ml terlihat luka sudah mulai menutup namun belum sempurna, sudah tidak terlihat adanya pembengkakan, dan sudah ditumbuhi rambut di daerah

yang dicukur **Gambar 5.2 (C)**. Kelompok perlakuan 3 (P3) terlihat luka sudah menutup namun belum sempurna, dan sudah ditumbuhi rambut tebal di daerah yang dicukur. Tumbuhnya rambut pada daerah luka tersebut menunjukkan terjadinya proses regenerasi dan kondisi kulit sudah mulai kembali normal (Febram dkk, 2010) **Gambar 5.2 (D)**.

Penelitian ini menunjukkan bahwa dari gambaran makroskopis kombinasi antara *Povidon Iodine* dan air Ag (perak) menunjukkan hasil yang paling baik, ditandai dengan kontraksi luka yang semakin baik serta regenerasi kulit yang kembali menuju normal. Kontraksi luka adalah suatu proses terjadinya penyempitan ukuran luka dengan kehilangan jaringan. Mekanisme kontraksi dapat disebabkan oleh kontraksi fibroblast (miofibroblast). Sel-sel ini terdapat di seluruh tubuh, terutama terpusat di sekitar luka terbuka. Ada dua teori tentang bagaimana miofibroblast ini mendorong tepi-tepi luka untuk mengurangi ukuran luka 80% dalam waktu 10 hari, salah satu teori (teori bingkai gambar) mengatakan bahwa miofibril bekerja di balik tepi luka dan mendorong tepi luka ke depan, ke arah bagian tengah. Teori lain mengatakan bahwa miofibril pada bagian tengah luka mendorong tepi-tepi luka ke arahnya (Sabiston, 2007).

Povidon Iodine merupakan senyawa zat anti bakteri lokal yang efektif membunuh bakteri dan spora serta digunakan secara luas untuk antiseptik kulit. Pada luka terbuka adanya kontaminasi bakteri sangat mungkin terjadi sehingga dengan menambahkan *Povidon Iodine* diharapkan akan mengurangi jumlah bakteri yang masuk. Kombinasi menggunakan air perak juga akan mempercepat regenerasi kulit pasca diberi perlakuan luka insisi. Penambahan material dalam perak akan

menambah jumlah sel fibroblast pada sel sehingga akan mempercepat perbaikan epidermis (Pereira and Bartolo, 2016).

Hasil perlakuan ketiga (P3) berbanding terbalik dengan perlakuan pertama (P1), dimana hasil perlakuan pertama (P1) menunjukkan bahwa luka masih lebar dengan kondisi yang masih merah dan sedikit mengalami pembengkakan disekitar luka. Hal tersebut dapat terjadi karena pemberian *Povidon Iodine* diketahui dapat menimbulkan iritasi pada luka, selain itu zat-zat yang terkandung dalam bahan antiseptik dianggap sebagai benda asing oleh tubuh karena komponen dan susunannya berbeda dengan sel-sel tubuh. *Povidon Iodine* dalam penggunaan yang berlebihan diketahui dapat menghambat granulasi luka (Nurdiantini dkk, 2017). Pengamatan makroskopis dilakukan secara visual sehingga hasil yang diperoleh bersifat subjektif, oleh karena itu diperlukan pengamatan histopatologi agar hasil yang diperoleh lebih akurat.

5.2 Pengaruh Pemberian Terapi Air Ag (Perak) Terhadap Ekspresi TNF- α Pasca Luka Terbuka pada Kulit Tikus Putih

Penyembuhan luka merupakan suatu proses yang melibatkan respon seluler dan biokimia baik secara lokal maupun sistemik melibatkan proses dinamis dan kompleks dari koordinasi serial termasuk pendarahan, koagulasi, inisiasi respon inflamasi akut segera setelah trauma, regenerasi, migrasi dan proliferasi jaringan ikat dan sel parenkim, serta sintesis protein matriks ekstraselular, *remodelling* parenkim dan jaringan ikat serta deposisi kolagen (Velnar, 2009). Saat terjadi luka maka komponen-komponen dalam sistem pembuluh darah akan keluar dari jaringan

menuju tempat terjadinya luka atau yang biasa disebut migrasi. Migrasi komponen darah akan menyebabkan inflamasi untuk menghilangkan jaringan nonvital dan mencegah infeksi bakteri invasif (Lorevtz *et al*, 2006). Makrofag yang ikut migrasi akan mengeluarkan faktor-faktor penting dalam perdangan seperti TNF- α . TNF- α dengan faktor lain yang dibentuk oleh makrofag akan teraktivasi di jaringan sehingga menyebabkan inflamasi (Guyton, 2013).

Tabel 5.1 Rata- Rata Kadar Relatif TNF- α

Perlakuan	Rata-rata Kadar Relatif TNF- α (μm) \pm SD(%)
Kontrol Negatif	3,41 \pm 0,18
Perlakuan 1	7,73 \pm 0,73
Perlakuan 2	15,31 \pm 0,95
Perlakuan 3	9,81 \pm 1,16

Keterangan: Hasil uji Kruskal Wallis perhitungan rata-rata kadar relatif TNF- α ($p < 0,05$).

Pada saat proses inflamasi berlangsung, TNF- α berfungsi untuk meningkatkan peran pro-trombik dan merangsang molekul adhesi dari sel leukosit, menginduksi sel endotel, mengatur aktivitas makrofag, dan respon imun dalam jaringan dengan merangsang faktor pertumbuhan dan sitokin lain (Guyton, 2013). Semakin menurun kadar TNF- α menandakan luka sudah mulai membaik (Antoni, 2011). Pada penelitian ini ekspresi TNF- α diukur pada hari ke-8 pasca luka insisi. Kelompok kontrol negatif digunakan sebagai indikator kadar relatif TNF- α pada jaringan normal tanpa diberi perlakuan apapun. TNF- α pada kondisi normal umumnya masih tetap terekspresi namun pada kondisi yang rendah apabila dibandingkan dengan kadar TNF- α pasca diberi perlakuan luka insisi.

Hasil uji yang terlihat pada **Tabel 5.1** menunjukkan bahwa produksi TNF- α pada kelompok kontrol negatif (tanpa perlakuan) lebih rendah apabila dibandingkan dengan kontrol perlakuan 1 (terapi Povidon Iodin 10%). Hal tersebut menandakan bahwa kelompok perlakuan 1 berpotensi sebagai terapi terhadap luka insisi. Begitu juga dengan kelompok perlakuan 2 (terapi air Ag) dan kelompok perlakuan 3 (terapi kombinasi air Ag dan Povidon Iodin 10%).

Berdasarkan uji Kruskal Wallis, kadar relatif TNF- α pada kelompok kontrol negatif menunjukkan rata-rata kadar relatif TNF- α yang paling rendah apabila dibandingkan dengan kadar relatif TNF- α pada kelompok perlakuan 1, 2 maupun 3, hal tersebut karena kontrol negatif merupakan kelompok tikus yang tidak diberikan perlakuan. Hasil pengukuran kadar relatif TNF- α pada kelompok kontrol negatif yaitu sebesar 3,41 μm . Banno, dkk (2004) menjelaskan bahwa TNF- α merupakan sitokin multifungsi yang mampu memediasi inflamasi, respon imun, dan apoptosis, sehingga pada keadaan normal TNF- α akan tetap terekspresi. Pada kadar rendah, TNF- α bekerja terhadap leukosit dan endotel, menginduksi inflamasi akut.

Kelompok perlakuan 1 yaitu kelompok tikus putih yang diberi perlakuan luka insisi dan diterapi *Povidon Iodine* 10%, hasil pengukuran menunjukkan rata-rata kadar relatif TNF- α pada kelompok P1 lebih tinggi apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, juga berpengaruh terhadap proses kesembuhan luka. Secara umum pada kasus luka sering terjadi adanya infeksi yang disebabkan masuknya bakteri pada luka. Hal tersebut akan memicu respon imun tubuh dengan bakteri, dimana pada kondisi ini bakteri akan menyebabkan pelepasan sitokin pro-

inflamasi salah satunya yaitu TNF- α . Keadaan tersebut akan semakin buruk apabila kontaminasi bakteri semakin meningkat yang akan berbanding lurus dengan peningkatan sel TNF- α , oleh karenanya diperlukan antiseptik untuk membantu mempercepat proses penyembuhan luka. Salah satu antiseptik yang umum digunakan yaitu *Povidon Iodine*. *Povidon Iodine* mempunyai sifat antiseptik baik terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif. *Povidon Iodine* 10% mengandung 1% iodium yang mampu membunuh bakteri dalam 1 menit dan membunuh spora dalam waktu 15 menit. Mekanisme kerja *Povidon Iodine* dimulai setelah kontak langsung dengan jaringan maka elemen iodin akan dilepas secara perlahan-lahan dengan aktifitas menghambat metabolisme enzim bakteri sehingga mengganggu multiplikasi bakteri yang menyebabkan bakteri menjadi lemah. Iodin dalam jumlah kecil diserap masuk kedalam aliran darah, sehingga menyebabkan efek sistemik dengan *shock* anoksia jaringan (Gunawan, 2007).

Pemberian *Povidon Iodine* 10% efektif untuk mematikan sel mikroba, akan tetapi pemberian *Povidon Iodine* 10% juga menimbulkan iritasi pada luka karena zat-zat yang terkandung dalam bahan antiseptik akan dianggap sebagai benda asing oleh tubuh karena komponen dan susunan yang terkandung berbeda dengan sel-sel tubuh (Katzung, 2002). Hal tersebut menyebabkan kadar TNF- α pada kelompok luka insisi yang diberikan terapi *Povidon Iodin* 10% akan meningkat dibandingkan dengan kadar TNF- α pada kondisi normal.

Pada kelompok perlakuan kedua didapatkan hasil bahwa pemberian terapi air Ag pasca perlakuan luka insisi berpengaruh terhadap proses penyembuhan luka, akan tetapi menunjukkan hasil yang lebih tinggi apabila dibandingkan dengan

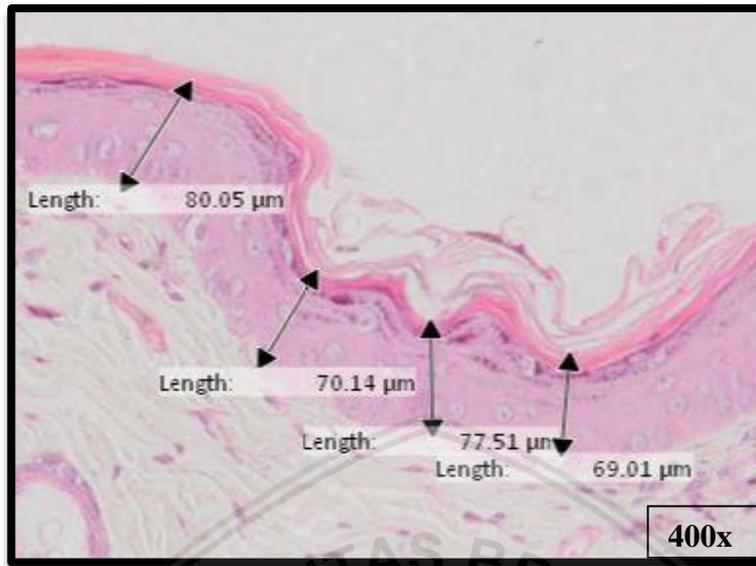
kelompok perlakuan 1. Ion Ag secara topikal mampu membunuh bakteri, konsentrasi minimum air Ag dalam pemusnahan bakteri yaitu antara 5-50 ppm. Ion Ag^+ dalam bentuk cairan yang dihasilkan pasca proses pembuatan air Ag memiliki beberapa aksi terhadap bakteri, diantaranya yaitu merusak dinding sel bakteri, menginaktifkan enzim dalam bakteri, dan menginterferensi sintesis DNA pada bakteri. Penggunaan ion Ag dalam penyembuhan luka juga akan memodulasi proses inflamasi dengan meningkatkan ekspresi TNF- α sehingga menghasilkan efek anti-inflamasi yang mencegah sel mengalami nekrosis agar proses inflamasi tidak semakin parah (Atiyeh *et al*, 2007). Kadar relatif TNF- α yang tinggi pada kelompok perlakuan 1 juga dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya kesalahan uji *flowcytometry*, sehingga sel-sel kulit yang diharapkan keluar tidak mampu terekspresi dengan baik, selain itu juga dapat dikarenakan adanya inflamasi kronis.

Pada kelompok perlakuan 3 yaitu kelompok perlakuan yang diberikan terapi kombinasi antara *Povidon Iodin* 10% dan air Ag berpengaruh terhadap proses penyembuhan luka, selain itu hasil pengukuran menunjukkan bahwa rata-rata kadar relatif TNF- α lebih rendah bila dibandingkan dengan P1 dan P2. Hal tersebut dapat diartikan bahwa kombinasi *Povidon Iodin* dan air Ag lebih efektif dalam memperbaiki luka. *Povidon Iodin* terdiri atas ion povidium dan ion iodin (Tjay, 2007). Saat dikombinasikan dengan ion Ag maka ion I dalam *Povidon Iodine* akan berikatan dengan ion Ag pada air perak. Senyawa baru yang dihasilkan dari reaksi tersebut mampu meningkatkan efek bakterisidal yang dihasilkan oleh masing-masing senyawa sehingga menimbulkan efek yang paling maksimal.

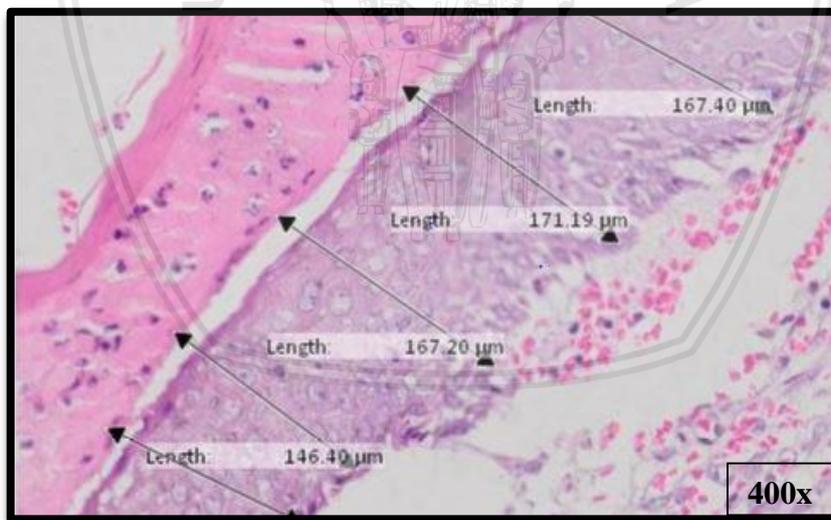
Berdasarkan hasil uraian dan analisa statistika Kruskal-Wallis tersebut dapat disimpulkan bahwa perlakuan 2 yaitu tikus yang diberikan terapi kombinasi *Povidon Iodine* 10% dan air Ag menunjukkan hasil yang paling efektif terhadap proses penyembuhan luka insisi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). Hal tersebut dikarenakan hasil kadar relatif TNF- α pada kelompok perlakuan 2 mendekati hasil pada kelompok kontrol negatif sebagai indikator normal.

5.3 Terapi Air Ag (Perak) terhadap Histopatologi Epidermis pada Proses Kesembuhan Luka Terbuka

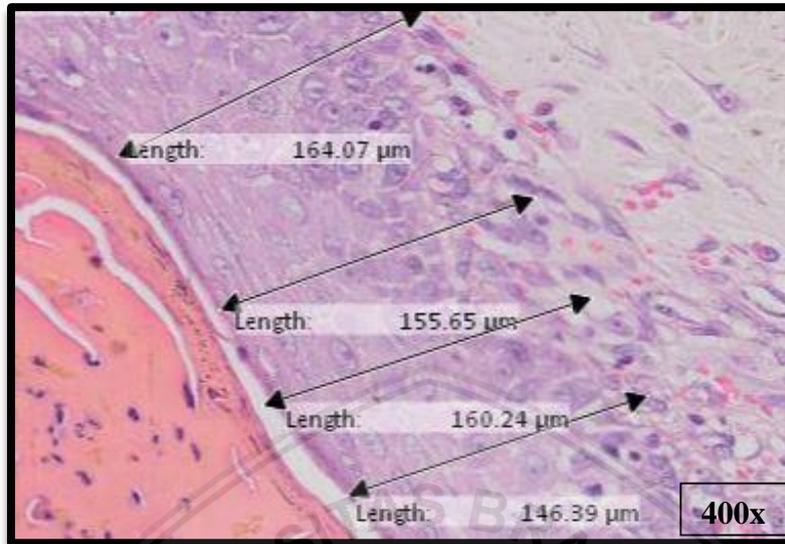
Parameter yang diukur dalam penelitian ini yaitu ketebalan epidermis. Kulit terdiri atas 2 lapisan utama yaitu epidermis dan dermis. Epidermis merupakan lapisan paling luar kulit dan terdiri atas epitel berlapis pipih dengan lapisan tanduk. Epidermis hanya terdiri dari jaringan epitel dan tidak mempunyai pembuluh darah, oleh karena itu semua nutrien dan oksigen diperoleh dari kapiler pada lapisan dermis. Epidermis terdiri atas 5 lapisan yaitu, dari dalam ke luar, stratum basal, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lusidum, dan stratum korneum. Ketebalan epidermis diukur menggunakan *microruller* pada *software Image Raster* 3.0. Hasil pengukuran dermis yang didapat kemudian akan dianalisis secara statistik menggunakan uji *One Way ANOVA* dengan *Software IBM SPSS Stastistis 25* dan dilanjutkan dengan uji *BNJ* dengan tingkat kepercayaan 95%.



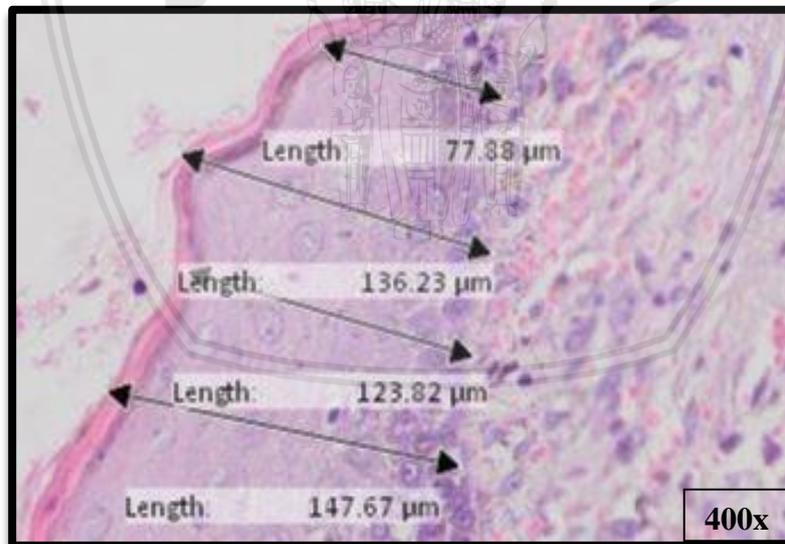
Gambar 5.3 Gambaran Histopatologi dengan Pewarnaan HE Kelompok Kontrol Negatif (tanpa perlakuan) dengan Perbesaran 400x



Gambar 5.4 Gambaran Histopatologi dengan Pewarnaan HE Kelompok Perlakuan 1 (Terapi *Povidone Iodine* 10%) dengan Perbesaran 400x



Gambar 5.5 Gambaran Histopatologi dengan Pewarnaan HE Kelompok Perlakuan 2 (Terapi air Ag 20 ppm 0,5 ml) dengan Perbesaran 400x



Gambar 5.6 Gambaran Histopatologi dengan Pewarnaan HE Kelompok Perlakuan 3 (Terapi Kombinasi *Povidone Iodine* 10% dan air Ag 20 ppm) dengan Perbesaran 400x

Tabel 5.2 Rata- rata ketebalan epidermis

Perlakuan	Rata-rata Ketebalan Epidermis (μm) \pm SD(%)
Kontrol Negatif	74.67 \pm 2.02 ^a
Perlakuan 1	165.456 \pm 1,02 ^b
Perlakuan 2	154.318 \pm 1.15 ^b
Perlakuan 3	122.026 \pm 1,67 ^{ab}

Keterangan: Perbedaan notasi a dan b menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antar kelompok.

Berdasarkan uji lanjut BNJ dengan taraf signifikansi 0,05 didapatkan hasil bahwa pada kelompok kontrol negatif menunjukkan rata- rata ketebalan epidermis yaitu 74.67 \pm 2.02 μm . Kelompok kontrol negatif digunakan sebagai indikator normal ketebalan epidermis pada kulit tikus putih. Pada kelompok P1 didapatkan hasil yang berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif yaitu dengan rata-rata 165.456 \pm 1,02 μm . Kelompok P1 digunakan sebagai pembandingan karena masyarakat secara umum lebih sering menggunakan Povidon Iodin sebagai terapi dalam penyembuhan luka. Pada kelompok P2 menunjukkan rata-rata ketebalan epidermis yaitu 154.318 \pm 1.15 μm dan tidak signifikan apabila dibandingkan dengan kelompok P1. Kelompok P3 memiliki rata-rata ketebalan epidermis sebesar 122.026 \pm 1,67 μm , data tersebut menunjukkan hasil yang tidak berbeda signifikan apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif tetapi secara rata- rata lebih rendah dari kelompok P1 dan P2 serta lebih tinggi dari kelompok kontrol negatif.

Perbedaan signifikan antara kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan 1 disebabkan karena kelompok kontrol negatif merupakan kelompok tikus yang tidak diberikan perlakuan apapun, sehingga tidak terjadi perubahan

apapun pada jaringan kulit, sedangkan pada kelompok perlakuan 1 terjadi perlukaan sehingga menyebabkan kerusakan pada jaringan. Pemberian terapi *Povidon Iodine* pada luka umumnya dapat diterima tubuh dengan baik walaupun mempunyai *side effect* berupa timbulnya rangsangan lokal atau reaksi alergi (Ocyana, 2001). Ketebalan epidermis yang meningkat menunjukkan bahwa pada kelompok P1 sel-sel epidermis masih dalam tahap inflamasi hal tersebut ditandai dengan masih banyak terlihat sel-sel radang. Sel yang masih dalam tahap inflamasi akan mengalami pembengkakan, pembengkakan pada sel epidermis dikarenakan pengeluaran cairan-cairan ke jaringan interstitial. Sehingga pada P1 terjadi peningkatan ketebalan epidermis yang paling tinggi daripada kontrol negatif maupun P2 dan P3.

Pada kelompok P2 yaitu kelompok tikus yang diinsisi dan diberi terapi air Ag 20 ppm menunjukkan hasil yang tidak berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol positif yang menandakan efek yang disebabkan oleh air Ag terhadap regenerasi sel-sel epidermis memiliki kesamaan seperti efek yang ditimbulkan oleh *Povidon Iodin 10%*. Air ag terbukti dapat meregulasi aktifitas zink dalam tubuh guna untuk meningkatkan epitelisasi sel. Hal tersebut dibuktikan melalui evaluasi immunositokimia melihat ikatan metallothionesis yang menunjukkan bahwa perak menginduksi protein dan menambah konsentrasi zink dan tembaga. Kedua logam tersebut berfungsi dalam meningkatkan proliferasi sel epitel (Atiyeh *et al*, 2007).

Kelompok perlakuan 3 yaitu kelompok perlakuan yang diberikan terapi berupa kombinasi antara *Povidon Iodine 10%* 0,5ml dan air Ag 0,5 ml menunjukkan hasil yang tidak berbeda signifikan baik terhadap kelompok kontrol negatif maupun

dengan kelompok perlakuan 1 dan 2 serta menunjukkan rata-rata ketebalan epidermis yang lebih rendah apabila dibandingkan dengan perlakuan 1 juga perlakuan 2. Hal tersebut karena partikel ion dari povidon iodine akan berikatan dengan ion pada air Ag membentuk ikatan AgI yang nantinya akan berpengaruh terhadap proses proliferasi dan regenerasi sel-sel kulit. Selain itu, pemberian air Ag juga mempengaruhi proses neovaskularisasi pada jaringan luka (Leaper, 2012). Neovaskularisasi merupakan pembuluh darah baru berupa tunas-tunas yang terbentuk dari pembuluh darah dan berkembang menjadi jaringan baru. Proses neovaskularisasi mencapai puncak yaitu pada 3-5 hari pasca terjadinya luka dan akan menurun pada hari ke-7 (Hibono, 2017). Perlakuan 3 menunjukkan bahwa perbaikan sel epidermis pasca luka insisi menunjukkan hasil yang tidak berbeda signifikan dan mendekati kelompok kontrol negatif serta masuk ke dalam interaksi obat yang agonis.

Berdasarkan hasil uraian dan analisa statistika BNP (Beda Nyata Jujur) tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian terapi kombinasi *Povidon Iodine* 10% dan air Ag menunjukkan hasil yang paling efektif terhadap proses penyembuhan luka insisi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) ditinjau dari faktor ketebalan epidermis. Hal tersebut dikarenakan hasil pengukuran ketebalan epidermis pada kelompok perlakuan 3 mendekati indikator normal yaitu kelompok kontrol negatif.

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah disampaikan dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Pemberian terapi Air Ag yang dikombinasikan dengan *Povidon Iodine* 10% pasca luka insisi mampu menurunkan kadar relatif TNF- α pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) apabila dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1.
2. Pemberian terapi Air Ag yang dikombinasikan dengan *Povidon Iodine* 10% pasca luka insisi mampu meningkatkan regenerasi sel ditinjau dari ketebalan epidermis yang rusak apabila dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1 pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

6.2 Saran

Adapun beberapa saran untuk penelitian ini, diantaranya yaitu:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai dengan dosis air Ag yang bervariasi antara rentang 5-50 ppm selain 20 ppm sehingga didapatkan jumlah ppm air Ag yang paling efektif untuk terapi penyembuhan luka.
2. Perlu dilakukan uji lain untuk menghitung kadar TNF- α selain menggunakan metode *Flowcytometry*.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian Ag dalam penyembuhan luka selain menggunakan larutan, seperti menggunakan sediaan gel, krim, maupun salep.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A. K., A. H. Lichtman, and S. Pillai. 2007. *Cellular and Molecular Immunology 6th Edition*. Philadelphia: Elsevier Publisher.
- Abdurrahmat, A. S. 2014. Luka, Peradangan dan Pemulihan. *Jurnal Entropi* 9(1): 731.
- Anderson, J. M. 2000. The cellular cascades of wound healing. In J. E. Davies (Ed.), *Bone Engineering*. Toronto: em squared inc. 81–93.
- Ariningrum, D., dan S. Jarot. 2017. *Buku Pedoman Keterampilan Klinis "Managemen Luka Untuk Semester 7"*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret Surakarta. 8-10.
- Allamand, V., J. B. Miller, M. Durbeej, D. J. Burkin, A. M. Connolly, and J. Dominov. 2011. *Hitopathology in Hematoxylin and Eosin Stained Muscle Sections*. Treat-NMD: Neuromuscular Network. 2-9.
- Atiyeh, B. S., M. Costagliola, S. N. Hayek, S. A. Dibo. 2007. Effect of Silver on Burn Wound Infection Control and Healing: Review of Literature. *Burns* 33
- Banno, T., G. Alix., B. Miroslav. 2004. Effect of Tumor Necrosis Factor- (TNF-) in Epidermal Keratinocytes Revealed Using Global Transcriptional Profiling. *Journal of Biological Chemistry*.
- Baratawidjaya, K. G., dan I. Rengganis. 2010. *Imunologi Dasar (Edisi ke-9)*. Jakarta: FKUI. 226.
- De Jong, W., dan R. Sjamsuhidayat. 2010. *Buku Ajar Ilmu Bedah (Edisi 3)*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- D'Elia, R. V., K. Harrison, P. C. Oyston, R. A. Lukaszewski, and G. C. Clark. 2013. Targetting the "Cytokine Storm" for Therapeutic Benefit. *Clinical and Vaccine Immunology* 20(3):319-327
- Dorland. 2006. *Kamus Kedokteran Dorland*. Jakarta: EGC
- Elumalai, E. K., T. N. K. V. Prasad, P. C. Nagajyothi, and E. David. 2011. A Bird's Eye View on Biogenic Silver nanoparticles and Their Application. *Pelagia Research Library* 2(2): 88-97.
- Eroschenko, Victor. P. 2008. *DiFiore's Atlas of Histology with Functional Correlations Eleventh Edition*. USA: Library of Congress Cataloging-in-Publication Data.
- Febam, B., L. Wientarsih, B. Pontjo, P. 2010. Aktivias Sediaan Salep Ekstrak Batang Pohon Pisang Ambon (*Musa paradisiaca var sapientum*) dalam



Proses Persembuhan Luka pada Mencit (*Mus musculus albinus*). Majalah Obat Tradisional.

- Ferreira, L. M., B. Hochman, and M. V. Barbosa. 2005. Modelos Experimentais Em Pesquisa. *Acta Cir Bras* 20: 28–34.
- Granick, M. S. and R. L. Gamelli. 2013. *Surgical Wound Healing and Management*. New York: Informa Healthcare USA Inc. 3-5
- Gunawan, S. G. 2007. *Farmakologi dan Terapi Edisi Kelima*. Jakarta: Departemen Farmakologi Kedokteran
- Gurtner, G. C. 2007. Wound healing, normal and abnormal. In: Thorne CH, Beasley, R.W., Aston, S.J., Bartlett, S.P., Gurtner, G.C., Spear, S.L. (Eds). *Grabb and Smith's plastic surgery*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. 15-22.
- Hibono, M. M. 2017. Pemberian Minyak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Topikal Meningkatkan Regenerasi Jaringan Luka Tikus Diabetes Melitus. *E-Jurnal Indonesia Journal of Anti Aging Medicine*
- Isdadiyanto, S. 2015. Efek Chitosan pada Histopatologis Aorta Tikus Putih yang Diberi Pakan Lemak Tinggi. *Buletin Anatomi dan Fisiologi* 23(1).
- Kalangi, S. J. R. 2013. Histofisiologi Kulit. *Jurnal Biomedik (JBM)* 5 (3): 12-20.
- Kartika, R. W. 2015. Perawatan Luka Kronis dengan Modern Dressing. *CDK* 42(7): 230.
- Kartikaningias, A. T, P. Prayitno, dan S. D. Lastianny. 2015. Pengaruh Aplikasi Gel Ekstrak Kulit Citrus sinesis terhadap Epitelisasi pada Penyembuhan Luka Gingiva Tikus Sprague Dawles.// <https://jurnal.ugm.ac.id/mkgi/article/view/9012>. [3 Januari 2019]
- Karnen, B., dan I. Rengganis. 2009. *Imunologi Dasar*. Jakarta: FKUI
- Katzung, B. G. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi III*. Jakarta: Penerbit EGC
- Koolhaas, J. M. 2010. The Laboratory Rat. In: R. Hubrecht & J. Kirkwood, eds. *The UFAW Handbook on Care and Management of Laboratory and Other Research Animals*. 8th Ed. West Sussex: Blackwell. 311 – 326.
- Kumar, V., R. S. Cotran, S. L. Robbins. 2012. Buku Aja Patologi 7nd Edition. Jakarta: Penerbit Buku EGC.
- Leaper, D. 2012. *International Consensus : Appropriate Use of Silver Dressing in Wounds*. London: Wounds International Enterprise House
- Li, Q., S. Mahendra, D. Y. Lyon, L. Brunet, M. V. Liga, P. J. J. Li, and Alvarez. 2008. Antimicrobial Nanomaterials for Water Disinfection and

- Microbial Control: Potential Applications and Implications. *Water Res*, 42(1): 4591–4602.
- Lostapa, I. W. F. W., A. A. G. J. Wardhita, I. G. A. G. P. Pemayun, dan L. M. Sudimatini. 2016. Kecepatan Kesembuhan Luka Insisi yang Diberi Amoksisilin dan Asam Mefenamit pada Tikus Putih. *Buletin Veteriner Udayana* 8(2): 172- 179.
- Mansjoer, A., Suprohaita, W. I. Wardhani, W. Setiowulan, A. Wicaksono, dan A. Hamsah. 2000. *Kapita Selekta Kedokteran Jilid 2 (Edisi Ketiga)*. Jakarta: Media Aesculapius. 396-403.
- Moore, J. 2013. Vitamin C: A Wound Healing Perspective, *Br. J Community Nurs Suppl* 8-11.
- Myers, P., dan D. Armitage. 2004 *Rattus norvegicus*, Animal Diversity Web. // http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Rattus_norvegicus [3 Januari 2019]
- Nadworny, P. L., J. Wang, E. E. Tredget, dan R. E. Burrell. 2010. Anti-inflammatory Activity of Nanocrystalline Silver Derived Solutions in Porcine Contact Dermatitis. *J. Inflamm (Lond)*.
- Nurdiantini, I., S. Prastiwi, dan T. Nurmaningsari. 2017. Perbedaan Efek Penggunaan Povidone Iodine 10% dengan Minyak Zaitun Terhadap Penyembuhan Luka Robek (Lacerated Wound). *Nursing News*.
- Nuzantry, J. K. 2013. Efektivitas Campuran Ekstrak Aloe Vera dan Olive Oil dalam Formulasi Pelembab pada Kekeringan Kulit. *Laporan Karya Tulis Ilmiah*. Fakultas Kedokteran., Universitas Diponegoro.
- Ocyana, D. 2001. *Pelatihan Asuhan Persalinan Normal Bersih dan Aman*. Jakarta: Bakti Husada
- Ormerod, M. G. 2000. *Flow Cytometry: A Practical Approach, 3rd Edition*. Newyork: Oxford University Press
- Perdanakusuma D. S. 2007. *Anatomi Fisiologi Kulit dan Penyembuhan Luka*. Surabaya: Airlangga University School of Medicine.
- Pereira, R. F., and P. J. Bartolo. 2016. Traditional Therapies for Skin Wound Healing. *Adv Wound Care (New Rochelle)*
- Purbani. 2009. *Menguat Khasiat Jarak Pagar*. Jakarta: PT. Argo Media Pustaka.
- Purnama, H., Sriwidodo, dan S. Ratnawulan. 2015. Review Sistematis: Proses Penyembuhan dan Perawatan Luka. *Farmaka, Suplemen* 15(2).
- Qomariah, S., Lisdiana, dan W. Christijanti. 2014. Efektivitas Salep Ekstrak Batang Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli*) pada Penyembuhan Luka Sayat Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Unnes Journal of Life Science*.

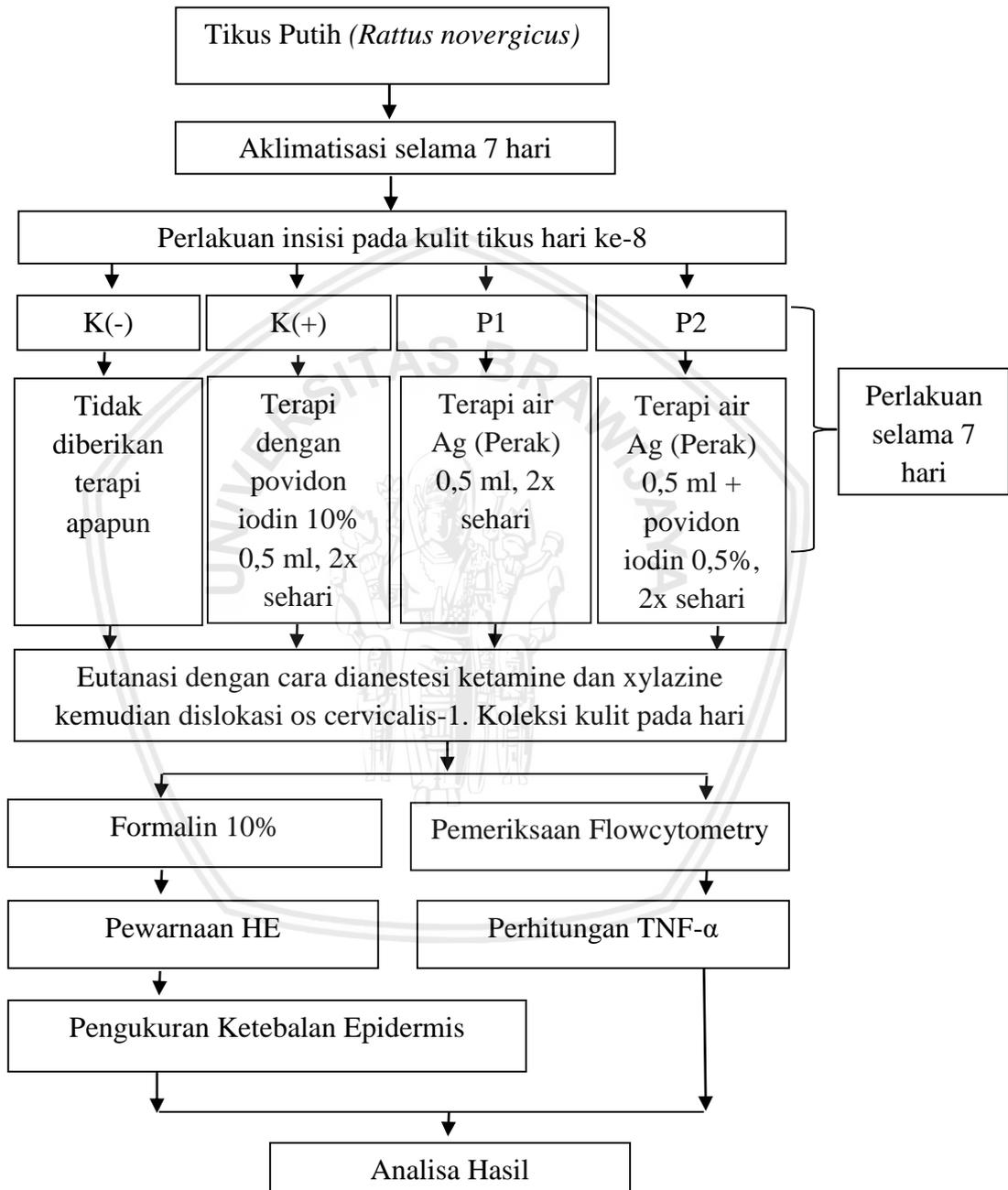
- Reksoprodjo, S. 2012. *Kumpulan Kuliah Ilmu Bedah*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Sabiston, D. C. 2007. *Sabiston Buku Ajar Bedah*. Jakarta: EDC
- Sastrawan, N. K. L., A. G. G. J. Wardhita, I. K. A. Dada, dan L. M. Sumartini. 2016. Perbandingan Kecepatan Kesembuhan Luka Insisi yang Diberi Amoksisilin- Dexametason dan Amoksisilin-Asam Mefenamat pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*). *Indonesia Medicus Veterinus* 2301-7848; 2477-6637
- Schreml, S., R. Szeimies, L. Prantl, M. Landthaler, and P. Babilas. Wound Healing in the 21st Century. *J Am Acad Dermatol* 63(5): 866-881.
- Schwartz, S.I., G. T. Shires, F.C. Spencer. 2000. Intisari Prinsip- Prinsip Ilmu Bedah Edisi 6. Jakarta: EGC
- Sharma, R., Rajkamal, R. Kumar, S. Mittal, and A. Kaur. 2016. Study Of Effect of Topical Nano Silver Gel on Wound Healing. *Journal of Advanced Medical and Dental Sciences Research*.
- Sirois, J. 2005. Laboratory Animal Medicine: Principles and Procedure. Elsevier. United States of America.
- Subowo. 2009. *Imunologi Edisi 2*. Jakarta: Sagung Seto.
- Sugiaman, V. K. 2011. Peningkatan Penyembuhan Luka di Mukosa Oral Melalui Pemberian Aloe Vera (Linn). Secara Topikal. *JKM* 11(1): 70-79
- Sugiyono. 2016. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D*. Bandung: PT Alfabet.
- Sularsih dan Soeprijanto. 2016. Pengaruh Penggunaan Kitosan dengan Berat Molekul yang Berbeda Terhadap Ekspresi Tumor Nekrosis Factor Alpha (TNF A) pada Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi Tikus Rattus Norvegicus. *Jurnal Material Kedokteran Gigi*.
- Supit, I. A., D. H. C. Pangemanan, dan S. R. Marunduh. 2015. Profil Tumor Necrosis Factor (TNF- α) Berdasarkan Indeks Massa Tubuh (IMT) pada Mahasiswa Fakultas Kedokteran Unsrat Angkatan 2014. *Jurnal e-Biomedik (eBM)* 3(2).
- Suriadi. 2004. *Perawatan Luka Edisi 1*. Jakarta: CV. Sagung Seto.
- Susetyo, B. 2010. *Statistika untuk Analisis Data Penelitian*. Bandung: Refika Aditama
- Syarif, M. Wasitaatmadja. 2007. *Anatomi Kulit*. Dalam: Adhi Djuanda, Mochtar Hamzah, Siti Aisah editor. Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin Edisi 5. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.

- Tari, R., J. Posanggi, dan P. M. Wowor. 2013. Uji Efek Daun Iler (*Coleus atropurpureus* [L.] Benth) Terhadap Penyembuhan Luka Insisi pada Kulit Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Jurnal e-Biomedik (eBM)* 1(1).
- Taylor, L., M. La. 1997. *Fundamentals of Nursing: the Art and Science of Nursing Care B (Third Edition)*. Philadelphia: Lippincott.
- Tjay, T. H. 2007. *Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Vij, K. 2008. *Textbook of Forensic Medicine and Toxicology: Principles and Practices*. New Delhi: Elsevier
- Werner, S. and G. Richard. 2003. Regulation of Wound Healing by Growth Factor and Cytokines. *Physiol Rev* 83: 835-70
- Zakariya, M., I. K. Sudiana, dan E. D. Wahyuni. 2009. Efektifitas Perawatan Luka Insisi dengan Madu dan Povidon Iodin 10%. *Jurnal Ners* 4(1): 1-8.
- Zhang, J., J. Guan, X. Niu, G. Hu, S. Gou, Q. Li, Z. Xie, C. Zhang, and Y. Wang. 2015. Exosomes Released from Human Induced Pluripotent Stem Cells-derived MSCs Facilitate Cutaneous Wound Healing by Promoting Collagen Synthesis and Angiogenesis. *Journal of Translational Medicine* 13:49
- Zulfa, M. E. dan D. Gayatri. 2008. Perbandingan Penyembuhan Luka Terbuka Menggunakan Balutan Madu Atau Balutan Normal Salin- Povidone Iodine. *J Keperawatan Indo*, 12(1): 34-39.



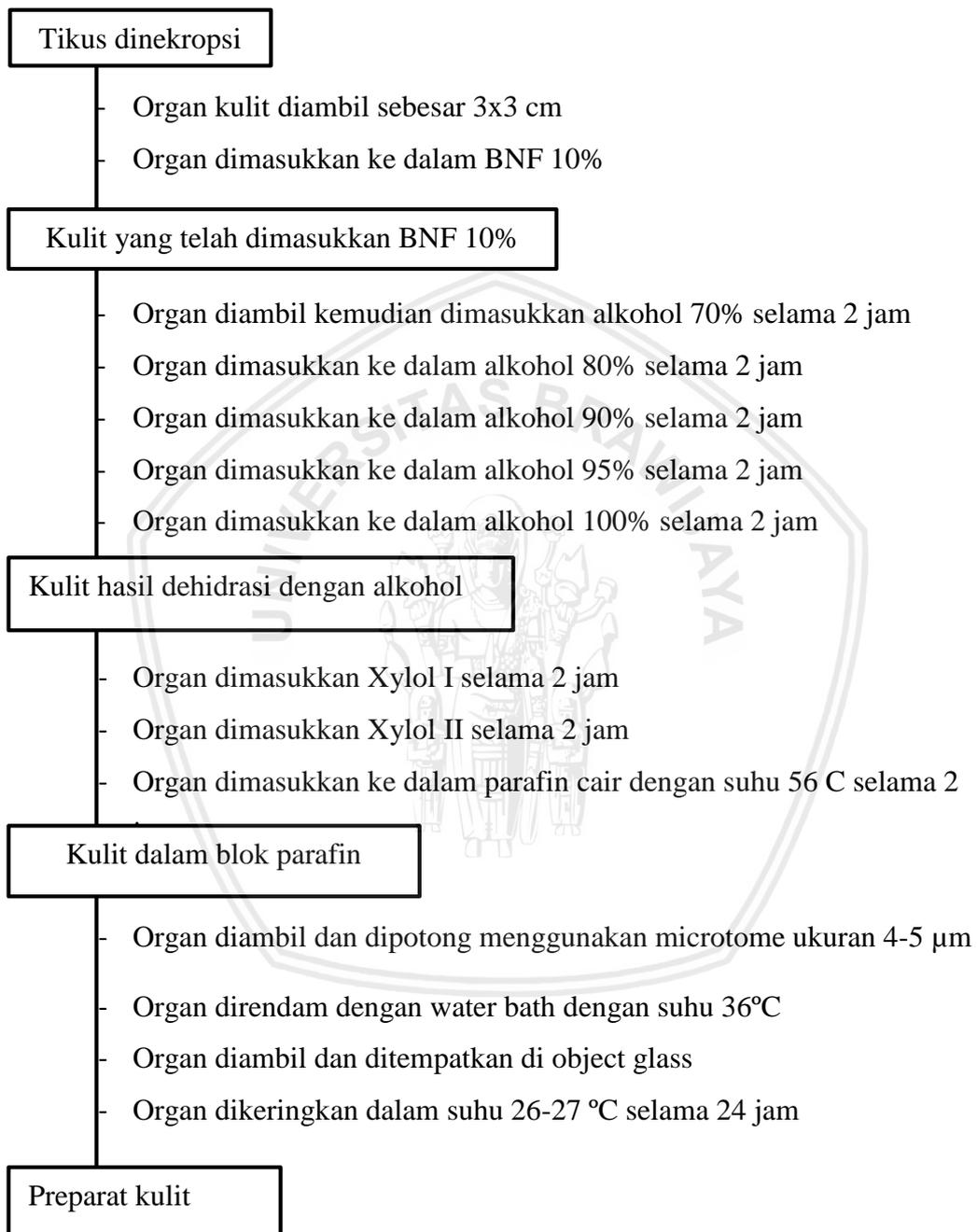
LAMPIRAN

Lampiran 1. Kerangka Operasional Penelitian



Lampiran 2. Diagram Kerja Penelitian

Lampiran 2.1. Pembuatan Preparat Organ Kulit



Lampiran 2.2. Prosedur Pewarnaan Haemathoxyllene-Eosin (HE)**Preparat kulit****Deparafinisasi**

Organ dicelupkan preparat ke dalam xylol I selama 5 menit

Organ dicelupkan preparat ke dalam xylol II selama 5 menit

Dehidrasi

Organ dimasukkan preparat ke dalam alkohol 95% selama 5 menit

Organ dimasukkan preparat ke dalam alkohol 90% selama 5 menit

Organ dimasukkan preparat ke dalam alkohol 80% selama 5 menit

Organ dimasukkan preparat ke dalam alkohol 70% selama 5 menit

Organ dialiri air mengalir selama 5 menit

Organ dimasukan dalam Meyer's Hemaktosilin selama 10 menit

Organ dicuci dengan air mengalir selama 30 menit

Dehidrasi

Organ dimasukkan preparat dalam alkohol 70% selama 5 menit

Organ dimasukkan preparat dalam alkohol 80% selama 5 menit

Organ dimasukkan preparat dalam alkohol 90% selama 5 menit

Clearing

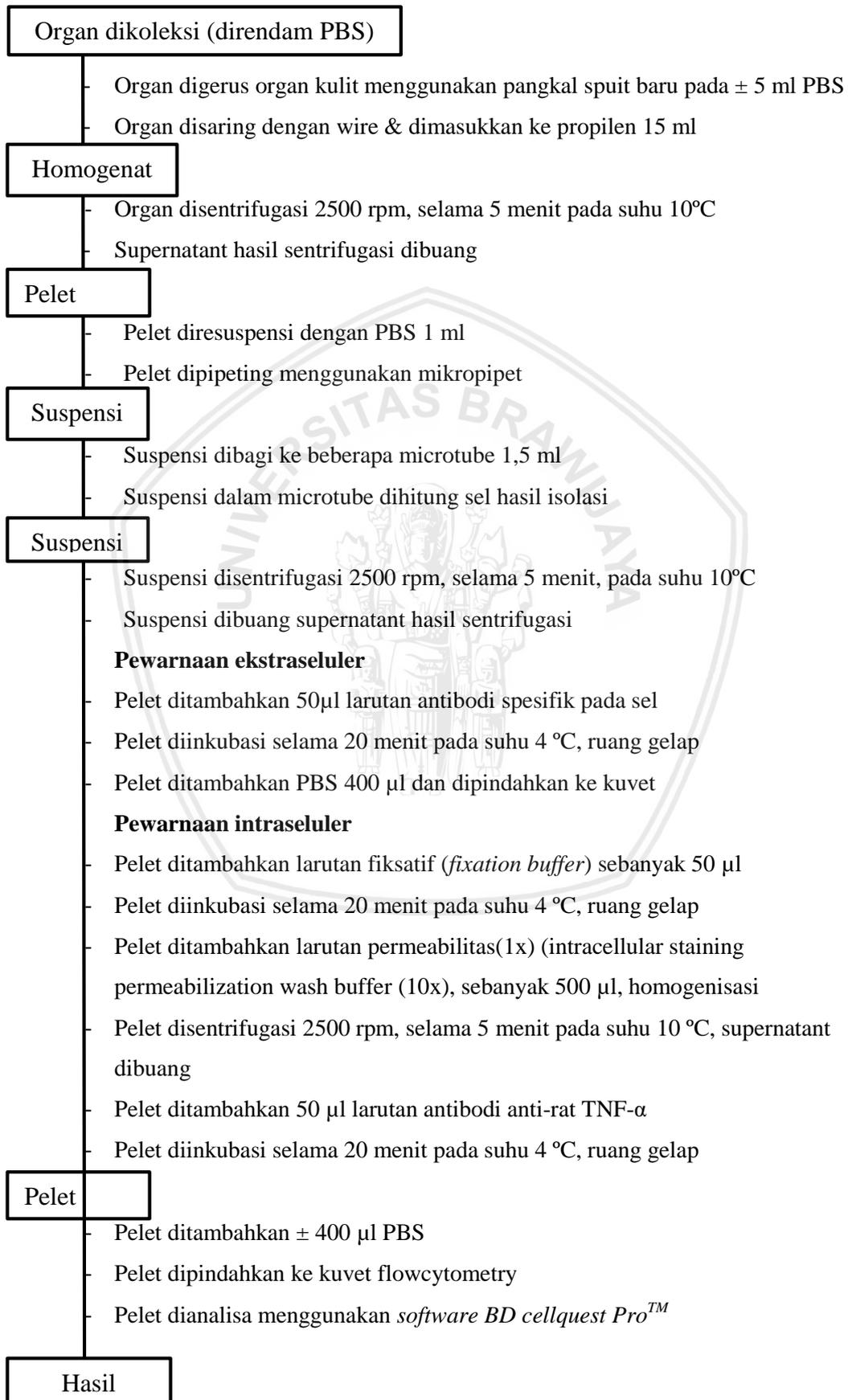
Organ dimasukkan dalam cairan xylol bertingkat I-III masing-masing selama 3 menit

Organ dikeringkan dengan cara dianginkan

Organ ditutup dengan menggunakan object glass

Preparat pewarnaan kulit HE

Lampiran 2.3. Isolasi Organ



Lampiran 3. Perhitungan Dosis Anestesi

Rata-rata BB tikus = 170 gram

= 0,17 kg

Perhitungan dosis ketamin

Volume = $\frac{\text{Dosis (mg/kg BB)} \times \text{Berat Badan (Kg)}}{\text{Konsentrasi (mg/mL)}}$

= $\frac{40 \text{ mg/kg} \times 0,17 \text{ kg}}{100 \text{ mg/mL}}$

= 0,068 mL

Perhitungan dosis xylazine

Volume = $\frac{\text{Dosis (mg/kg BB)} \times \text{Berat Badan (Kg)}}{\text{Konsentrasi (mg/mL)}}$

= $\frac{5 \text{ mg/kg} \times 0,17 \text{ kg}}{100 \text{ mg/mL}}$

= 0,0425

Lampiran 4. Sertifikat Laik Etik

**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARENCE"**

No: 1020-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

**PENELITIAN BERJUDUL : EFEK TERAPI Ag (PERAK) TERHADAP
HISTOPATOLOGI, KULIT DAN EKSPRESI MEDIATOR
IMFLAMASI PADA TIKUS PUTIH**

PENELITI : WAWID PURWATININGSIH

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 12 September 2018
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya



Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.
NIP. 19600903 198802 2 001

Lampiran 5. Perkembangan Berat Badan Hewan Coba

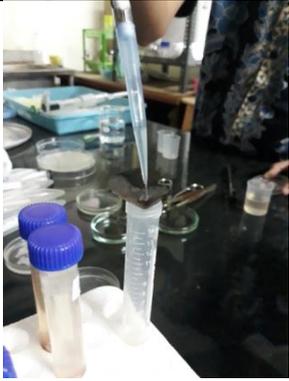
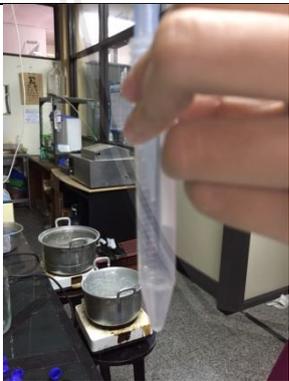
No.	Tanggal	Berat Badan
1	19 Oktober 2018	<p>Kontrol Negatif: Tikus 1: 165 g Tikus 2: 178 g Tikus 3: 180 g Tikus 4: 170 g Tikus 5: 169 g</p> <p>Kontrol Positif: Tikus 1: 159 g Tikus 2: 183 g Tikus 3: 161 g Tikus 4: 193 g Tikus 5: 175 g</p> <p>Perlakuan 1: Tikus 1: 168 g Tikus 2: 163 g Tikus 3: 184 g Tikus 4: 178 g Tikus 5: 164 g</p> <p>Perlakuan 2: Tikus 1: 190 g Tikus 2: 187 g Tikus 3: 169 g Tikus 4: 188 g Tikus 5: 173 g</p>
2	30 Oktober 2018	<p>Kontrol Negatif: Tikus 1: 199 g Tikus 2: 179 g Tikus 3: 180 g Tikus 4: 204 g Tikus 5: 203 g</p> <p>Kontrol Positif: Tikus 1: 205g Tikus 2: 183 g Tikus 3: 188 g Tikus 4: 193 g Tikus 5: 201 g</p>

		<p>Perlakuan 1: Tikus 1: 198 g Tikus 2: 188 g Tikus 3: 184 g Tikus 4: 179 g Tikus 5: 204 g</p> <p>Perlakuan 2: Tikus 1: 190 g Tikus 2: 187 g Tikus 3: 197 g Tikus 4: 188 g Tikus 5: 180 g</p>
--	--	---



Lampiran 6. Dokumentasi Prosedur *Flowcytometry*

No.	Gambar	Keterangan
1		Sample kulit dimasukkan ke dalam PBS.
2		Sample kulit digerus.
3		Sample kulit dimasukkan lagi kedalam PBS untuk dihomogenkan.

4		<p>Sample kulit difilter dengan <i>wire filter</i> lalu di sentrifugasi.</p>
5		<p>Hasil supernatant dibuang.</p>
6	 	<p>Hasil endapan direndam dalam cytofix dan cytoferm 100μL selama 20 menit, kemudian ditambahkan antibody intraseluler staining NF-kB.</p>
7		<p>Hasil akhir dilakukan analisis dengan software BD cellquest Pro™.</p>

Lampiran 7. Data Uji Statistika Kadar Relatif TNF- α

a. Normalitas

- Data asli

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	KELOMPOK	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
DATA	1	.169	5	.200*	.973	5	.893
	2	.208	5	.200*	.923	5	.548
	3	.210	5	.200*	.935	5	.631
	4	.226	5	.200*	.885	5	.330

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

- Data setelah ditransform

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	PERLAKUAN	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
DATA_BARU	1	.156	5	.200*	.979	5	.932
	2	.216	5	.200*	.933	5	.617
	3	.208	5	.200*	.941	5	.670
	4	.217	5	.200*	.892	5	.368

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

b. Homogenitas

- Data asli

		Test of Homogeneity of Variances			
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
DATA	Based on Mean	5,006	3	16	,012
	Based on Median	3,221	3	16	,051
	Based on Median and with adjusted df	3,221	3	9,715	,071
	Based on trimmed mean	5,039	3	16	,012

-

- Data setelah ditransform

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
DATA_BARU	Based on Mean	4.201	3	16	.023
	Based on Median	2.650	3	16	.084
	Based on Median and with adjusted df	2.650	3	11.356	.099
	Based on trimmed mean	4.181	3	16	.023

c. Kruskal- Wallis

Test Statistics^{a,b}

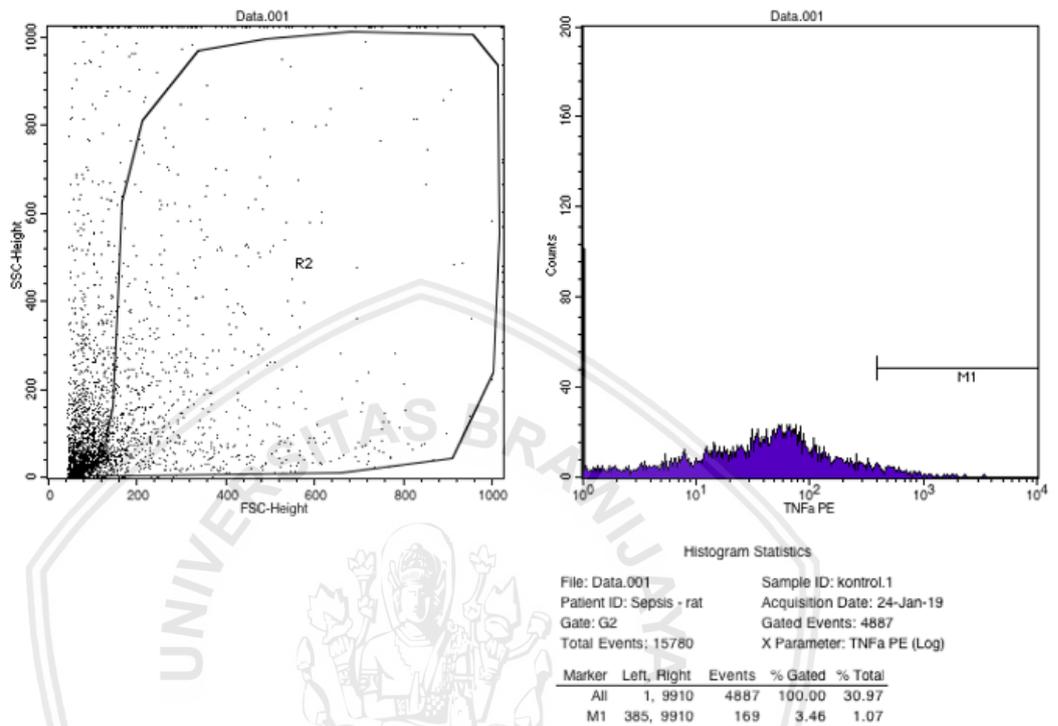
	DATA
Kruskal-Wallis H	8.760
df	3
Asymp. Sig.	.033

a. Kruskal Wallis Test

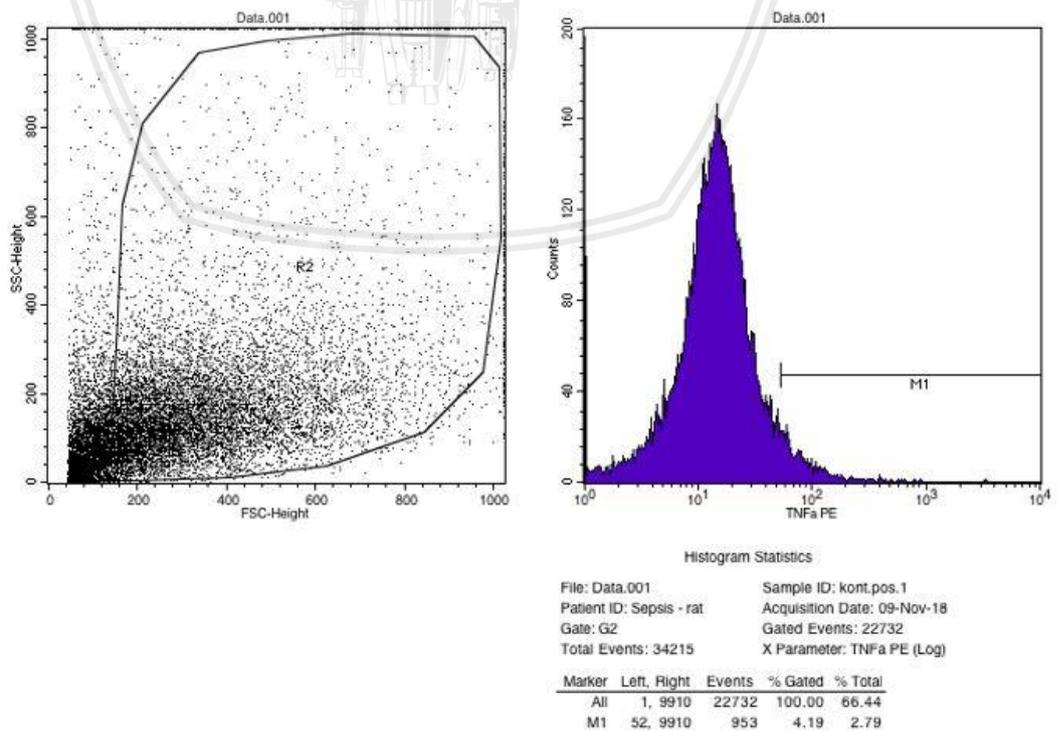
b. Grouping Variable: KELOMPOK

Lampiran 8. Kurva Kadar Relatif TNF

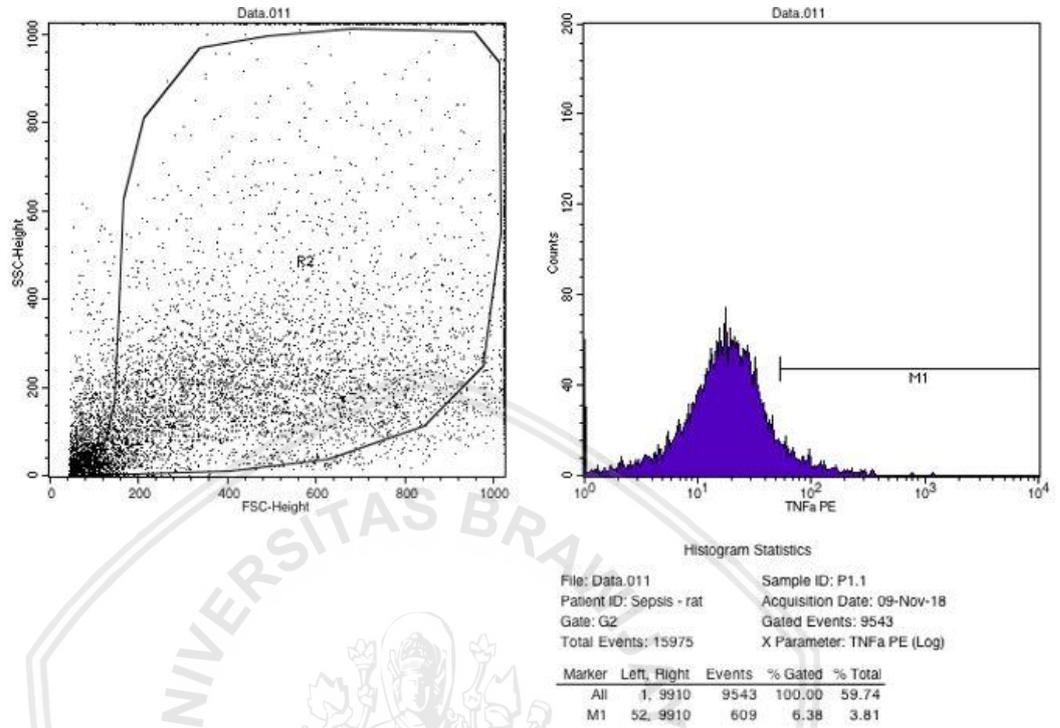
a. Kontrol Negatif



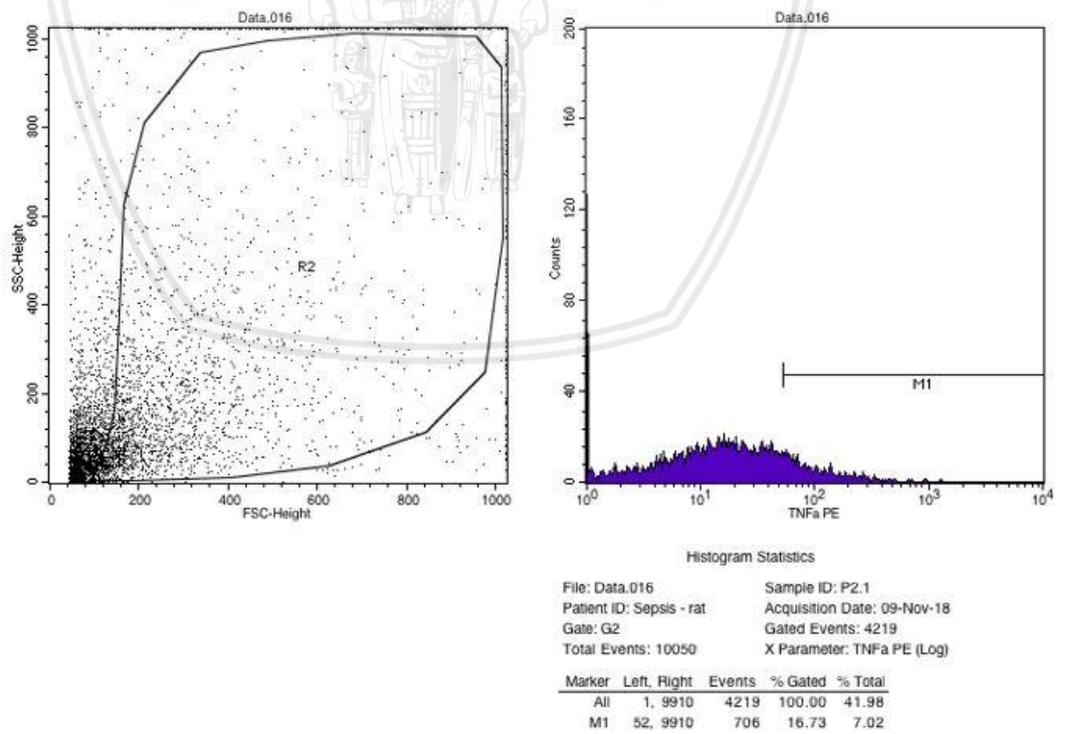
b. Kontrol Positif



c. Perlakuan 1



d. Perlakuan 2



Lampiran 9. Data Uji Statistika Perhitungan Ketebalan Epidermis

a. Homogenitas

- Data asli

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
DATA	Based on Mean	5,006	3	16	,012
	Based on Median	3,221	3	16	,051
	Based on Median and with adjusted df	3,221	3	9,715	,071
	Based on trimmed mean	5,039	3	16	,012

- Data setelah ditransform

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
DATA_BARU	Based on Mean	2,772	3	16	,075
	Based on Median	1,248	3	16	,325
	Based on Median and with adjusted df	1,248	3	10,999	,339
	Based on trimmed mean	2,430	3	16	,103

b. Normalitas

- Data asli

Tests of Normality

	PER	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
DATA	1	,236	5	,200*	,904	5	,435
	2	,242	5	,200*	,904	5	,435
	3	,451	5	,001	,608	5	,001
	4	,353	5	,041	,782	5	,057

*. This is a lower bound of the true significance.

- a. Lilliefors Significance Correction

- Data setelah ditransform

Tests of Normality

	PER	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
DATA_BARU	1	,238	5	,200*	,899	5	,407
	2	,201	5	,200*	,909	5	,464
	3	,381	5	,017	,778	5	,053
	4	,347	5	,049	,776	5	,051

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

c. One Way ANOVA

ANOVA

DATA_BARU	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3,223	3	1,074	7,762	,002
Within Groups	2,215	16	,138		
Total	5,438	19			

d. BNJ

DATA_BARU

Tukey HSD^a

PER	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
2	5	1,0292	
3	5	1,1541	
4	5	1,6732	1,6732
1	5		2,0260
Sig.		,063	,461

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 10. Penyembuhan Luka pada Hari ke-3 dan ke-7 Pasca Pemberian Perlakuan

Kelompok	Ulangan	Penyembuhan Luka (Hari)	
		3	7
P.1	1	●*	**+
	2	●**	**+
	3	●*	**✓
	4	●*	**✓
	5	●**	**✓
P.2	1	●●**	+
	2	●●**	+
	3	●●**	+
	4	●●*	✓
	5	●●**+	✓
P.3	1	●●**	✓
	2	●●**+	✓
	3	●●**+	✓
	4	●●**+	✓
	5	●**	✓

Keterangan:

- : Eritrema
 - : Sedikit eritrema
 - * : Edema
 - ** : Sedikit Edema
 - +
 - ✓
- + : Luka mulai menutup
 ✓ : Luka menutup