

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ulkus Traumatik

2.1.1 Definisi

Ulkus merupakan defek lokal akibat terkelupasnya jaringan yang nekrotik, biasanya terjadi di permukaan sehingga sering dijumpai pada kulit, mukosa, dan jaringan subkutan (Greenberg, 2008; Mitchell dan Cotran 2010). Ulkus juga bisa merupakan kerusakan epithelium yang dapat terbentuk akibat kondisi imunologis seperti lichen planus, HIV, syphilis, defisiensi vitamin, dan sebagainya (Scully, 2004). Ulkus traumatik merupakan jenis lesi ulkus, yaitu keabnormalan yang terjadi pada mukosa di rongga mulut yang disebabkan karena trauma (Greenberg, 2008; Mitchell dan Cotran 2010). Ulkus traumatik juga bisa diartikan kerusakan epithelium yang menembus membrana basalis dan lamina propria yang disebabkan karena trauma (Regezi *et al*, 2012). Penyebab dari ulkus traumatik ini ada beberapa macam yakni karena mekanik, elektrik dan termal, serta kimiawi (Scully, 2004; Neville *et al*, 2009; Regezi *et al*, 2012).

2.1.2 Trauma Mekanik

Lesi berupa ulkus yang sederhana disebabkan trauma mekanik. Hal ini bisa karena tergigit, terkena sikat saat menyikat gigi, kebiasaan yang abnormal seperti menggigit-gigit mukosa; dalam hal ini berkaitan dengan psikologis seseorang yang sering merasa gelisah atau dalam ketakutan, penggunaan protesa dan jika pada bayi biasa terdapat *Riga-fede disease* yang merupakan proses penyesuaian gigi anterior sulung pada saat menyusui, dapat terjadi pada umur bayi di minggu pertama sampai 1 tahun pertama, sering terlihat pada *natal*

maupun *neonatal teeth*, ulkus berada pada bagian anterior ventral dan dorsum lidah. Lebih sering pada ventral karena gigi pada rahang bawah lebih sering mengenai bagian tersebut, sedangkan jika lesi pada dorsum lidah dikarenakan terkena gigi pada rahang atas (Neville *et al*, 2009).

Ulkus traumatik ini sering terjadi pada regio yang diapit oleh gigi geligi, seperti mukosa labial bawah, lidah, mukosa bukal, dan mukobukal fold jika karena iritasi (Neville *et al*, 2009; Regezi *et al*, 2012). Penatalaksanaan ulkus karena trauma mekanik adalah menghilangkan faktor penyebab, misal jika terluka karena ada gigi yang tajam, maka gigi tersebut harus digrinding (Neville *et al*, 2009).



Gambar 2.1 Ulkus karena trauma mekanik (Neville *et al*, 2009)

2.1.3 Trauma Elektrik dan Termal

Jenis ulkus traumatik yang paling berbahaya adalah trauma elektrik karena menimbulkan luka bakar. Penyebab tersering karena stop kontak dan arsen. Insidensi pada anak-anak dibawah usia 4 tahun. Akibat paling fatal dari trauma ini apabila *electric current*, karena dapat menyebabkan *cardiopulmonary arrest*. Pada *arc type* (arsen) saliva berperan sebagai media penghantar dan lengkungan elektriknya mengalirkan listrik antara sumber energi dan mulut (Neville *et al*, 2009). Gambaran klinis berwarna kuning dengan atau tanpa pendarahan sampai berwarna hitam dengan daerah terinfeksi akan nekrotik pada

hari ke-4, edema bisa terjadi sampai hari ke-12. Gigi yang berdekatan dengan daerah terinfeksi bisa menjadi nonvital kemudian bisa nekrosis dan mengelilingi tulang alveolar. Pasien yang terluka karena sengatan elektrik bertegangan tinggi bisa terkena *facial nerve paralysis*, namun akan sembuh dalam beberapa minggu-bulan (Neville *et al*, 2009).

Penatalaksanaan dari trauma elektrik harus diberikan suntikan tetanus, dan jika dikhawatirkan akan ada infeksi sekunder, bisa diberikan antibiotik seperti penisilin. Jika kerusakan parah, bisa dilakukan operasi dengan *surgical reconstruction*, dan apabila meliputi gigi geligi biasanya akan dilakukan *splinting* sampai masa penyembuhan selesai, yakni 6-8 bulan serta evaluasi selama 1 tahun agar gigi tidak goyang atau mengalami pergerakan sehingga gigi tetap stabil (Neville *et al*, 2009).



Gambar 2.2 Ulkus karena trauma elektrik (Neville *et al*, 2009)

Ulkus traumatik disebabkan termal sering terjadi karena panas dari makanan misalnya *pizza burn* (keju panas yang meleleh dalam mulut) maupun dari minuman dan biasanya sering mengenai daerah anterior, khususnya palatum dan mukosa bukal. Lesi terlihat seperti eritema dengan bagian yang nekrotik. Biasanya tidak dilakukan perawatan, jika diberi obat maka berfungsi sebagai pengurang rasa sakit dan mencegah infeksi. Untuk pencegahan infeksi sekunder tindakan yang dilakukan adalah memberi antibiotik profilaksis, yaitu

penisilin (Neville *et al*, 2009). Kemoterapi dan radioterapi pada pasien dengan keganasan di daerah kepala dan leher dapat pula menimbulkan lesi berupa ulkus di jaringan (Regezi *et al*, 2012).

Pada pasien yang menjalani kemoterapi dan radioterapi dapat menimbulkan lesi berupa ulkus di jaringannya dengan berbagai macam bentuk dan lokasi. Pada pasien kemoterapi biasanya lesi bisa menyebar dengan luas pada lubang gigi dan orofaring, sedangkan radioterapi dapat menyebabkan ulkus beberapa minggu setelah dilakukan terapi tersebut. Namun jika pasien menjaga kebersihan gigi dan mulutnya dengan baik, ulkus tersebut bisa sembuh dengan sendirinya tanpa meninggalkan bekas luka. Gambaran klinis dari terapi radiasi ini adalah mulut pasien kering dan terjadi penipisan epitelium (Scully, 2004; Regezi *et al*, 2012). Sedangkan untuk trauma termal, biasa tampak pada palatum atau mukosa bukal bagian posterior. Nampak adanya zona ulserasi dan epitel yang nekrotik di tepi-tepinya.

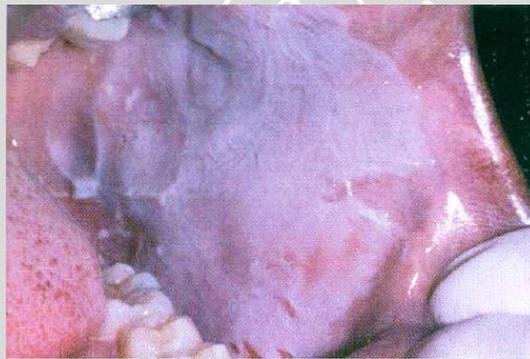


Gambar 2.3 Ulkus karena trauma termal (Neville, 2009)

2.1.4 Trauma Kimiawi

Ulkus traumatik yang lain bisa dikarenakan iatrogenik (kesalahan operator) atau trauma kimiawi, dalam hal ini berkaitan kesalahan dokter gigi saat praktek misalnya saat pelepasan cotton roll yang kurang tepat dan didalamnya terdapat bahan kimia, tekanan dari *saliva ejector* bahkan dari *rotary instrument*

yang mungkin tidak sengaja mengenai jaringan lunak rongga mulut pasien. Trauma kimia yang lain yakni pada penggunaan bahan-bahan kimia atau material endodonti saat perawatan saluran akar, *bleaching*, dan semacamnya, serta obat-obatan yang dapat menyebabkan iritasi dan alergi. Obat-obatan seperti aspirin yang dipakai pada jaman dulu bisa menyebabkan mukosa terbakar bahkan nekrosis, asam asetilsalisilat juga bisa menyebabkan dampak yang hampir sama. Dikatakan pula bahwa medikamen untuk mengatasi lubang di gigi khususnya senyawa *phenol* bisa menyebabkan nekrosis jaringan (Regezi *et al*, 2012).



Gambar 2.4 Ulkus karena trauma kimiawi, *aspirin burn* (Neville *et al*, 2009)

2.1.5 Diagnosis

Secara garis besar, ulkus diklasifikasikan menjadi akut dan kronik. Gambaran klinis pada ulkus akut adalah rasa sakit yang bervariasi, dasar putih atau kekuningan dengan halo eritema, memiliki riwayat trauma, bengkak, kemerahan dan akan sembuh secara fisiologis dalam 7-10 hari. Pada ulkus yang kronik hanya menimbulkan sedikit atau bahkan tanpa rasa sakit, dasar berwarna kekuningan, meninggalkan bekas luka atau *scar*, jika terkena iritasi akan terjadi keterlambatan proses penyembuhan khususnya lesi pada lidah, dan secara klinis sebenarnya mirip karsinoma atau ulkus yang infeksi (Regezi *et al*, 2012).

Ulkus traumatik jenis akut bisa ditegakkan diagnosanya lewat gambaran klinis, hubungan sebab akibat, dan riwayat dari lesi. Namun jika ada sebab yang tidak jelas, perlu dilakukan pemeriksaan penunjang. Jenis lesi dari ulkus kronik tidak bisa secara langsung ditegakkan karena punya gambaran klinis yang tidak khas sehingga terdapat diagnosis banding seperti kondisi infeksi (syphilis, TBC, dan infeksi jamur yang dalam). Lesi kronik bisa dilihat proses penyembuhannya sekitar dua minggu dengan catatan pasien dapat menjaga kebersihan gigi dan mulutnya dengan baik. Jika lebih dari waktu tersebut lesi tidak semakin membaik dan melebar, maka perlu dilakukan biopsi (Regezi *et al*, 2012).

2.1.6 Terapi Untuk Ulkus Traumatik

Sampai saat ini prinsip dasar terapi ulkus traumatik adalah menghilangkan faktor penyebab dan mempercepat proses penyembuhan. Apabila penyebab atau trauma tidak dihilangkan maka proses penyembuhannya akan lebih lama, ulkus akan sembuh secara fisiologis dalam 7-10 hari. Terapi yang diberikan berupa pengurang atau penghilang rasa sakit dengan tujuan proses penyembuhan akan berlangsung lebih cepat. Ulkus traumatik bisa diterapi dengan memakai obat seperti kortikosteroid topikal disertai dengan anestesi topikal untuk mengurangi rasa sakit dan mempercepat kesembuhan (Regezi *et al*, 2012). Untuk menjaga kebersihan gigi dan mulut bisa ditambahkan *sodium bikarbonat* dalam air atau obat kumur yang mengandung antiseptik yang juga berguna membersihkan dan melindungi jaringan di rongga mulut serta untuk mengurangi rasa sakit karena terdapat lesi (Lewis and Jordan, 2004; Neville *et al*, 2009; Pratami JF., 2011).

Pengobatan yang umum dilakukan untuk ulkus traumatik saat ini adalah *Triamcinolone acetonide 0,1%*, merupakan golongan steroid dan dioleskan

secara topikal. Golongan steroid diketahui memiliki efek pada saluran cerna, ginjal, dan hati, namun karena obat ini hanya dioleskan secara topikal maka tergolong aman. Manfaat dari obat tergantung dari dosis yang diberikan, semakin tinggi dosis akan makin besar pula khasiatnya, namun jika steroid digunakan dalam jangka panjang dalam hitungan tahun, dapat menyebabkan nefrotik analgesik, sedangkan jika digunakan sebagai habitual dapat menyebabkan gagal ginjal (Scully, 2006; Wilmana PF dan Gan Sulistia, 2011; Suherman SK dan Ascobat P.,2011).

Triamcinolone acetonide 0,1% adalah golongan kortikosteroid topikal memiliki efek antiinflamasi, antialergi, dan analgesik sehingga dapat mempercepat penyembuhan ulkus dan mengurangi keparahan lesi. Meskipun *Triamcinolone acetonide 0,1%* memiliki *intermediate acting* atau memiliki waktu paruh 12-36 jam dan obat ini dikategorikan aman, namun beberapa pasien dapat mengalami hipersensitifitas (McCullough MJ, 2005; Wilmana P.F dan Gan Sulistia, 2011). Obat ini diindikasikan untuk pengobatan lesi inflamasi mulut dan lesi ulseratif (Scully, 2006). Kontra indikasi penggunaan *Triamcinolone acetonide 0,1%* adalah pasien dengan riwayat hipersensitivitas terhadap golongan steroid. Jika pasien mengalami hipersensivitas, maka penggunaan obat harus dihentikan. Efek samping penggunaan obat ini dapat menyebabkan *oral candidiasis* (Scully, 2006).

Efek utama dari penggunaan kortikosteroid secara topikal adalah vasokonstriksi, antiinflamasi dan antimitosis (Muhandari, 2004). Kortikosteroid topikal merupakan golongan obat yang ampuh digunakan untuk menurunkan gejala inflamasi pada beberapa kasus penyakit di kulit. Dibanding dengan pemakaian kortikosteroid oral, senyawa kortikosteroid topikal mempunyai afinitas

yang tinggi terhadap reseptornya dan juga mengalami inaktivasi yang cepat dan efisien di hati, sehingga efek sistemiknya minimal karena memiliki bioavailabilitas yang rendah. Berikut prosentase bioavailabilitas kortikosteroid: *Hidrokortison* (40-70%), *Prednison* (60-100%), *Dexametasone* (49-99%), *Metilprednisolone* (53-83%), *Flunisolide* (21%), *Budesonide* (11-13%), *Triamcinolone* (22%) (Tjahyadewi, 2003). Resiko terberat meski jarang terjadi dalam penggunaan kortikosteroid topikal adalah absorbs sistemik sehingga terjadi tekanan pada aksis adrenal-hipotalamus dan dapat pula terjadi glukoma. Efek samping yang sering terjadi secara lokal adalah pada kulit tampak atrofi, striae, purpura dan perubahan warna kulit. Efek samping secara langsung tergantung dari potensi kortikosteroid, lama, dan cara penggunaannya (Muhandari, 2004).

Berikut ini merupakan golongan kortikosteroid yang sering digunakan:

Steroid	UK trade name	Dosage every six hours
Low potency		
Hydrocortisone hemisuccinate pellets	Corlan	2.5 mg pellet dissolved in mouth close to ulcers
Medium potency		
Triamcinolone acetonide 0.1% in carmellose gelatin paste	Adcortyl in Orabase	Apply paste to dried lesions
Betamethasone phosphate tablets	Betnesol	0.5 mg; use as mouthwash
High potency		
Beclometasone (Beclomethasone) dipropionate spray	Becotide 100	1 puff (100 micrograms) to lesions

Tabel 2.1 Kortikosteroid topikal (Barnard, N.A, 2002)

Pemakaian kortikosteroid dalam kedokteran gigi untuk terapi ulkus traumatik sebenarnya masih menjadi kontroversi karena tidak semua dokter berhasil memberikan obat ini kepada pasien khususnya sebagai terapi ulkus traumatik dengan lesi kronik (Lewis and Jordan, 2004; Neville *et al*, 2009; Pratami

JF., 2011). Pengobatan tradisional atau yang biasa dikenal dengan herbal yang sedang marak saat ini di masyarakat dirasa lebih alami dan lebih dianjurkan dalam penyembuhan ulkus traumatik. Obat ini bisa berasal dari bahan atau ramuan dari tumbuhan, hewan, mineral, sediaan sari ataupun campuran dari bahan-bahan tersebut. Obat-obatan alami tersebut memiliki khasiat yang lebih lengkap dengan efek samping yang minimal (Taebe, 2010).

2.2 Penyembuhan Ulkus

2.2.1 Ulkus

Sel merupakan bagian tubuh terkecil dari makhluk hidup yang memiliki kemampuan yang luar biasa untuk mempertahankan dirinya. Ketika ada rangsangan dari luar, sel dapat beradaptasi membentuk sel yang baru sehingga dapat melangsungkan hidupnya. Adaptasi dari sel ada empat yakni, atrofi, hipertrofi, hiperplasi, serta metaplasia. Jejas atau luka merupakan perwujudan atau respon sel yang berlebihan dari kemampuan adaptasi tersebut. Luka (*wound* atau *vulnus*) adalah gangguan pada struktur jaringan yang berhubungan dengan hilangnya jaringan. Jaringan yang hilang tersebut perlu dikembalikan lewat proses penyembuhan luka dengan cara regenerasi maupun pembentukan jaringan parut. Dalam proses penyembuhan luka tersebut tujuannya adalah mengembalikan integritas jaringan yang rusak ke bentuk maupun fungsi normalnya (Mercandetii, 2005; Mitchell dan Cotran, 2010).

Ulkus dalam kamus kedokteran adalah luka terbuka pada permukaan kulit, selaput lendir ataupun mukosa (2001). Sedangkan menurut kamus kedokteran gigi merupakan defek lokal akibat terkelupasnya jaringan yang

nekrosis (Harty, FJ, 2012). Sehingga proses penyembuhan ulkus sama halnya dengan proses penyembuhan luka atau jejas (Mitchell dan Cotran, 2010).

2.2.2 Tahapan Penyembuhan Luka

Luka adalah kerusakan atau terputusnya keutuhan jaringan yang dapat menimbulkan reaksi tubuh berupa peradangan. Proses yang mengarah terhadap perbaikan matriks biologis dan mengembalikan kestabilan integritas jaringan karena rusaknya jaringan disebut proses penyembuhan luka. Proses penyembuhan luka merupakan hal yang kompleks dan terdiri dari beberapa tahapan. Fase inflamasi merupakan tahap awal yang ditandai dengan hemostatis, degranulasi trombosit dan pembentukan *blood clotting*. Luka mengakibatkan kerusakan struktur jaringan dan perdarahan, segera setelah ada luka, terjadi dilatasi arteriol yang diawali vasokonstriksi singkat. Peningkatan permeabilitas vaskuler tersebut diikuti oleh keluarnya protein plasma dan leukosit ke dalam jaringan yang disebut *eksudasi* dan ini merupakan gambaran awal inflamasi (Mitchell dan Cotran, 2010). Inflamasi berperan sebagai pelindung tubuh dari serangan bakteri maupun benda asing saat terjadinya luka (Guyton dan Hall, 2008; Mitchell dan Cotran, 2010).

Tahapan inflamasi meliputi respon vaskuler dan seluler, leukosit sebagai imunitas tubuh mengeluarkan produk-produknya yang kemudian menempel ke sel endotel pembuluh darah di daerah inflamasi, lalu beremigrasi melewati dinding kapiler dan masuk ke rongga jaringan, proses ini disebut *ekstravasasi*. Sel awal yang berperan dalam inflamasi adalah PMN. Pada hari kedua dan ketiga setelah luka, populasi sel inflamasi yang lebih dominan adalah makrofag. Selain fagositosis makrofag juga mensekresi sitokin dan *growth factor* penting pada proses penyembuhan luka. Puncak tertinggi jumlah makrofag pada proses

penyembuhan luka terjadi pada hari kelima dan semakin menurun seiring proses penyembuhan luka selesai sekitar hari ketujuh hingga hari kesepuluh (Guyton dan Hall, 2008).

Fase inflamasi yang panjang akan menghambat proses penyembuhan luka karena komponen dalam reaksi inflamasi yang menghancurkan serta menghilangkan mikroorganisme maupun jaringan luka dapat juga merusak jaringan yang normal (Mitchell dan Cotran, 2010). Menurut Hakkinen (2012) semakin cepat sel inflamasi merespon luka, maka akan mempercepat proses penyembuhan luka pada tahap selanjutnya karena fungsi sel inflamasi adalah membersihkan jaringan luka. Fase proliferasi dalam proses penyembuhan luka baru dapat dimulai apabila area luka bersih dari komponen jaringan yang rusak, mikroorganisme, serta sel-sel *host* yang sudah tidak berfungsi lagi (Cooper, 2013). Menurut Torre dkk. (2013) apabila fase inflamasi hampir selesai jumlah sel makrofag pada jaringan luka akan menurun.

Secara garis besar berikut merupakan proses penyembuhan luka (Mitchell dan Cotran, 2010):

1. Inflamasi

Suatu respon protektif yang bertujuan menghilangkan penyebab awal jejas dan membuang baik sel maupun jaringan yang menyebabkan sel menjadi nekrotik (debris, bakteri, organisme lain). Tanda dari peradangan ini ada 5 yaitu panas (kalor), kemerahan (rubor), dan bengkak (tumor), serta 2 tambahannya yaitu nyeri (dolor) dan kehilangan fungsi (*functio laesa*), hal tersebut dikarenakan keluarnya sel yang berperan di dalamnya beserta mediator kimiawi. Fase inflamasi dimulai segera setelah terjadinya luka pada jaringan dan berlangsung selama 3-5 hari. Selanjutnya akan terjadi pengaktifan komplemen kinin, kaskade

pembekuan dan pembentukan plasmin. Pembentukan kinin dan prostaglandin menyebabkan vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas dari pembuluh darah. Hal ini menyebabkan pembengkakan dan nyeri. PMN bergerak cepat dan sudah berada di tempat luka 2-4 jam dan mencapai puncak pada 24-48 jam pertama pasca terjadinya luka. Fungsi utama dari PMN adalah memfagositosis bakteri yang masuk sehingga keberadaan sel ini menunjukkan bahwa luka terkontaminasi bakteri. Apabila tidak terjadi infeksi sel-sel PMN memiliki umur yang pendek dan jumlahnya akan menurun dengan cepat setelah hari ke-3 (Mitchell dan Cotran, 2010).

Reaksi imun seluler selanjutnya adalah monosit yang bersirkulasi dalam pembuluh darah, monosit sendiri membutuhkan waktu 7-8 jam untuk sampai ke tempat luka. Makrofag terbentuk dari monosit karena proses kemotaksis dan migrasi. Makrofag muncul pada 48-96 jam pertama setelah terjadi luka dan mencapai puncak pada hari kelima. Makrofag memiliki umur yang lebih panjang daripada PMN dan tetap berada dalam daerah luka sampai proses penyembuhan berjalan sempurna.

Limfosit T muncul hampir bersamaan dengan makrofag. Makrofag bekerja sebagai sentinel untuk memperingatkan komponen spesifik sistem imun (sel T dan sel B). Sinyal aktivasi yang meliputi sitokin disekresi oleh limfosit T yang tersentisasi terutama IFN- γ (*interferon γ*), berbagai mediator yang dihasilkan selama inflamasi akut, endotoksin bakteri, dan protein matriks ekstraseluler seperti fibronectin. Setelah teraktivasi, makrofag menyekresi produk biologik aktif (protease asam, komponen komplemen dan faktor koagulasi, spesies oksigen reaktif dan NO, eikosanoid, dan sitokin seperti IL1 dan TNF) dalam jumlah yang apabila tidak diawasi dapat menyebabkan bekas luka pada jaringan atau

berlanjut ke inflamasi kronik. Limfosit terlihat dengan jumlah yang bermakna pada hari kelima dan puncaknya pada hari ketujuh. Makrofag dan limfosit T sangat penting perannya dalam proses penyembuhan luka.

Makrofag memfagositosis dan mencerna organisme-organisme patologis dan sisa-sisa jaringan yang telah rusak. Selain itu makrofag yang telah teraktivasi akan mampu menghasilkan beberapa produk biologis berupa enzim, protein plasma, metabolit reaktif oksigen, mediator lipid radang dan faktor pengatur sel lain. Produk-produk biologis tersebut mempermudah terbentuknya sel inflamasi tambahan yang membantu makrofag dalam dekontaminasi dan membersihkan sisa jaringan nekrotik. Makrofag juga melepaskan faktor pertumbuhan dan substansi lain yang mengawali dan mempercepat pembentukan formasi jaringan granulasi (Baratawidjaja K.G dan Rengganis I, 2009; Mitchell dan Cotran, 2010).

Produk biologis makrofag aktif, *growth factor* yang berperan dalam penyembuhan luka:

- a. *Fibroblas Growth Factor* (FGF); menstimulasi terbentuknya fibroblas.
- b. Faktor Pertumbuhan Dasar Fibroblas (*bFGF*); merekrut makrofag dan fibroblas di tempat luka dan menginduksi semua tahapan yang diperlukan untuk angiogenesis.
- c. *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF); menyebabkan migrasi dan proliferasi fibroblas, sel otot polos dan monosit, meningkatkan penyembuhan secara in vitro.
- d. *Transforming Growth Factor α* (TGF- α). Sejenis dengan EGF dan menyebabkan proliferasi fibroblas.

- e. *Transforming Growth Factor* (TGF- β); merupakan produk dari trombosit, sel T, endothelium dan makrofag, sebagai penghambat pertumbuhan yang memicu kemotaksis dan produksi serta degradasi kolagen.
- f. IL-1 dan TNF. Kemotaktik bagi fibroblas dan meningkatkan sintesis kolagen.
- g. *Epidermal Growth Factor* (EGF); meningkatkan proliferasi sel fibroblas yang nantinya akan mensintesis serat-serat kolagen.
- h. *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF); angiogenesis.
- i. *Nitrit Oksida* (NO) dan *Reactive Oxygen Spesies* (ROS); memfagositosis bakteri (Baratawidjaja K.G dan Rengganis I, 2009; Mitchell dan Cotran, 2010).

2. Proliferasi

Tahap kedua dari proses penyembuhan luka atau fase proliferasi ini terjadi mulai hari ke 3-14. Fase ini ditandai dengan jumlah sel radang seperti limfosit dan makrofag mulai menurun bahkan tidak dominan lagi serta terjadi pembentukan jaringan granulasi pada luka. Jaringan granulasi merupakan kombinasi dari elemen seluler dan sel inflamasi. Pada hari ketiga fibroblas muncul pertama kali dan mencapai puncaknya pada hari ketujuh. Pertumbuhan fibroblas dipacu oleh sitokin yang diproduksi oleh makrofag dan limfosit. Fibroblas merupakan elemen utama dalam proses perbaikan untuk pembentukan protein struktural yang berperan dalam pembentukan jaringan. Fibroblas mampu menghasilkan kolagen dalam jumlah yang besar. Kolagen dideteksi pertama kali pada hari ke 3 setelah terjadinya luka dan mengalami peningkatan hingga minggu ketiga. Kolagen terus menumpuk sampai 3 bulan. Proses proliferasi fibroblas dan aktivasi sintetik ini dikenal dengan fibroblasia (Sudrajat, 2006;

Mitchell dan Cotran, 2010). Pada permukaan luka terjadi pembentukan intergritas epitel. Epitel tepi luka terdiri atas sel basal yang terlepas dari dasarnya yang kemudian berpindah mengisi permukaan luka. Tempatnya kemudian diisi oleh sel baru yang terbentuk dari proses mitosis. Proses migrasi hanya terjadi ke arah yang lebih rendah atau datar. Proses fibroplastik baru berhenti setelah epitel saling menyentuh dan menutup seluruh permukaan luka (Mitchell dan Cotran, 2010).

3. Remodeling

Tahap ini adalah tahap terakhir dari penyembuhan luka, terjadi pada hari ke-14 sampai 2 tahun. Saat remodeling, terjadi pengembalian baik sel maupun jaringan yang hilang maupun rusak akibat adanya jejas lalu terjadi proses inflamasi. Saat remodeling kolagen yang lama digantikan dengan kolagen yang baru dengan tujuan menambah kemampuan luka dalam menerima gaya regangan. Namun kekuatan luka tidak pernah mencapai lebih dari 80%-85% dari jaringan yang tidak mengalami luka. Sel lain yang berperan dalam remodeling adalah sel epitel dan keratosit yang berguna membentuk epitel dan keratin yang baru sehingga sel maupun jaringan yang telah rusak bisa kembali normal seperti semula. Remodeling yang terjadi, lama waktu, dan meninggalkan bekas luka maupun tidak bergantung pada luas daerah yang terluka, besar kerusakan jaringan, dan faktor penyembuhan dari dalam tubuh setiap orang (Nugroho, 2005; Mitchell dan Cotran, 2010).

2.3 Macam-macam Sel Radang

Beberapa tipe sel yang mengambil bagian dalam proses radang yaitu: Sel polimorfonuklear/PMN yang dibagi berdasarkan pewarnaan histologik terdiri dari

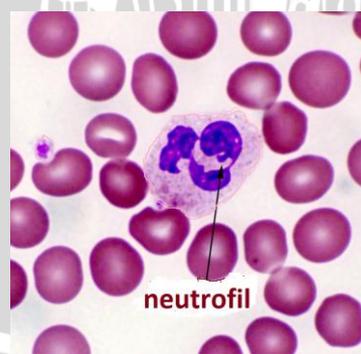
neutrofil, eosinofil, dan basofil; fagosit mononuclear yaitu limosit dan monosit jika masih di dalam pembuluh darah dan akan menjadi makrofag apabila berada jaringan; sel mast dan sel plasma (Avery dan Chiego, 2006; Mitchell dan Cotran, 2010).

2.3.1 Fagosit Polimorfonuklear

1. Neutrofil

Perbedaan dari ketiga sel polimorfonuklear leukosit terletak pada granula yang dijumpai dalam sitoplasmanya. Neutrofil merupakan sel muda, tidak memiliki segmen dan jumlahnya hanya sedikit, yaitu sekitar 3-6% dari seluruh leukosit dewasa. Ciri dari sel dewasa adalah terdapat inti pada segmennya dengan bentuk bervariasi seperti kacang atau tapal kuda. Inti dari segmen berjumlah 2-4 buah (Baratawidjaja K.G dan Rengganis I, 2009).

Granula dalam sitoplasmanya berukuran kecil, tampak sebagai bintik-bintik kecil berukuran 10-12 mikron. Dengan pewarnaan metilen biru-eosin tidak menghasilkan warna merah (eosinofilik) maupun biru (basofilik), oleh karenanya disebut neutrofil.



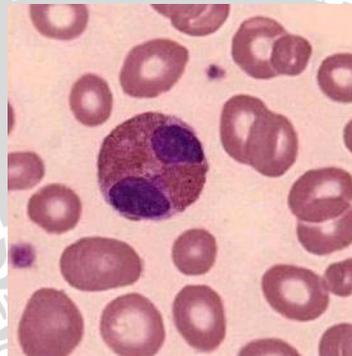
Gambar 2.5 Neutrofil (Baratawidjaja K.G dan Rengganis I, 2009)

Sel ini dibentuk oleh mielosit sumsum tulang dan fungsi utamanya adalah fagositosis. Kemampuan fagositosisnya berbeda-beda tergantung jenis

rangsangan atau bakteri yang ada (Sudiono, 2003; Baratawidjaja K.G dan Rengganis I, 2009; Mitchell dan Cotran, 2010).

2. Eusinofil

Sitoplasma dari sel ini mengandung granula yang kasar dan berwarna merah terang, oleh karena itu dinamakan eusinofil. Bentuk dan ukurannya mirip neutrofil, tetapi memiliki inti yang lebih sederhana, dan sering berlobus dua (Baratawidjaja K.G dan Rengganis I, 2009; Mitchell dan Cotran, 2010).

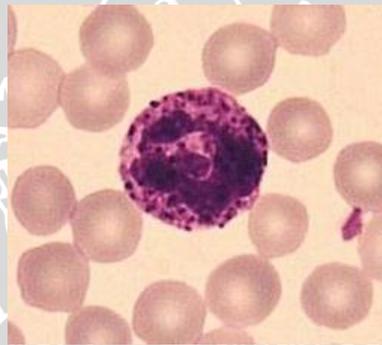


Gambar 2.6 Eusinofil (Baratawidjaja K.G dan Rengganis I, 2009)

Eusinofil terlihat dalam sirkulasi dalam beberapa jam saja, dengan meningkatkan konsentrasi histamin yang terlepas, sel ini cepat sekali bermigrasi ke jaringan. Eusinofil dibentuk dalam sumsum tulang dan dilepaskan dalam aliran darah jika diperlukan. Eosinofil yang terdapat dalam jaringan maupun di dalam pembuluh darah sering berhubungan dengan reaksi alergi. Jika sel ini pecah maka histamin akan dilepaskan sehingga menyebabkan meningkatnya permeabilitas kapiler sehingga banyak antibodi yang keluar, hal ini berguna untuk menetralkan antigen. Fungsi eosinofil masih belum jelas, namun kemampuan kemotaksisnya dan fagositosis sama seperti neutrofil (Leeson, 2000; Sudiono, 2003; Baratawidjaja K.G dan Rengganis I, 2009).

3. Basofil

Sel ini memiliki gambaran bergranula, kasar dan berwarna biru kehitaman setelah diberi pewarnaan, oleh karenanya dinamakan basofil. Jumlah basofil ditemukan dalam sirkulasi darah sangat sedikit yaitu $< 0,5\%$ dari seluruh leukosit. Basofil dapat berfungsi sebagai fagosit, tapi secara jelas basofil dapat mengeluarkan mediator inflamasi. Baik basofil maupun sel mast dapat melepaskan bahan-bahan biologik dan yang sudah aktif dapat juga melepaskan berbagai sitokin. Perbedaannya dengan sel mast adalah basofil ada di dalam darah (Baratawidjaja K.G dan Rengganis I, 2009).



Gambar 2.7 Basofil (Baratawidjaja K.G dan Rengganis I, 2009)

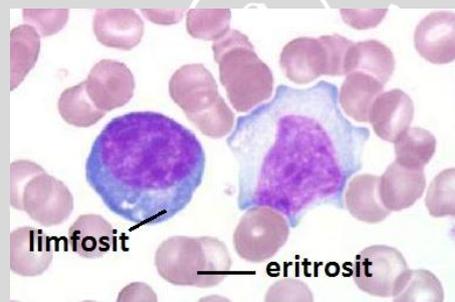
2.3.2 Fagosit Mononuklear

Terdapat 2 jenis golongan ini:

1. Limfosit

Sebanyak 20% dari leukosit dalam sirkulasi adalah limfosit pada tubuh orang dewasa. Limfosit terdiri dari sel T berperan dalam imunitas seluler dan sel B berperan dalam imunitas humoral, keduanya merupakan kunci pengontrol sistem imun. Sel T $CD4^+$ mengaktifkan makrofag untuk menghancurkan mikroba atau $CD8^+$ untuk membunuh mikroba intraseluler yang menginfeksi sel. Ada sekitar 10^{12} trilyun limfosit disirkulasi terus menerus dalam darah dan limfe. Limfosit berukuran 8-10 mikron, didominasi oleh nukleus berukuran besar dan

bulat yang mengandung kromatin padat, sedangkan memiliki sitoplasma sedikit, dan tidak bergranul. Dengan pulasan akan tampak berwarna ungu muda dan inti sel terlihat berbentuk bulat besar berwarna ungu gelap dikelilingi pinggiran sitoplasma. Karena memiliki gerakan yang lambat, sel ini baru dapat terlihat dalam jaringan pada radang kronis dan pada saat itu limfosit mengalami peningkatan jumlah. Memiliki umur 4-5 hari, jumlahnya juga meningkat pada penyakit tertentu yang berhubungan dengan reaksi radang, misalnya TB dan infeksi mononucleosis (Baratawidjaja K.G dan Rengganis I, 2009; Mitchell dan Cotran, 2010).



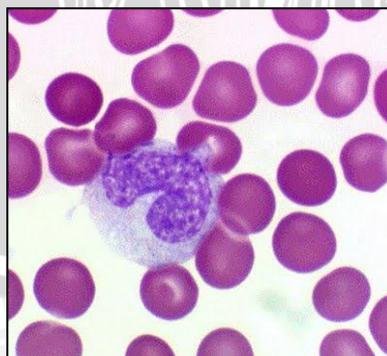
Gambar 2.8 Limfosit (Baratawidjaja K.G dan Rengganis I, 2009)

Limfosit dimobilisasi saat ada rangsang imun spesifik (infeksi) dan jika pada inflamasi yang diperantarai non-imun (infark atau trauma jaringan). Pada saat inflamasi kronik, limfosit dan makrofag memiliki hubungan timbal balik. Pada mulanya limfosit teraktivasi oleh interaksi dengan makrofag yang menyajikan fragmen antigen “terproses” pada permukaan selnya. Limfosit yang teraktivasi kemudian menghasilkan berbagai mediator, termasuk IFN- γ , yakni suatu sitokin perangsang utama untuk mengaktifkan monosit dan makrofag. Makrofag yang sudah teraktivasi selanjutnya dapat mengeluarkan IL-1 dan TNF (*Tumor Necrosing Factor*) yang selanjutnya mengaktivasi limfosit. Hasil akhirnya adalah fokus inflamasi sehingga sel T dan makrofag saling merangsang secara

persisten sampai antigen pemicu hilang (Baratawidjaja K.G dan Rengganis I, 2009; Mitchell dan Cotran, 2010).

2. Monosit

Monosit adalah sel darah putih berbentuk tidak teratur yang beredar dalam aliran darah. Monosit merupakan sel imun yang berasal dari sel induk yang pleuripoten dalam sumsum tulang yang berdiferensiasi menjadi sel pre-monosit lalu menjadi sel monosit dalam sirkulasi darah, setelah matang dan berperan dalam berbagai fungsi seperti memproduksi sitokin, ia akan mengerahkan respon pertahanannya terhadap infeksi. Mediator inflamasi seperti IL-1, IL-6, dan TNF- α dapat diproduksi oleh sel ini. Monosit bertahan dalam darah selama 10 jam-2 hari sampai pada akhirnya meninggalkan sirkulasi darah, lalu beremigrasi ke dalam jaringan untuk berdiferensiasi menjadi makrofag. Monosit memiliki inti berbentuk kacang di dalam sel, dengan pulasan darah kering (*dry blood smear*), nukleus tampak seperti biji kacang atau bentuk ginjal berwarna keunguan, disekitarnya ada granula kecil, sedang sitoplasmanya berwarna abu-abu. Besar monosit 17-20 mikron. Sekitar 3 – 8% dari sel-sel darah putih adalah monosit dalam sistem peredaran darah manusia.



Gambar 2.9 Monosit melalui Smear (Baratawidjaja K.G dan Rengganis I, 2009)

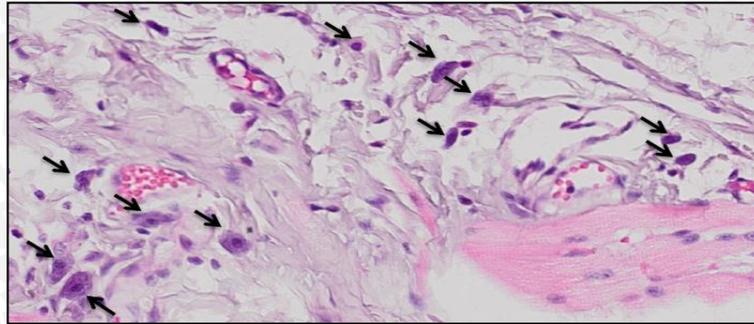
Tiga fungsi utama dari monosit yang fagositosis, penyaji antigen, dan produksi sitokin. Monosit dan makrofag merupakan daya pertahanan tubuh yang

muncul lebih lambat dari sel neutrofil. Sel-sel ini masih dapat aktif pada pH 6,8 dimana PMN sudah mati dalam pH tersebut karena keasamannya bertambah (Burkit, 2005; Sudiono, 2003; Baratawidjaja K.G dan Rengganis I, 2009).

3. Makrofag

Istilah sistem fagosit makrofag, sistem sel histiosit, sistem retikulo-histiosit dan sistem RES (*reticuloendothelial cell*//RES) merupakan istilah lama yang digunakan untuk semua jenis sel fagosit yang dapat hidup lama di dalam jaringan namun sekarang sistem itu disebut sistem fagosit makrofag. Makrofag dapat mengenali lalu membunuh partikel asing seperti mikroorganisme patogen dengan kemampuan fagositosisnya. Selain itu makrofag dengan cepat memproduksi radikal bebas yang mengandung oksigen di fagosom yang membantu menurunkan patogen. Ketika infeksi atau luka terjadi dalam jaringan atau organ, monosit akan menekan aliran darah melalui sel-sel epitel dan masuk ke tempat luka. Makrofag normalnya di dalam tubuh tersebar di jaringan dan memiliki banyak nama sesuai lokasinya berada, misal makrofag yang ada di hati disebut *Kupfer*, pada jaringan ikat disebut histiosit, atau pada tulang disebut osteoklas. Dalam organ seperti hati dan paru-paru, makrofag merupakan penyaring dari sel maupun jaringan yang telah nekrosis dan bertidak sebagai alarm bagi sel imun bahwa sedang ada bahaya (Mitchell dan Cotran, 2010).

Dengan mikroskop cahaya dan pewarnaan H & E standar, sel ini tampak berukuran 10-20 μm , berbentuk oval, dan umumnya memiliki inti bulat atau berbentuk ginjal yang berwarna keunguan. Inti sel lebih kecil dan lebih heterokrimatik dari inti fibroblas dan hanya memiliki beberapa granul (Baratawidjaja K.G dan Rengganis I, 2009; Mitchell dan Cotran, 2010).

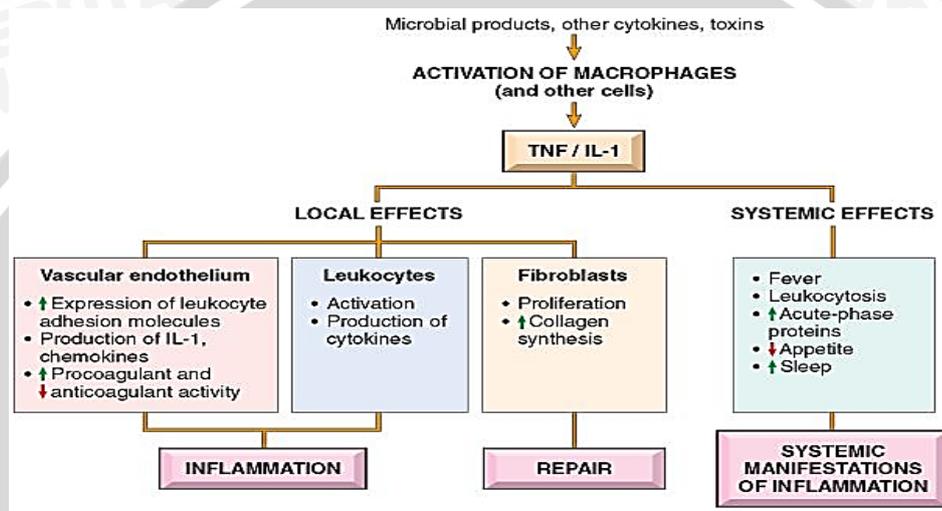


Gambar 2.10 Pengamatan makrofag menggunakan software OLYVIA perbesaran 20x dengan pewarnaan HE (Sugiharto, DS, 2014)

Monosit hanya memiliki waktu paruh 1 hari dan ketika ada jejas, ia langsung bereaksi dengan mendatangi tempat jejas sekitar 24-48 jam pertama. Setelah mencapai jaringan ekstrasvaskuler, monosit berubah bentuk menjadi lebih besar atau teraktivasi oleh sinyal dari limfosit T, utamanya IFN- γ , berbagai mediator inflamasi akut, dan protein matriks ekstraseluler (misal: fibronektin), monosit yang berukuran besar dan telah teraktivasi tersebut dinamakan makrofag. Karena sesungguhnya makrofag diaktivasi oleh imun seluler maka kemampuannya dapat memfagosit 100 bakteri dan dapat memakan bakteri yang berukuran besar, hal ini tidak bisa dilakukan oleh monosit. Selain diaktivasi oleh sel T CD4⁺, makrofag dapat pula diaktivasi oleh produk bakteri, kompleks imun, toksin, cedera fisik, dan sitokin lain (Abbas A.K., Lichtman A.H, 2004; Baratawidjaja K.G dan Rengganis I, 2009; Mitchell dan Cotran, 2010).

Berdasarkan fungsinya, makrofag terbagi menjadi 2 yakni makrofag professional atau makrofag yang telah aktif dan makrofag yang berjaga-jaga di dalam jaringan. Ciri utama telah aktifnya makrofag adalah mampu meningkatkan enzim lisosom, secara metabolis lebih aktif, dan tentunya memiliki kemampuan yang lebih besar untuk memakan organisme berbahaya akibat keluarnya peningkatan NO dan ROS. Setelah teraktivasi, makrofag mensekresi berbagai produk sampai akhirnya bisa ke tahap selanjutnya, yakni remodeling. Produk

tersebut antara lain: asam protease atau protease netral, komponen komplemen dan faktor koagulasi, spesies oksigen reaktif dan NO, eikosanoid, dan sitokin. Yang perlu diperhatikan adalah ketika produk ini dikeluarkan namun tidak diawasi secara tepat, maka proses penyembuhan luka akan berakhir dengan meninggalkan bekas luka (Mitchell dan Cotran, 2010).



Gambar 2.11 Prinsip dari respon lokal dan sistemik dari TNF dan IL-1, teraktivasinya makrofag (Mitchell dan Cotran, 2010)

Ulkus traumatik mukosa mulut pada inflamasi akut prosesnya ialah tempat jejas akan dibersihkan lalu diperbaiki dengan kemunculan pertama sekitar 48 jam pertama pasca terjadinya luka. Makrofag akan mengalami peningkatan jumlah pada hari ketiga dan kelima dan aktivitasnya juga akan meningkat apabila cedera yang ditimbulkan masih parah atau mikroorganisme serta berbagai penyebab awal luka belum selesai dibersihkan, sebaliknya makrofag berjumlah sedikit apabila ada yang menekan atau mempersingkat proses inflamasi melalui berbagai jalur misalnya dengan menghambat pelepasan asam arakhidonat. Jumlah makrofag akan menurun kemudian akan mati atau masuk ke pembuluh limfe apabila tugasnya telah selesai dan fase penyembuhan luka telah masuk ke tahap proliferasi dan remodeling. Pada inflamasi kronik, terjadi akumulasi dari

makrofag kemudian berproliferasi, sedangkan sel-sel inflamatori dari limfosit terus berproduksi sehingga menyebabkan makrofag berubah menjadi lebih besar dan berinti banyak atau yang biasa disebut dengan *giant cell* atau sel raksasa (Michell dan Cotran, 2010).

Cytokine	Principal Sources	Principal Actions in Inflammation
IN ACUTE INFLAMMATION		
TNF	Macrophages, mast cells, T lymphocytes	Stimulates expression of endothelial adhesion molecules and secretion of other cytokines; systemic effects
IL-1	Macrophages, endothelial cells, some epithelial cells	Similar to TNF; greater role in fever
IL-6	Macrophages, other cells	Systemic effects (acute-phase response)
Chemokines	Macrophages, endothelial cells, T lymphocytes, mast cells, other cell types	Recruitment of leukocytes to sites of inflammation; migration of cells to normal tissues
IN CHRONIC INFLAMMATION		
IL-12	Dendritic cells, macrophages	Increased production of IFN- γ
IFN- γ	T lymphocytes, NK cells	Activation of macrophages (increased ability to kill microbes and tumor cells)
IL-17	T lymphocytes	Recruitment of neutrophils and monocytes

Tabel 2.2 Peran sitokin dalam inflamasi dan keberadaan makrofag dalam proses inflamasi (Mitchell dan Cotran, 2010)

2.3.3 Sel Mast

Sel mast merupakan mediator inflamasi, dalam struktur, fungsi, dan proliferasinya mirip dengan basofil, namun sel mast hanya dapat ditemukan dalam jaringan yang berhubungan dengan pembuluh darah. Sel mast dapat melepaskan bahan yang bersifat biologik seperti meningkatkan permeabilitas vaskuler, respon inflamasi, dan mengerutkan otot polos bronkus. Pada granulnya mengandung histamine, heparin, dan leukotrien. Sel ini memiliki reseptor IgE dan karenanya dapat diaktifkan oleh alergen spesifik. Selain berperan dalam reaksi alergi, sel mast juga berperan dalam pertahanan *host*, imunitas parasit dalam usus, dan invasi bakteri (Baratawidjaja K.G dan Rengganis I, 2009).

2.3.4 Sel Plasma

Asal sel plasma berhubungan erat dengan sel limfosit. Sel dari jaringan limfoid dapat berdiferensiasi membentuk plasmablast yang dapat membentuk sel plasma. Besar sel ini lebih besar sedikit dari sel limfosit (10-12 mikron). Gambaran sel sangat karakteristik, di dalam jaringan nampak intinya eksentrik dengan struktur seperti roda dan sitoplasma yang basofilik. Fungsi sel belum jelas, tetapi ada pendapat yang mengatakan bahwa sel ini merupakan sumber yang penting dari gamma globulin yang sangat penting untuk membentuk antibodi. Sel dalam jumlah banyak dapat dijumpai pada radang kronis (Leeson, 2000; Burkit, 2005; Sudiono, 2003).

2.4 Cacing tanah (*Pheretima aspergillum*)

Cacing tanah (*earthworm*) merupakan hewan yang berhabitat di tanah dan bisa juga dijumpai di tumpukan sampah, hewan ini banyak menghabiskan waktu di dalam tanah. Cacing tanah merupakan hewan tingkat rendah karena tidak bertulang belakang (*avertebrata*) dan bertubuh lunak. Hewan ini tergolong *Annelida* karena memiliki ruas berbentuk cincin di seluruh tubuhnya. Di setiap segmen tubuhnya terdapat rambut yang keras, berukuran pendek yang disebut *chaeta* (seta). Annelida dikelompokkan menjadi kelas *Polychaeta*, *Hirudinea*, dan *Oligochaeta*, pembeda dari 3 kelas tersebut adalah jumlah segmen dan setanya (Khairuman dan Amri K, 2010).

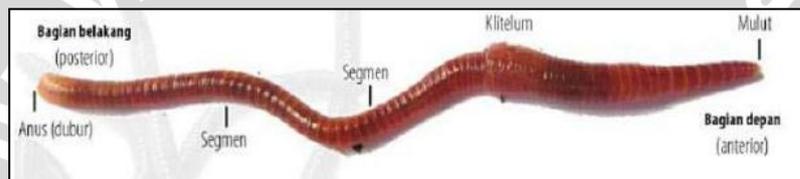
2.4.1 Taksonomi Cacing Tanah *Pheretima sp* (Khoeruddin, 1999)

Kingdom : *Animalia*
Phylum : *Annelida*
Class : *Oligochaeta*

- Ordo : *Ophistopora*
Family : *Megascolecidae*
Genus : *Pheretima*
Spesies : *Pheretima aspergillum*

2.4.2 Morfologi dan Anatomi Cacing Tanah

Tubuh cacing tanah terbagi menjadi lima bagian yaitu bagian depan (anterior), bagian tengah, bagian belakang (posterior), bagian punggung (dorsal), dan bagian bawah atau perut (ventral) (Khairuman dan Amri K, 2010).



Gambar 2.12 Morfologi cacing tanah (Edwards dan Lofty, 2000)

Mulut terletak di depan pada segmen pertama sedangkan anus di belakang pada segmen terakhir. Mulut dan anus tidak termasuk segmen namun bagian tubuh tersendiri. Di bagian mulutnya terdapat bibir (*prostomium*), berupa tonjolan daging yang dapat menutup lubang mulutnya. Pada *prostomium* terdapat sel-sel sensor yang berfungsi seperti lensa yang berfungsi sebagai pengganti mata, *prostomium* berguna juga untuk membantu membedakan bahaya pada waktu makan. Di bagian bawah setiap segmen, selain memiliki seta, juga memiliki pori-pori yang berhubungan dengan alat ekskresi (*nephredia*). Seta bergerak dengan fungsi sebagai pencengkeram atau pelekak yang kuat, gerakannya diatur oleh otot memanjang dan melingkar, sedangkan pori-pori berfungsi menjaga kelembapan kulit cacing tanah. Lendir yang dihasilkan oleh kelenjar lendir (*mukus*) berfungsi memudahkan cacing untuk bergerak dan pelicin tubuh. Pada cacing tanah dewasa terdapat alat reproduksi yang disebut *kliteum*.

Kliteum memiliki ciri tebal, terletak di anterior dan posterior, berwarna lebih terang daripada bagian tubuhnya yang lain (Edwards & Lofty 2000; James 2000; Khairuman dan Amri K, 2010).

Cacing tanah tergolong hewan tingkat rendah (*avertebrata*) namun memiliki berbagai sistem organ dalam tubuhnya, antara lain sistem pencernaan, pernafasan, reproduksi, ekskresi, peredaran darah, dan syaraf. Untuk bergerak cacing tanah tidak memiliki alat gerak sehingga mengandalkan otot longitudinal dan sirkular. Meski begitu cacing tanah memiliki kemampuan gerak yang luar biasa, kekuatannya mencapai 40-50 kali dari beban tubuhnya, berdasarkan perkiraan, cacing tanah memiliki kekuatan karena memiliki hormon tertentu (Winarsih S, 2007).

2.4.3 Klasifikasi Cacing Tanah

Cacing tanah yang termasuk jenis *Pheretima* antara lain cacing merah, cacing koot dan cacing kalung:

1. Cacing Kalung

Penamaan cacing kalung karena memiliki tubuh relatif keras, seperti kalung perhiasan wanita. Sering digunakan untuk penurun panas dan sakit tifus. Ciri-ciri cacing ini antara lain berukuran lebih besar daripada jenis cacing tanah (*Lumbricus rubellus*), namun lebih kecil daripada cacing sondari (*Metaphire longa*). Cacing dewasa memiliki panjang tubuh antara 14 cm – 20 cm, diameter di bagian belakang *klitelum* hingga 2,7 cm, jumlah segmen 75-165, *kliteum* terletak pada segmen ke-13 dan 17. Bentuk tubuh bulat, apabila disentuh akan segera menggeliatkan tubuhnya untuk melarikan diri. Banyak ditemukan pada kotoran ternak atau di bawah batang pisang yang telah roboh (Khoeruddin, 1999; Khairuman dan Amri K, 2010).



Gambar 2.13 Morfologi Cacing kalung *Pheretima aspergillum* (Winarsih S., 2007)

2. Cacing Merah

Ciri khas dari cacing jenis ini adalah warna tubuhnya yang relatif lebih merah sehingga disebut cacing merah. Ciri lain dari cacing merah adalah berukuran agak kecil, panjang 7-8 cm, tubuhnya berbentuk gilik panjang dan silindris, jumlah segmen 95-150, *kliteum* terletak pada segmen 14-16. Dibanding cacing koot, gerakan cacing merah lebih lambat (Khairuman dan Amri K, 2010).



Gambar 2.14 Morfologi Cacing Merah (Winarsih S., 2007)

3. Cacing Koot

Cacing koot merupakan cacing lokal dari jenis *Pheretima* yang mudah dijumpai di Indonesia. Ciri-ciri cacing koot memiliki tubuh yang lebih panjang dari cacing merah, tetapi lebih pendek dari cacing kalung, warna tubuh coklat kekuningan, gerakannya lambat, jika disentuh tubuhnya akan melingkar (Khairuman dan Amri K, 2010).



Gambar 2.15 Morfologi Cacing Koot (Winarsih S., 2007)

2.4.4 Kandungan Senyawa Aktif pada Cacing Kalung (*Pheretima aspergillum*)

Pemanfaatan cacing tanah sebagai bahan obat telah dilaporkan lebih alami, sehingga aman untuk dikonsumsi. Cacing tanah telah secara luas digunakan dalam pengobatan tradisional Cina. Berdasarkan efek farmakologinya, cacing tanah diketahui memiliki aktivitas yang bervariasi, seperti antikoagulan, antikanker, antimikroba, dan jika dikembangkan lebih lanjut, ada kemungkinan untuk digunakan sebagai agen terapi berbagai macam penyakit (Cooper *et al.*, 2012).

Secara empirik, cacing tanah dilansir berkhasiat dalam menyembuhkan berbagai macam penyakit. Dalam pengobatan Cina, cacing tanah juga dikenal memiliki aktivitas antiinflamasi, analgesik dan antipiretik (Winarsih, 2010). Polifenol yang terkandung pada cacing kalung (*Pheretima aspergillum*) mengandung unsur flavonoid, bisa efektif digunakan sebagai antioksidan dan selain itu juga mengandung antibiotik, antikarsinogenik, antiviral, antialergi, dan antiinflamasi. Selain itu flavonoid bekerja dengan cara membentuk *cross linking* dengan kolagen. Proses ini dibutuhkan untuk memperkuat integritas struktur kolagen yang sangat berpengaruh dalam mempercepat proses penyembuhan luka (*wound healing*) sehingga dapat menyebabkan jumlah sel radang termasuk makrofag dapat menurun lebih cepat karena adanya proses perbaikan jaringan

yang rusak. *G-90 glycolipoprotein* berpengaruh pada peningkatan faktor pertumbuhan yakni EGF dan FGF yang dapat mempercepat proses penyembuhan luka. Hal ini berkaitan dengan sistem imun seluler, yakni setelah terdapat jejas, tubuh merespon dengan inflamasi salah satunya dengan mengeluarkan sel radang sekaligus respon imun seluler yaitu makrofag yang mampu memproduksi *growth factor* dan sebagai fagositosis (Kandaswami, 2002; Groof J.L, 2001; Balamurugan M, 2007; Chang et al, 2011b).

Dalam penelitian terbaru telah dilakukan studi *in vitro* dan *in vivo* mengenai ekstrak cacing tanah khususnya *Pheretima aspergillum* karena diketahui memiliki *enzim fibrinolitik* (sebagai antitrombus dan antikoagulan), *polifenol* (sebagai antiinflamasi dan antioksidan) dan merupakan senyawa metabolit sekunder yang paling banyak digunakan untuk mengatasi inflamasi, *G-90 glycolipoprotein* (sebagai stimulan proliferasi dan antimikroba) yang di dalamnya terkandung *immunoglobulin like growth factor (IgGF-I)*, *epidermal growth factor*, dan *serine protease* (sebagai fibrinolisis) (Chang et al, 2011b).

Penelitian yang pernah dilakukan Mardiaty dkk (2013) tentang ekstrak cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) sebagai alternatif pengobatan untuk penyembuhan ulkus diabetik berbasis induksi densitas akson diperoleh bahwa kandungan dalam ekstrak cacing tanah dapat mempercepat proses penyembuhan luka. Dalam penelitian tersebut hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif, kontrol positif, kelompok perlakuan secara topikal, oral, dan topikal beserta oral didapatkan kesimpulan bahwa pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) berupa pasta topikal dengan konsentrasi 100 mg/ml dapat meningkatkan kontraksi luka dan densitas akson perifer pada ulkus diabetik (Mardiaty NPJ dkk, 2012).

Ekstrak cacing tanah juga telah diketahui memiliki efek antibakteri karena mengandung protein yang sangat tinggi dan mikroba simbiotik *Streptomomyces* sp. yang menghasilkan antibiotik streptomisin. Enzim lisosom dalam cacing tanah ampuh merusak dinding sel bakteri dan ia juga mampu memperbaiki proses fisiologis tubuh, dalam hal ini berkaitan dengan peran enzim peroksidase, katalase, dan selulase yang sudah diteliti di Laboratorium Farmasi UNPAD. Manfaat lain yang sudah terbukti adalah sebagai obat penurun panas atau antipiretik karena senyawa golongan alkaloid yang terkandung dalam cacing tanah jenis *P. aspergillum* dan *L. rubellus* (Santoso, 2002; Arifiyanti, 2009; Palungkun, 2010).

2.5 Ekstrak Cacing Tanah

Pada penelitian ini ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi. Metode ini merupakan yang paling sederhana dan banyak digunakan (Voight, 2000). Prinsip dari metode maserasi adalah merendam simplisia dengan cairan pelarut tertentu. Karena terdapat perbedaan konsentrasi di luar dan di dalam sel, cairan pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, kemudian zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam dan di luar sel, larutan yang pekat akan didesak keluar (Gennaro, 2006).

Proses maserasi selesai ketika keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan yang masuk ke dalam cairan tercapai sehingga proses difusi segera berakhir. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengestrasi akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Voight, 2000). Cairan pelarut yang biasa digunakan untuk maserasi dapat berupa air,

etanol, etanol-air atau eter. Pemilihan cairan pelarut harus mempertimbangkan bentuk dan faktor cairan yang baik (Voight, 2000). Pada proses ekstraksi cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) ini, pelarut yang digunakan adalah etanol karena cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) bersifat non polar sehingga dapat larut dalam etanol (Chang *et al.*, 2011b). Pelarut etanol cenderung memiliki sifat non polar jika dibandingkan dengan air (H₂O). Etanol (C₂H₅OH) memiliki dua gugus berbeda, yaitu gugus hidroksi (OH) bersifat polar dan gugus alkana (C₂H₅) cenderung bersifat non polar yang dapat melarutkan cacing tanah (*Pheretima aspergillum*) (Voight, 2000).

Tahapan mengekstrak cacing tanah dengan maserasi, dilakukan dengan cara memasukkan simplisia (bahan padat) ke dalam *stoppered container* yang berisi 750 ml pelarut. Kemudian ditutup dan dibiarkan selama 3-5 hari, pastikan bahwa bejana tersebut tertutup rapat dan dihindarkan dari kontak cahaya, sesekali dalam sehari dapat diaduk lalu bahan tersebut diperas, ampas yang diperoleh dimasukkan lagi ke dalam bejana dengan cairan pelarut dan proses akan berakhir apabila cairan pelarut sudah tidak berwarna lagi. Kemudian bahan yang sudah diperoleh tersebut dipindah ke dalam bejana yang terhindar dari cahaya, ditutup rapat, setelah 2-3 hari endapan dapat dipisahkan lalu dicuci dari sisa-sisa bahan pelarut yang bisa dilakukan dengan teknik evaporasi. Filtrat bisa disesuaikan atau dikombinasikan sampai dengan 1000 ml atau memiliki konsentrasi 100% (Gennaro, 2006; Depkes, 2009).

2.6 Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses penyaringan zat-zat aktif atau bermanfaat dari makhluk hidup yang berasal dari biota laut atau hewan jenis

ikan, dan tanaman. Zat-zat aktif terdapat dalam sebuah sel yang terkandung dalam tanaman ataupun hewan. Tujuan dari proses ini adalah mendapatkan komponen senyawa kimia yang terdapat dalam suatu bahan yang diinginkan dengan prinsip memindahkan suatu komponen zat dalam suatu pelarut sehingga diharap lapisan atau komponen yang terdapat dalam bahan bisa berdifusi ke dalam pelarut (Gennaro, 2006; Depkes, 2009).

Jenis ekstraksi dari bahan alam ada dua yakni secara panas seperti *refluks* dan penyulingan sedangkan dingin menggunakan cara *maserasi*, *perkolasi*, dan *alat soxhlet*

a. Ekstraksi cara soxhletasi

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya dilakukan secara berkesinambungan. Cairan penyari dipanaskan sampai mendidih, lalu uap pelarut akan naik melalui pipa samping, kemudian diembunkan lagi oleh pendingin tegak. Cairan pelarut turun untuk menyari zat aktif dalam simplisia. Selanjutnya bila cairan pelarut mencapai sifon, maka seluruh cairan akan turun ke labu alas bulat dan terjadi proses sirkulasi. Proses tersebut berulang sampai zat aktif yang terdapat dalam simplisia tersari seluruhnya yang ditandai dengan jernihnya cairan yang lewat pada tabung sifon (Harborne, 2000; Gennaro, 2006; Depkes, 2009).

b. Ekstraksi cara perkolasi

Perkolasi dilakukan dengan cara membasahi 10 bagian simplisia sampai halus, kemudian 2,5 bagian sampai 5 bagian cairan pelarut dimasukkan ke dalam bejana tertutup minimal 3 jam. Massa dipindahkan sedikit demi sedikit ke dalam perkolator, ditambahkan cairan pelarut, kemudian perkolator ditutup dan dibiarkan selama 24 jam, kemudian kran dibuka dengan kecepatan 1 ml

permenit, sehingga simplisia tetap terendam. Filtrat dipindahkan ke dalam bejana, ditutup dan dibiarkan selama 2 hari pada tempat terlindung dari cahaya (Harborne, 2000; Gennaro, 2006; Depkes, 2009).

c. Ekstraksi cara maserasi

Maserasi dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia dengan derajat yang cocok ke dalam bejana, kemudian sebanyak 75 bagian pelarut dituangkan, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari, dipastikan terlindung dari cahaya sambil diaduk sekali-kali setiap hari lalu diperas dan ampasnya dimaserasi kembali dengan cairan penyari. Penyarian berakhir setelah pelarut tidak berwarna lagi, lalu dipindahkan ke dalam bejana tertutup, dibiarkan pada tempat yang tidak bercahaya, setelah dua hari endapan dapat dipisahkan (Harborne, 2000; Gennaro, 2006; Depkes, 2009).

d. Ekstraksi cara refluks

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih. Cairan pelarut akan menguap, uap tersebut akan diembunkan dengan pendingin tegak dan akan kembali menyari zat aktif dalam simplisia tersebut, demikian seterusnya. Ekstraksi ini biasanya dilakukan 3 kali dan setiap kali diekstraksi selama 4 jam (Harborne, 2000; Gennaro, 2006; Depkes, 2009).

e. Ekstraksi cara penyulingan

Penyulingan dapat dipertimbangkan untuk menyari serbuk simplisia yang mengandung komponen kimia yang mempunyai titik didih yang tinggi pada tekanan udara normal, yang pada pemanasan biasanya terjadi kerusakan zat

aktifnya. Untuk mencegah hal tersebut, maka ekstraksi dilakukan dengan penyulingan (Harborne, 2000; Gennaro, 2006; Depkes, 2009).

2.7 Gel

Gel merupakan sediaan semi padat yang jernih, tembus cahaya dan mengandung zat aktif, merupakan disperse koloid yang mempunyai kekuatan disebabkan oleh jaringan yang saling berkaitan pada fase terdispersi. Zat-zat pembentuk gel digunakan sebagai pengikat dalam granulasi, koloid pelindung dalam suspensi, pengental untuk sediaan oral dan sebagai basis supositoria. Secara luas sediaan gel banyak digunakan pada produk obat-obatan, kosmetik dan makanan pada beberapa proses industri (Ansel, 2008).

Sediaan gel memiliki beberapa keuntungan, antara lain memiliki kemampuan penyebaran yang baik, memberi efek dingin, mudah untuk dicuci dengan air dan pelepasan obatnya baik. Tingginya kandungan air dalam sediaan gel dapat menyebabkan terjadinya kontaminasi mikrobial, yang secara efektif dapat dihindari dengan penambahan bahan pengawet. Untuk upaya stabilisasi dari segi mikrobial selain penggunaan bahan-bahan pengawet seperti dalam balsam, khususnya untuk basis ini sangat cocok pemakaian metil dan propil paraben yang umumnya disatukan dalam bentuk larutan pengawet. Upaya lain yang diperlakukan adalah perlindungan terhadap penguapan, yaitu untuk menghindari masalah pengeringan. Oleh karena itu disarankan untuk menyimpan gel yang lebih baik menggunakan tube (Voigt, 1994).

2.8 Hewan Percobaan

Percobaan ini menggunakan tikus putih jantan sebagai binatang percobaan karena 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 (Sugiyanto, 2005).

Tikus putih jenis *Rattus norvegicus* merupakan tikus laboratorium yang telah digunakan sebagai model hewan yang penting untuk penelitian di bidang psikologi, kedokteran dan bidang lainnya. Selama bertahun-tahun, tikus telah digunakan dalam banyak penelitian eksperimen yang telah menambah pemahaman kita tentang genetika, penyakit, pengaruh obat-obatan, dan topik lain dalam ilmu kesehatan dan kedokteran. Para ilmuwan telah memunculkan banyak strain atau galur tikus khusus untuk eksperimen. Sebagian besar berasal dari tikus *Wistar albino*, yang masih digunakan secara luas (Smith, JB dan Mangkoewidjojo, 2000).

2.8.1 Taksonomi hewan percobaan (Sugiyanto, 2005):

Filum	: <i>Chordata</i>
Subfilum	: <i>Vertebrata</i>
Classis	: <i>Mammalia</i>
Subclassis	: <i>Placentalia</i>
Ordo	: <i>Rodentia</i>
Familia	: <i>Muridae</i>
Genus	: <i>Rattus</i>
Species	: <i>Rattus norvegicus</i>

2.8.2 Karakteristik utama hewan percobaan

Tikus putih sebagai hewan percobaan relatif resisten terhadap infeksi dan sangat cerdas. Tikus putih tidak begitu bersifat fotofobik seperti halnya mencit dan kecenderungan untuk berkumpul dengan sesamanya tidak begitu besar. Aktifitasnya tidak terganggu oleh adanya manusia di sekitarnya. Ada dua sifat yang membedakan tikus putih dari hewan percobaan yang lain, yaitu bahwa tikus putih tidak dapat muntah karena struktur anatomi yang tidak lazim di tempat esofagus bermuara ke dalam lubang dan tikus putih tidak mempunyai kandung empedu (Smith, JB dan Mangkoewidjojo, 1988).

Menurut Sihombing (2010) tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar dipilih sebagai sampel karena hewan coba ini mudah diperoleh dalam jumlah banyak, memiliki respon yang cepat, memiliki gambaran yang secara alami mirip dengan manusia, dan relatif murah dibandingkan marmut (*Cavia cobaya*), serta memiliki mukosa mulut yang lebih luas dibandingkan mencit (*Mus musculus albinus*).

2.8.3 Galur (*strain*) pada Tikus

Sebuah galur atau *strain* pada tikus merupakan suatu kelompok pada semua anggota yang identik secara genetik, hal ini dapat dilakukan melalui perkawinan sedarah. Dengan memilih populasi jenis ini, terdapat kemungkinan untuk melakukan percobaan pada peran gen atau melakukan percobaan yang membuat pengecualian variasi dalam genetika sebagai faktor. Berikut macam-macam galur pada tikus (Estina, 2010):

1) Galur Wistar

Rattus norvegicus memiliki galur Wistar. Galur jenis ini dikembangkan pertama kali sebagai model organisme pada laboratorium di Institut Wistar pada

tahun 1906 dalam biologi dan penelitian medis. Lebih dari sepuluh dari semua strain tikus laboratorium adalah keturunan dari koloni asli yang dikembangkan oleh Henry, fisiologi Donaldson J. Milton, administrator ilmiah Greenman, dan peneliti genetik/embriologi Helen Dean King. Tikus Wistar saat ini menjadi salah satu strain tikus paling populer yang digunakan untuk penelitian laboratorium.

2) Galur *Sprague Dawley*

Tikus jenis ini pertama kali diproduksi oleh peternakan Sprague Dawley (kemudian menjadi Perusahaan Animal Sprague Dawley) di Medison, Wisconsin. Fasilitas penangkaran dibeli pertama kali oleh Gibco dan kemudian oleh Harlan (sekarang Harlan Sprague Dawley) pada bulan Januari 1980. Rata-rata berat tubuh tikus Sprague Dawley adalah 10,5 dan untuk tikus dewasa sekitar 250-300 gram untuk betina, dan 450-520 gram untuk jantan. Tikus ini biasanya memiliki ekor yang lebih panjang dari tikus Wistar.

3) Galur Jenis *Long Evans*

Galur ini dikembangkan oleh Drs. Long dan Evans pada tahun 1915. Tikus ini didapat dari perkawinan silang beberapa Wistar betina dengan abu-abu liar laki-laki, sehingga dapat dijumpai Long Evans tikus putih dengan tudung hitam atau terkadang putih dengan kerudung cokelat. Tikus ini dimanfaatkan sebagai model serbaguna organisme, biasanya untuk meneliti perilaku dan penelitian obesitas.

4) Galur *Biobreeding Deabetes Prone* (atau Tikus BBDP)

Tikus BBDP adalah tikus yang berkembang secara spontan autoimun Type 1 Diabetes. Tikus BBDP digunakan sebagai hewan model untuk tipe 1 diabetes. Galur ini telah banyak merekapitulasi ulang beberapa gambaran

diabetes tipe 1, dan telah memberikan kontribusi yang besar kepada penelitian patogenesis T1D.

5) Galur *Zucker*

Tikus Zucker dibiakkan menjadi model untuk penelitian genetik pada obesitas dan hipertensi. Mereka dinamai setelah Lois M. Zucker dan Theodore F. Zucker, peneliti pelopor dalam studi genetika obesitas. Tikus Zucker ada 2 jenis yakni tikus Zucker ramping, dilambangkan sebagai sifat dan obesitas khas yang memiliki sifat resesif (fa / fa) dari reseptor leptin, yang mampu menimbang sampai dua kali lipat berat badan rata-rata. Tikus Zucker obese memiliki level lemak dan kolesterol tingkat tinggi dalam darah mereka, yang tahan terhadap insulin tanpa *hyperglycemic*.

