

## **BAB II**

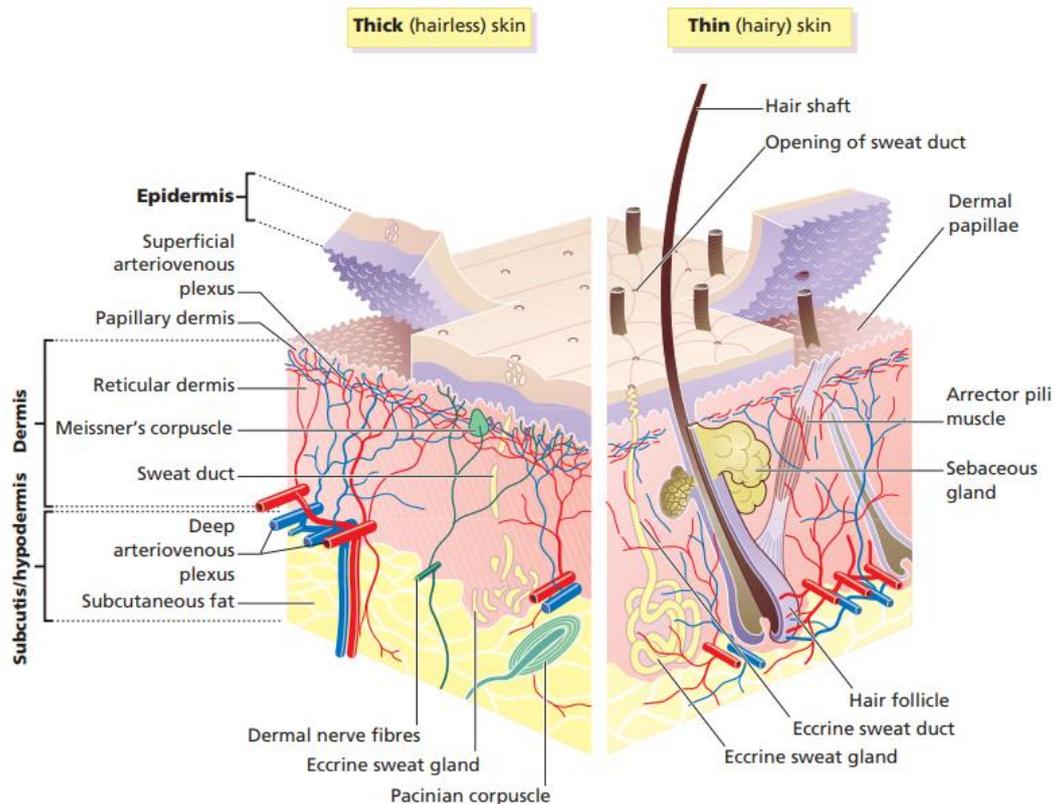
### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Anatomi Kulit**

Kulit merupakan organ terbesar dari tubuh manusia, diperkirakan sekitar 15% dari total berat badan orang-orang dewasa<sup>15</sup> yang berfungsi sebagai pelindung seluruh bagian eksternal dari permukaan tubuh manusia.<sup>16</sup> Kulit menyediakan perlindungan terhadap jaringan internal dari paparan terhadap trauma, radiasi sinar ultraviolet, temperatur yang ekstrem, racun dan bakteri. Fungsi lainnya meliputi persepsi sensorik, respon kekebalan, regulasi suhu, dan mengontrol kehilangan cairan.<sup>16</sup>

Kulit terdiri dari 3 lapisan, yaitu epidermis, dermis, dan lapisan subkutan.<sup>15</sup> Epidermis yang merupakan lapisan terluar dari kulit terdiri dari susunan sel spesifik yang dikenal sebagai keratinosit yang berfungsi untuk mensintesis keratin dan berperan dalam hal perlindungan. Dermis merupakan lapisan tengah yang pada dasarnya terdiri dari protein struktural fibrillar yang dikenal sebagai kolagen. Lapisan paling dalam adalah lapisan subkutan yang mengandung sel lemak yang dikenal sebagai liposit.<sup>15</sup>

Ketebalan dari ketiga lapisan ini bervariasi, bergantung pada lokasi dari anatomi dari tubuh. Kelopak mata misalnya, mempunyai lapisan epidermis tertipis (kurang dari 0,1 mm), dan telapak tangan dan kaki mempunyai lapisan epidermis tertebal (sekitar 1,5 mm).<sup>15</sup>



Source : *Clinical Dermatology, Fifth Edition. 2015 John Wiley & Sons, Ltd*

Gambar 1. Struktur Kulit<sup>17</sup>

### 2.1.1 Epidermis

Epidermis sebagian besar terdiri dari keratinosit, dan juga tempat dari melanosit serta sel dendritik seperti sel Langerhans. Serabut saraf telah ditunjukkan untuk menginervasi semua lapisan epidermis berinti. Sel-sel berinti epidermis memiliki tiga lapisan, stratum basalis, stratum spinosum, dan stratum granulosum. Epidermis terdiri dari banyak lapisan sel yang rapat dan yang paling superfisialnya memadat dan dipenuhi oleh keratin. Epidermis tidak mengandung pembuluh darah dan bervariasi dalam ketebalan dari kurang dari 0,1 mm pada kelopak mata sampai hampir 1 mm pada telapak tangan dan telapak kaki. Suatu sel yang dihasilkan akan bergerak, atau didorong oleh aktivitas mitosis menuju ke permukaan, melewati lapisan-lapisan sel granular

sebelum mati di lapisan tanduk. Perjalanan dari lapisan basal ke permukaan (pergantian epidermis atau waktu transit) membutuhkan waktu 30 hingga 60 hari.<sup>17</sup>

Epidermis terutama terdiri dari dua jenis sel, yaitu keratinosit dan sel dendritik. Keratinosit berbeda dari sel dendritik karena memiliki jembatan interseluler dan banyak sitoplasma yang dapat distaining. Epidermis menyimpan sejumlah populasi sel lain, seperti melanosit, sel Langerhans, dan sel Merkel, tetapi jenis sel keratinosit terdiri dari mayoritas sel sejauh ini. Epidermis umumnya dibagi menjadi empat lapisan sesuai dengan morfologi dan posisi keratinosit ketika mereka berdiferensiasi menjadi sel-sel tanduk, termasuk lapisan sel basal (*stratum germinativum*), lapisan sel skuamosa (*stratum spinosum*), lapisan sel granular (*stratum granulosum*), dan lapisan sel tanduk (*stratum korneum*). Tiga lapisan bawah yang membentuk sel-sel epidermis yang hidup dan berinti kadang-kadang disebut sebagai *stratum malpighii* dan *rete malpighii*.<sup>15</sup>

Lapisan basal merupakan lapisan terdalam yang bertumpu pada membran basal dan menempel ke dermis. Lapisan ini adalah lapisan tunggal sel kolumnar. Pada kulit normal, sekitar 30% sel basal sedang mempersiapkan pembelahan (fraksi pertumbuhan).<sup>17</sup> Epidermis adalah jaringan dinamis di mana sel-sel secara konstan dalam gerakan yang tidak sinkron, karena perbedaan populasi sel individu tidak hanya melewati satu sel lain tetapi juga melanosit dan sel Langerhans saat mereka bergerak menuju permukaan kulit.<sup>15</sup>

### **2.1.2 Dermis**

Dermis terletak di antara epidermis dan lemak subkutan. Ini mendukung epidermis secara struktural dan bergizi. Ketebalannya bervariasi, yang paling tebal di telapak tangan dan telapak kaki dan yang paling tipis di kelopak mata dan penis. Di usia tua, dermis menipis dan kehilangan elastisitasnya.<sup>15</sup>

Dermis adalah sistem terpadu dari jaringan ikat fibrous, filamentous, dan amorf yang mengakomodasi masuknya stimulus oleh saraf dan jaringan vaskular yang berasal dari epidermal, fibroblas, makrofag, dan sel mast. Sel-sel lain yang mengandung darah, termasuk limfosit, sel plasma, dan leukosit lainnya, masuk ke dermis sebagai respons terhadap berbagai rangsangan juga. Dermis terdiri dari sebagian besar kulit dan memberikan kelenturan, elastisitas, dan kekuatan tarikan. Hal ini melindungi tubuh dari cedera mekanis, mengikat air, membantu dalam pengaturan panas, dan termasuk reseptor rangsangan sensorik.<sup>17</sup>

Seperti semua jaringan ikat, dermis memiliki tiga komponen: sel, serat dan substansi dasar amorf. Sel-sel utama dermis adalah fibroblas, tetapi ada juga sejumlah kecil sel fagosit mononuklear, limfosit, sel Langerhans, dan sel mast.<sup>17</sup> Dermis sebagian besar terdiri dari jalinan serat, terutama kolagen yang dikemas dalam bundel. Mereka yang berada di dermis papiler lebih halus dibandingkan dengan dermis retikuler yang lebih dalam. Kolagen membentuk 70–80% dari berat kering dermis. Seratnya terdiri dari serat yang lebih tipis, yang pada gilirannya terdiri dari serat mikro yang dibangun dari molekul kolagen individu. Sedangkan, substansi amorf dari dermis sebagian besar terdiri dari dua glikosaminoglikan (asam hialuronat dan dermatan sulfat) dengan jumlah yang lebih kecil dari sulfat heparan dan kondroitin sulfat.<sup>17</sup>

### **2.1.3 Lapisan Subkutan**

Secara embriologis, menjelang akhir bulan kelima sel lemak mulai berkembang di jaringan subkutan. Lobulus sel lemak atau liposit ini dipisahkan oleh septa fibrosa yang terdiri dari pembuluh darah besar dan kolagen. Panniculus bervariasi dalam ketebalan tergantung pada situs kulit. Jaringan subkutan menyediakan tubuh dengan keahlian dan berfungsi sebagai gudang energi. Hormon konversi terjadi di panniculus,

mengubah androstenedione menjadi estrone oleh aromatase. Liposit menghasilkan leptin, sebuah hormon yang mengatur berat badan oleh hipotalamus.<sup>15</sup>

## 2.2 Definisi luka

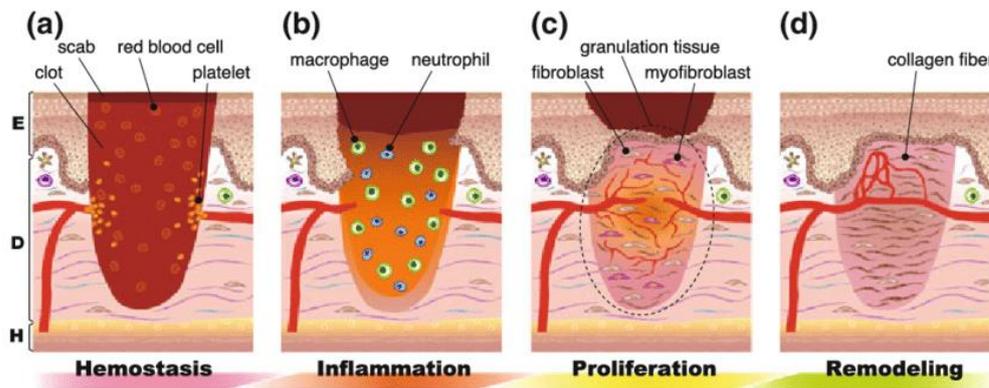
Luka adalah kerusakan atau gangguan terhadap struktur dan fungsi anatomi normal. Hal ini dapat terjadi mulai dari epitel kulit atau bisa lebih dalam, dan dapat meluas ke jaringan subkutan dengan kerusakan pada struktur disekitarnya seperti tendon, otot, pembuluh, saraf, organ parenkim dan bahkan tulang. Proses patologis yang menyebabkan terjadinya luka dapat dimulai secara eksternal maupun internal dari organ yang terlibat dimana etiologi terjadinya dapat secara disengaja maupun merupakan hasil dari suatu proses penyakit. Luka sendiri dapat diklasifikasikan menurut berbagai kriteria, tetapi waktu merupakan faktor yang penting dalam penanganan luka dan perbaikan dari luka itu sendiri. Berdasarkan waktu dari penyembuhannya, luka dapat diklasifikasikan menjadi luka akut dan luka kronis. Luka akut biasanya terjadi dalam waktu 5 sampai 10 hari atau dalam kurun waktu di bawah 30 hari. Luka akut tersebut dapat memperbaiki diri dan berjalan normal sesuai dengan jalur penyembuhan yang tepat waktu dan teratur, dengan hasil akhir dari penyembuhan secara fungsional dan anatomis. Sedangkan pada luka kronis adalah luka yang mengalami kegagalan dalam proses penyembuhan secara tahapan normal dan tidak dapat sembuh secara teratur dan tepat waktu. Terdapat banyak faktor penyebab terjadinya luka kronik diantaranya adalah infeksi, hipoksia jaringan, nekrosis, eksudat dan kelebihan dari kadar sitokin inflamasi.<sup>1</sup>

Selain itu, terdapat beberapa jenis luka dimana dalam pembahasan kali ini dibahas tentang luka sayat. Luka sayat adalah luka yang terjadi karena teriris oleh instrumen yang tajam, misalnya terjadi akibat pembedahan. Ciri-cirinya yaitu luka

terbuka, nyeri, panjang luka lebih besar daripada dalamnya luka.<sup>18</sup> Karakteristik luka sayat ada beberapa, yaitu: luka sejajar, tidak adanya memar berdekatan tepi kulit, tidak adanya `bridging` jaringan memanjang dari satu sisi ke sisi lain dalam luka.<sup>19</sup> Pada penanganan luka sayat, apabila dilakukan dengan tepat, luka biasanya dapat sembuh dengan baik dan memiliki risiko infeksi yang rendah.<sup>2</sup>

### **2.3 Proses Penyembuhan Luka**

Penyembuhan luka adalah proses dinamis yang terdiri dari fase-fase yang berjalan terus menerus, tumpang tindih, dan diprogram secara tepat. Peristiwa setiap fase harus terjadi secara yang tepat dan teratur. Penyembuhan luka yang tertunda atau luka kronis yang tidak sembuh dapat disebabkan oleh karena interupsi, aberansi, atau perpanjangan dalam proses. Luka yang menunjukkan gangguan penyembuhan, termasuk luka akut yang tertunda dan luka kronis, umumnya gagal dalam melalui tahap penyembuhan yang normal. Luka seperti itu sering memasuki keadaan peradangan patologis karena proses penyembuhan yang tertunda, tidak lengkap, atau tidak terkoordinasi.<sup>20</sup> Proses dari regenerasi dan perbaikan jaringan terjadi setelah onset lesi, baik disebabkan karena trauma atau akibat dari kondisi patologis tertentu. Satu lesi diciptakan oleh semua rangsangan yang menghancurkan kontinuitas fisik jaringan fungsional. Rangsangan yang menyebabkan lesi dapat eksternal atau internal, serta fisik, kimia, listrik, atau termal. Selain itu, lesi dapat menyebabkan kerusakan organel khusus atau sel secara keseluruhan. Sel dan peristiwa biokimia dalam penyembuhan luka dapat dibagi menjadi tahap-tahap berikut, yaitu: reaksi inflamasi, proliferasi sel dan sintesis dari unsur-unsur yang membentuk matriks ekstraseluler, dan remodeling. Tahap-tahap ini tidak saling mengecualikan, melainkan tumpang tindih seiring waktu.<sup>5</sup>



Source : *Wound Healing in Mammals and Amphibians: Toward Limb Regeneration in Mammals. Curr Top Microbiol Immunol. 2013*

Gambar 2. Fase penyembuhan luka<sup>21</sup>

Fase-fase yang terjadi dalam tahap penyembuhan luka adalah sebagai berikut:

### 2.3.1 Fase inflamasi

Pada respon inflamasi vaskular, pembuluh darah yang mengalami lesi berkontraksi dan darah yang mengalir akan mengalami koagulasi untuk mempertahankan integritasnya. Koagulasi terdiri dari agregasi dari trombosit dan platelet dalam jaringan fibrin. Jaringan fibrin selain membangun homeostatis dan membentuk penghalang terhadap invasi mikroorganisme, juga mengatur matriks temporer yang digunakan untuk migrasi sel, mengembalikan fungsi kulit sebagai pertahanan, pelindung, dan menjaga integritas dari kulit. Hal ini juga memungkinkan ada migrasi sel ke lingkungan lesi dan merangsang proliferasi fibroblas.<sup>5</sup>

Respon sel dalam tahap inflamasi ditandai dengan masuknya leukosit ke dalam daerah luka. Respon ini berlangsung cepat dan ditandai dengan tanda-tanda utama peradangan, seperti edema dan eritema pada daerah lesi. Umumnya, respon sel akan terbentuk dalam 24 jam pertama dan dapat diperpanjang hingga 2 hari. Aktivasi cepat dari sel imun dalam jaringan juga dapat terjadi, seperti yang terjadi pada mastosit, sel gamma-delta, dan sel Langerhans yang mensekresi kemokin dan

sitokin. Inflamasi merupakan respon jaringan terlokalisir dan protektif yang dilepaskan oleh lesi, dan menyebabkan kerusakan jaringan. Sel-sel inflamasi memerankan peranan penting dalam penyembuhan luka dan berkontribusi pada pelepasan enzim lisosom dan *reactive oxygen species* (ROS), serta memfasilitasi pembersihan dari berbagai debris sel.<sup>5</sup>

Neutrofil dikenal sebagai pengeksresi dari berbagai sitokin pro-inflamasi dan sejumlah besar zat antimikroba yang sangat aktif, seperti ROS, peptida kationik, dan protease di lokasi lesi. Respon inflamasi berlanjut dengan perekrutan aktif neutrofil sebagai respon terhadap aktivitas sistem komplemen, degranulasi platelet, dan degradasi produk bakteri. Hal ini ditarik oleh berbagai sitokin inflamasi yang diproduksi oleh platelet teraktivasi, sel endotelial, dan produk degradasi dari agen patogenik. Dengan cara ini, neutrofil berperan dalam pembersihan jaringan, serta berkontribusi terhadap kematian dari agen penyerang.<sup>5</sup>

Hanya dalam beberapa jam setelah lesi, kuantitas dari neutrofil yang bertransmigrasi melewati sel endotelial tampak pada dinding pembuluh kapiler yang mana teraktivasi oleh sitokin proinflamasi, seperti IL-1, TNF- $\alpha$  (*tumor necrosis factor alpha*), dan IFN- $\gamma$  (interferon gamma) pada lokasi dari lesi. Pada 48 jam setelah terjadinya lesi, migrasi monosit dari pembuluh darah sekitar akan diintensifkan, dan dengan pembentukan makrofag. Hal ini diaktifkan melalui sinyal kemokin dan dapat bertindak sebagai *antigen presenting cells* (APC) dan yang membantu neutrofil dalam proses fagositosis.<sup>5</sup>

Makrofag melakukan fungsi fagositosis terhadap debris otot, serta produksi dan pelepasan sitokin dan faktor pro-angiogenik, inflamasi, dan fibrogenik, dan radikal bebas. Selain itu, makrofag, juga menarik sel inflamasi lainnya ke area luka. Mereka juga menghasilkan prostaglandin, yang berfungsi sebagai vasodilator kuat yang

mempengaruhi permeabilitas pembuluh darah mikro. Bersama-sama, faktor-faktor tersebut menyebabkan aktivasi sel-sel endotel. Sel-sel ini juga menghasilkan *platelet-derived growth factor* (PDGF), *transforming growth factor* (TGF) beta, *fibroblas growth factor* (FGF), dan *vascular endothelial growth factor* (VEGF), yang menonjol sebagai sitokin utama yang mampu merangsang pembentukan jaringan granulasi.<sup>5</sup>

Sel terakhir yang masuk ke lesi pada fase inflamasi adalah sel limfosit, yang ditarik 72 jam setelah terjadinya cedera oleh aksi IL-1, sistem komplemen, dan Immunoglobulin G (IgG). IL-1 memainkan peranan penting dalam regulasi kolagenase, yang diperlukan dalam remodeling kolagen, produksi dan degradasi dari komponen matriks ekstraseluler.<sup>1</sup>

### **2.3.2 Fase proliferasi**

Fase proliferasi ditujukan untuk mengurangi area jaringan lesi dengan kontraksi dan fibroplasia, membangun penghalang epitel yang aktif untuk mengaktifkan keratinosit. Fase ini juga bertanggung jawab dalam penutupan lesi yang meliputi angiogenesis, fibroplasia, dan reepitelialisasi. Proses ini dimulai di lingkungan lesi dalam waktu 48 jam pertama dan dapat berkembang hingga hingga hari ke 14 setelah onset lesi.<sup>5</sup> Fase proliferasi umumnya mengikuti dan tumpang tindih dengan fase inflamasi, dan ditandai oleh proliferasi epitel dan migrasi di atas matriks sementara di dalam luka (reepitelisasi). Dalam lapisan dermis yang mengalami perbaikan, fibroblas dan sel endotel adalah jenis sel yang paling menonjol dan mendukung pertumbuhan kapiler, pembentukan kolagen, dan pembentukan jaringan granulasi di tempat cedera. Dalam lapisan bawah luka, fibroblas menghasilkan kolagen serta glikosaminoglikan dan proteoglikan, yang merupakan komponen utama dari matriks ekstraseluler.<sup>20</sup>

Hal ini ditandai dengan angiogenesis, pengendapan kolagen, pembentukan jaringan granulasi, kontraksi luka dan epitelisasi. Secara klinis, proliferasi diamati dengan adanya jaringan merah berkerikil, atau kolagen, di dasar luka dan melibatkan penggantian jaringan dermal (kadang-kadang jaringan subdermal pada luka yang lebih dalam) serta kontraksi luka. Sel fibroblas mengeluarkan kerangka kolagen yang kemudian menyebabkan terjadi regenerasi kulit dan bertanggung jawab untuk kontraksi luka. Angiogenesis (proses perkembangan pembuluh darah baru) terjadi melalui pericytes yang meregenerasi lapisan luar kapiler dan sel endotel yang menghasilkan lapisan. Sel keratinosit bertanggung jawab untuk epitelisasi. Pada tahap akhir epitelisasi, kontraktur terjadi ketika keratinosit berdiferensiasi untuk membentuk lapisan luar pelindung, atau stratum korneum. Dasar luka harus terisi dari bawah ke atas dengan kolagen dan harus dipertahankan dalam lingkungan yang optimal (keseimbangan kelembaban yang tepat) sebelum sel-sel epitel akan mulai berkembang biak dan bermigrasi di seluruh permukaan luka untuk menutup luka. Sel-sel epitel bermigrasi berdasarkan penghambatan kontak, yang berarti mereka menyebar hanya dalam satu lapisan dan hanya di mana mereka bersentuhan satu sama lain dan kerangka kolagen dari dasar luka bergranulasi.<sup>22</sup>

Dalam penyembuhan luka, faktor pertumbuhan menyebabkan sel-sel membelah untuk menghasilkan sel-sel baru dan sitokin menyebabkan sel-sel ini bermigrasi ke tempat yang diperlukan. Keseimbangan antara *matrix metalloproteinase* (MMP) dan *tissue inhibitors of metalloproteinase* (TIMP) menghasilkan jaringan bersih dari jaringan baru. Sebaliknya, pada luka kronis yang terhenti dengan pembelahan sel dan migrasi yang tersupresi, tingkat sitokin inflamasi dan MMP yang tinggi dan rendahnya tingkat TIMP dan faktor pertumbuhan menghambat perkembangan sel baru. Keadaan peradangan kronis ini dapat disebabkan oleh peningkatan beban

bakteri, adanya jaringan yang dihaluskan, iskemia kronis atau trauma berulang, yang harus diatasi agar luka dapat berlanjut ke penyembuhan.<sup>22</sup>

### **2.3.3 Fase remodeling**

Tahap ketiga penyembuhan adalah remodeling, yang dimulai dua hingga tiga minggu setelah timbulnya lesi dan dapat berlangsung selama satu tahun atau lebih.<sup>5</sup> Pada fase ini bertanggung jawab dalam proses pembentukan epitel baru dan formasi jaringan ikat baru.<sup>1</sup> Tujuan inti dari tahap remodeling adalah untuk mencapai kekuatan tarik maksimum melalui reorganisasi, degradasi, dan resintesis dari matriks ekstraseluler. Pada tahap akhir penyembuhan lesi ini, upaya untuk memulihkan struktur jaringan normal terjadi, dan jaringan granulasi secara bertahap dirombak, membentuk jaringan parut yang kurang seluler dan vaskular dan yang menunjukkan peningkatan progresif dalam konsentrasi serat kolagen.<sup>5</sup>

Tahap ini ditandai dengan pematangan unsur-unsur dengan perubahan mendalam pada matriks ekstraseluler dan resolusi peradangan awal. Segera setelah permukaan lesi ditutupi oleh monolayer keratinosit, migrasi epidermisnya berhenti dan epidermis bertingkat baru dengan lamina basal yang terletak di bawah dibuat kembali dari perbatasan luka ke bagian dalamnya.<sup>5</sup> Dalam fase remodeling dan penataan kembali kolagen, kolagen tipe III awalnya diproduksi oleh fibroblas yang kemudian digantikan oleh tipe I kolagen. Sering dengan berjalannya waktu, fibrin saling silang-menyilang dan sejajar sepanjang garis ketegangan untuk meningkatkan kekuatan penarikan dari luka. Suatu subgrup fibroblas yang disebut myofibroblas juga membantu dalam pengerutan luka. Kekuatan tarik tidak akan lebih dari 70 - 80% dari apa yang terjadi sebelum cedera terjadi.<sup>22</sup> Sintesis dan pemecahan kolagen serta remodeling matriks ekstraseluler berlangsung terus menerus dan keduanya

cenderung menyeimbangkan ke keadaan yang stabil sekitar 3 minggu setelah cedera.<sup>1</sup>

Selama proses pematangan dan remodeling, sebagian besar pembuluh darah, fibroblas, dan sel-sel inflamasi menghilang dari area luka karena proses migrasi, apoptosis, atau mekanisme lain yang tidak diketahui oleh sebab kematian sel. Fakta ini mengarah pada pembentukan bekas luka dengan jumlah sel yang berkurang. Pada tahap selanjutnya, fibroblas dari jaringan granulasi mengubah fenotipe mereka dan mulai untuk sementara mengekspresikan aktin otot polos, yang telah menerima nama spesifik myofibroblas.<sup>5</sup> Enzim matriks metaloproteinase yang diproduksi oleh neutrofil, makrofag dan fibroblas dalam luka, bertanggung jawab untuk degradasi kolagen. Kepadatan fibroblas dan makrofag selanjutnya berkurang oleh karena apoptosis. Seiring dengan berjalannya waktu, pertumbuhan kapiler terhenti, aliran darah ke area luka menurun dan aktivitas metabolik di daerah luka berkurang. Hasil akhirnya adalah bekas luka yang matang dengan penurunan jumlah sel dan pembuluh darah dan kekuatan tarik yang tinggi.<sup>1</sup>

## **2.4 Standar Tatalaksana Luka**

Tujuan utama dalam tatalaksana pada berbagai jenis luka adalah untuk membuat lingkungan penyembuhan luka yang optimal dengan membentuk vaskularisasi yang baik, *wound bed* yang stabil dan penyembuhan luka yang tepat waktu. Tujuan lain dari penyembuhan luka adalah untuk keselamatan baik untuk keselamatan nyawa maupun untuk keselamatan anggota tubuh, mempertahankan fungsi anggota tubuh dan restorasi bentuk dengan hasil estetis yang optimal.<sup>23</sup>

Prinsip dalam penutupan luka adalah:<sup>23</sup>

1. Asesmen luka baik secara menyeluruh maupun secara local.

2. Melakukan analisa luka atau kecacatan dengan menilai lokasi, ukuran dan keterlibatan dengan jaringan sekitar.
3. Pendekatan secara multidisiplin untuk memperbaiki penyebab yang mendasari terjadinya luka tersebut.
4. Penutupan luka dengan menggunakan jaringan yang hampir serupa pada defek luka apabila memungkinkan.
5. Pilih teknik yang tepat dalam penutupan luka dengan memastikan keselamatan, mempertahankan fungsi dan estetik yang optimal.

Umumnya untuk luka insisi yang simple, dimanajemen dengan penutupan luka secara lokal yang disusul dengan kontraksi (penyembuhan secara sekunder), penutupan secara primer, *split thickness skin graft* (SSG), atau dengan flap jaringan lokal.<sup>23</sup>

## **2.5 Peran Neutrofil dalam proses penyembuhan luka**

Neutrofil pertama kali ditarik menuju daerah luka dalam waktu 24-36 jam setelah terjadinya cedera.<sup>1</sup> Neutrofil adalah bagian dari sistem kekebalan tubuh bawaan, dan sel-sel ini melakukan berbagai fungsi selama proses perbaikan luka normal. Neutrofil direkrut dalam jumlah tinggi setelah cedera jaringan. Neutrofil adalah sel inflamasi pertama yang bersirkulasi untuk bergerak ke lokasi luka, dengan peran utama mereka dalam pertahanan tubuh terhadap infeksi.<sup>24</sup> Neutrofil memfagosit debris dan mikroorganisme yang merupakan pertahanan lini pertama tubuh terhadap infeksi,<sup>22</sup> termasuk terhadap *reactive oxygen species* (ROS).<sup>6</sup> Neutrofil dikenal karena mengekspresikan banyak sitokin proinflamasi dan sejumlah besar zat antimikrobal yang sangat aktif, seperti ROS, peptida kationik, dan protease di lokasi lesi. Respon inflamasi berlanjut dengan perekrutan aktif dari neutrofil

sebagai respons terhadap aktivasi sistem komplemen, degranulasi platelet dan produk-produk degradasi dari bakteri. Hal ini menarik banyak sitokin inflamasi yang diproduksi oleh trombosit teraktivasi, sel endotel, dan produk degradasi agen patogen. Dengan cara ini, neutrofil adalah sel aktif dan merekrut utama yang berperan dalam pembersihan jaringan, serta berkontribusi terhadap kematian agen penyerang.<sup>5</sup> Neutrofil menghasilkan zat antimikroba dan protease yang membantu membunuh dan mendegradasi patogen potensial. Neutrofil merupakan bagian dari respon inflamasi dan dapat mensekresikan sinyal yang memperkuat peradangan pada tahap awal penyembuhan, dan juga bertindak sebagai sinyal untuk menutup fase penyembuhan inflamasi. Dalam luka penyembuhan normal, neutrofil mengalami apoptosis setelah melakukan fungsi mereka di tempat luka. Neutrofil apoptosis akhirnya ditelan oleh makrofag, dan serapan sel-sel apoptosis oleh makrofag memberikan sinyal yang kuat untuk resolusi peradangan. Hal ini diduga memungkinkan luka untuk melanjutkan melalui fase penyembuhan berikutnya. Oleh karena itu, perekrutan lanjutan neutrofil aktif atau penumpukan neutrofil apoptosis karena apoptosis neutrofil yang tidak diregulasi atau berkurangnya izin oleh makrofag kemudian dapat memperpanjang inflamasi dan berkontribusi pada perkembangan luka kronis. Dengan demikian, selain menggunakan kemampuan fagositik mereka untuk membersihkan luka patogen potensial, neutrofil juga membantu mengatur peradangan dan menghasilkan mediator yang mengaktifkan sel-sel lain yang penting untuk proses perbaikan.<sup>24</sup>

## **2.6 Peran angiogenesis pada proses penyembuhan luka**

Angiogenesis merupakan komponen penting dalam proses penyembuhan dan didefinisikan sebagai formasi kapiler baru dari pembuluh darah yang sudah ada.

Angiogenesis yang tidak adekuat dapat menyebabkan gangguan penyembuhan luka dan pembentukan luka kronis.<sup>25,26</sup> Tiga sampai lima hari setelah jaringan cedera, kapiler baru terlihat di dasar luka sebagai jaringan granulasi, yang bertindak sebagai matriks untuk proliferasi pembuluh darah, migrasi fibroblas dan kolagen baru.<sup>27</sup> Hal ini berasal dari tampilan granular dari jaringan yang baru terbentuk ketika diinsisi dan diperiksa secara visual. Banyak kapiler baru memberikan neostroma dengan tampilan granularnya. Makrofag, fibroblas, dan pembuluh darah bergerak ke ruang luka sebagai satu kesatuan.<sup>28</sup> Setelah terjadinya luka, *microvascular endothelial cells* (ECs) yang melapisi permukaan bagian dalam pembuluh darah diaktifkan oleh tekanan oksigen rendah / hipoksia dan faktor proangiogenik, termasuk *vascular endothelial growth factor* (VEGF).<sup>26</sup> Kapiler yang bertambah banyak tersebut membawa oksigen dan mikronutrien ke jaringan yang sedang tumbuh dan membuang produk limbah katabolik. Pembuluh darah ini hadir di endothelium yang mengeluarkan faktor parakrin untuk mendorong kelangsungan hidup sel yang berdekatan dengan mencegah apoptosis atau kematian sel terprogram.<sup>27</sup> Makrofag menyediakan sumber sitokin yang berkelanjutan yang diperlukan untuk menstimulasi fibroplasia dan angiogenesis, fibroblas membangun matriks ekstraseluler baru yang diperlukan untuk mendukung pertumbuhan sel, dan pembuluh darah membawa oksigen dan nutrisi yang diperlukan untuk mempertahankan metabolisme sel.<sup>26</sup>

Angiogenesis dapat diinduksi sebagai respons terhadap cedera melalui faktor-faktor pro dan anti angiogenik yang ada di seluruh tubuh. Faktor pro angiogenik terdiri dari trombin, fragmen fibrinogen, thymosin- $\beta$ 4 dan faktor pertumbuhan. Faktor pertumbuhan angiogenik disimpan dalam platelet dan sel-sel inflamasi yang beredar dalam aliran darah. Produksi faktor-faktor ini diatur oleh gen yang

diekspresikan sebagai respons terhadap hipoksia dan peradangan, seperti faktor *hypoxia induced factor* (HIF) dan siklooksigenase-2 (COX-2). Pertumbuhan vaskular tersupresi ketika ada keseimbangan fisiologis antara stimulator angiogenesis dan inhibitor.<sup>27</sup>

Meskipun terjadinya granulasi pada tahap proliferasi, tetapi angiogenesis dimulai segera setelah cedera jaringan dan dimediasi pada seluruh proses penyembuhan luka.<sup>27</sup> Tahapan angiogenesis pada proses penyembuhan luka terbagi menjadi 5 tahap, yaitu:

#### 1. Tahap inisiasi angiogenesis

Pendarahan dan hemostasis pada luka memulai angiogenesis. Reseptor sel untuk faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF) diregulasi oleh trombin pada luka. Sel-sel endotel yang terkena trombin juga melepaskan gelatinase A (MMP-2), yang mempromosikan pembubaran membran basal lokal, suatu langkah awal yang diperlukan dari angiogenesis. Trombosit melepaskan beberapa faktor pertumbuhan, termasuk *platelet-derived growth factor* (PDGF), VEGF, *transforming growth factor* (TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ ), *basic fibroblas growth factor* (bFGF), angiopoietin-1 (Ang-1). Faktor-faktor tersebut merangsang proliferasi endotel, migrasi dan pembentukan pembuluh.<sup>27</sup>

#### 2. Tahap amplifikasi angiogenesis

Makrofag dan monosit melepaskan banyak faktor angiogenik, termasuk PDGF, VEGF, Ang-1, TGF- $\alpha$ , bFGF, interleukin-8 (IL-8) dan *tumor necrosis factor* alpha (TNF- $\alpha$ ) ke dasar luka selama fase inflamasi

memperkuat angiogenesis lebih lanjut. Beberapa faktor pertumbuhan (PDGF, VEGF dan bFGF) bersinergi dalam kemampuan mereka untuk melakukan vaskularisasi jaringan. Pembelahan secara enzimatik dari fibrin menghasilkan fragmen fibrin E, yang merangsang angiogenesis secara langsung dan juga meningkatkan efek VEGF dan bFGF. Ekspresi enzim COX-2 yang dapat diinduksi selama tahap inflamasi penyembuhan juga mengarah pada produksi VEGF dan promotor angiogenesis lainnya.<sup>27</sup>

### 3. Tahap proliferasi vaskular

Hipoksia merupakan salah satu faktor pendorong yang penting untuk angiogenesis luka. Ekspresi gen HIF-1 $\alpha$ , karena gradien hipoksia antara jaringan yang terluka dan sehat memicu produksi VEGF. VEGF hadir di kedua jaringan luka dan eksudat. VEGF juga dikenal sebagai faktor permeabilitas vaskular karena meningkatkan permeabilitas kapiler. Hipoksia juga menyebabkan produksi sel endotel *nitric oxide* (NO). NO menyebabkan vasodilatasi dan angiogenesis untuk meningkatkan aliran darah lokal.<sup>27</sup>

### 4. Tahap stabilisasi vaskular

Stabilisasi vaskular diatur oleh Ang-1, *tyrosine kinase with immunoglobulin-like and EGF-like domains 2* (Tie-2), sel otot polos dan pericytes. Produksi PDGF dan rekrutmen sel otot polos dan pericytes ke pembuluh darah yang baru terbentuk diatur oleh pengikatan Ang-1 ke reseptornya Tie-2 pada sel endotel yang teraktivasi. Defisiensi PDGF menyebabkan terbentuknya pembuluh darah yang belum matang.<sup>27</sup>

### 5. Tahap supresi vaskular

Angiogenesis ditekan pada tahap akhir penyembuhan. Ketika hipoksia jaringan pulih dan peradangan mereda, tingkat faktor pertumbuhan menurun

pada luka. Pericytes yang menstabilkan sel-sel endotel mensekresikan bentuk penghambatan TGF- $\beta$  yang diaktifkan yang menghambat proliferasi vaskular. Produk pembelahan kolagen XVIII, endostatin, hadir di sekitar *vascular base membrane* (VBM), dan menghambat vaskularisasi luka.<sup>27</sup>

## 2.7 Seledri (*Apium graveolens* (Linn.))

Penggunaan tanaman obat untuk mengobati penyakit umum telah lazim sejak zaman kuno dan berbagai bagian tanaman digunakan untuk kesehatan masyarakat.<sup>29</sup> Saat ini, tanaman herbal tidak ada dalam daftar terapi utama. Namun, karena toksisitas dan efek samping dari obat yang tidak diinginkan, terapi herbal kembali mendapatkan momentum. Tanaman obat sekarang merupakan obat yang diterima sebagai terapi komplementer dan alternatif dalam kombinasi dengan terapi lini utama.<sup>30</sup>

Salah satu tanaman obat yang mudah didapat di Indonesia adalah daun seledri. Daun seledri selain dipergunakan sebagai bumbu masakan, ternyata dapat juga dipergunakan sebagai tanaman obat. Tanaman seledri memiliki khasiat sebagai bahan obat tradisional yang memiliki efek anti hipertensi, diuretik ringan dan antiseptik pada saluran kemih serta antirematik. Zat kimia yang terkandung dalam seledri diantaranya flavonoid, saponin, tanin, apiin, minyak atsiri, apigenin, kolin, vitamin A, B, C, zat pahit asparagine. Senyawa flavonoid merupakan metabolit sekunder terbesar yang dimiliki pada tanaman seledri. Senyawa flavonoid memiliki aktifitas antioksidan, antiinflamasi, antihepatotoksik, antitumor, antimikrobial, antiviral dan pengaruh terhadap sistem syaraf pusat.<sup>28</sup>

### 2.7.1. Taksonomi Tanaman Seledri (*Apium graveolens* (Linn.))

Kingdom – Plantae

Subkingdom – Tracheobionta

Superdivision – Spermatophyta

Division – Magnoliopsida

Subclass – Rosidae

Order – Apiales

Family – Apiaceae

Genus – *Apium*

Species – *A. graveolens* Linn<sup>30</sup>



Gambar 3. Seledri (*Apium graveolens* (Linn.))

### 2.7.2. Deskripsi *Apium graveolens* (Linn.)

Seledri adalah tanaman herba tahunan yang tumbuh hingga ketinggian 60 hingga 90 cm.<sup>32</sup> Akar dari *Apium graveolens* (Linn.) dangkal dan menebal di tengah. Batangnya bercabang, berkerut, berair, dan kaku. Daunnya menyirip dan berovatum. Ukuran bunga kecil dan berwarna putih / putih kehijauan.<sup>30</sup> Perbungaan pada *Apium graveolens* (Linn.) berupa bunga majemuk berbentuk payung, tanpa atau dengan tangkai, dengan anak payung 4-12 cabang, ukuran 1,5-2 mm, dengan daun mahkota berwarna putih kehijauan atau putih kekuningan, panjang mahkota bunga 0,5-0,75 mm. Panjang buah rata-rata 1 mm.<sup>33</sup>

### 2.7.3. Senyawa yang terkandung dalam *Apium graveolens* (Linn.)

Seledri mengandung flavonoid, saponin, tanin 1%, minyak asiri 0,033%, flavo-glukosida (apiin), apigenin, fitosterol, kolin, lipase, pthalides, asparagine, zat pahit, vitamin (A, B dan C), apiin, minyak menguap, apigenin dan alkaloid. Apigenin berkhasiat hipotensif. Kandungan kimia dari daun seledri dapat dilihat pada tabel dibawah ini:<sup>34</sup>

**Tabel 2. Kandungan Kimia dalam Daun seledri.**<sup>34</sup>

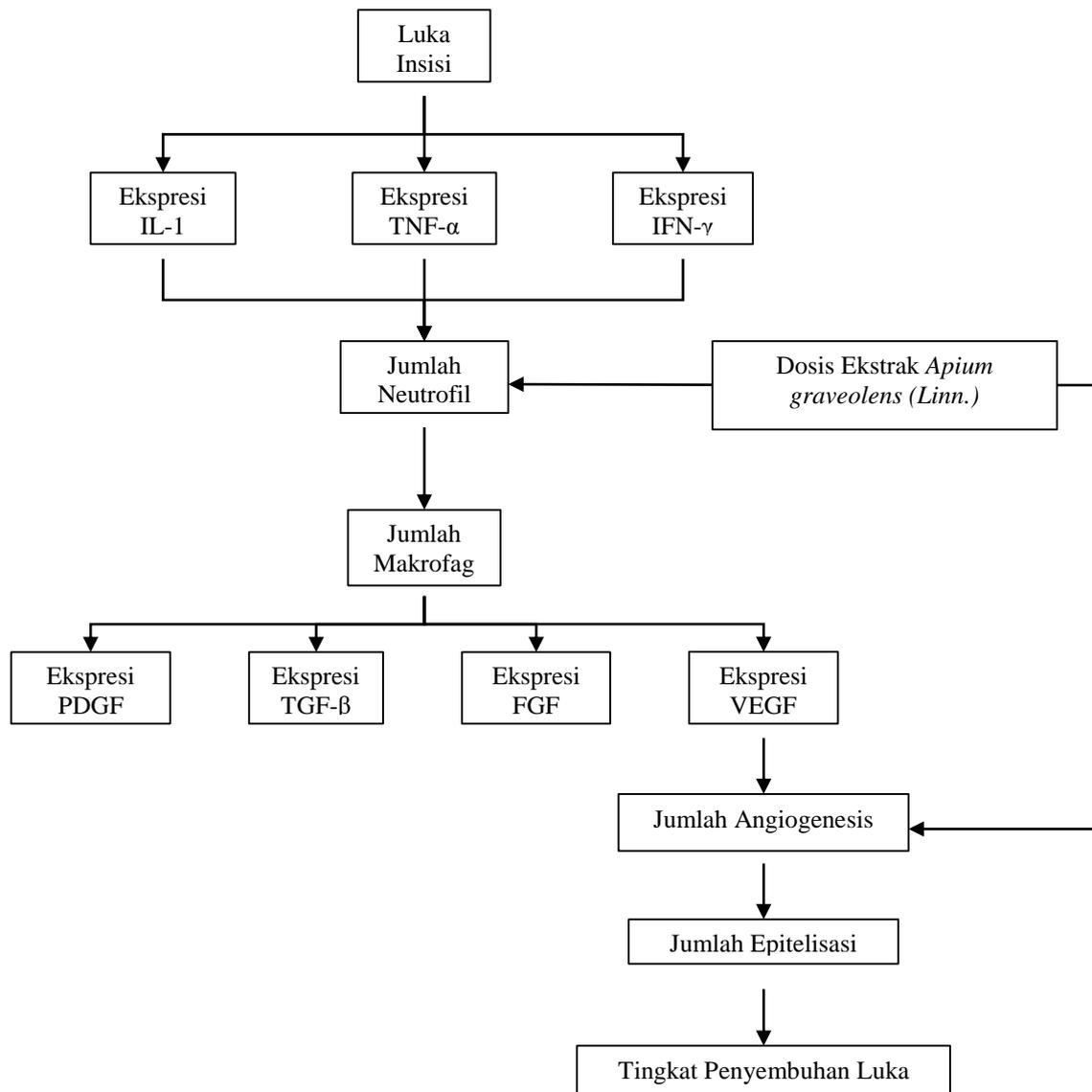
Komponen	Jumlah	Komponen	Jumlah
Air	93 ml	Kalium	400 mg
Lemak	0,1 gr	Magnesium	85 mg
Karbohidrat	4 gr	Vitamin A	130 IU
Protein	0,9 gr	Vitamin K	15 mg
Serat	0,9 gr	Vitamin C	15 mg
Kalsium	50 mg	Riboflavin	0.05 mg
Besi	1 mg	Tiamin	0.03 mg
Fosfor	40 mg	Nikotinamid	0.4 mg
Yodium	150 mg		

#### 2.7.4. Manfaat *Apium graveolens* (Linn.)

Seledri telah digunakan dalam sistem pengobatan tradisional untuk mengobati kejang dan masalah perut dan sebagai diuretik, pencahar, dan obat penenang. Seledri juga digunakan untuk menurunkan tekanan darah dan ada juga laporan untuk penggunaan seledri dalam masalah sendi. Biji seledri dikenal sebagai stimulan libido dalam sistem pengobatan tradisional karena peran protektifnya terhadap sodium valproate pada testis dan penguatan profil sperma. Hal ini juga meningkatkan sekresi air susu ibu.<sup>30</sup> Di samping itu, seledri juga memiliki aktivitas farmakologi seperti aktivitas hepatoprotektif, antioksidan, larvasidal, antikanker, antidiabetes, antiinflamasi, antimikroba, analgesik, antiplatelet.<sup>30</sup>

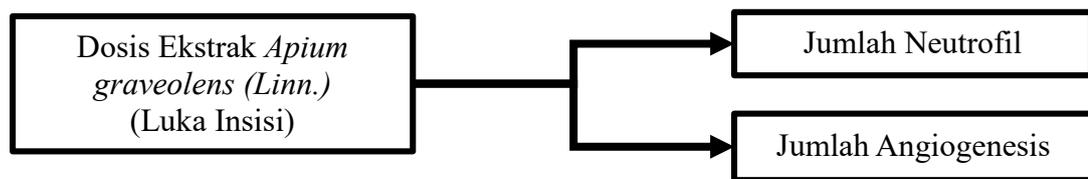
Senyawa flavonoid merupakan metabolit sekunder terbesar yang dimiliki pada tanaman seledri.<sup>31</sup> Flavonoid dilaporkan mempengaruhi proses peradangan dan memiliki efek anti-inflamasi serta aktivitas imunomodulator in-vitro dan in-vivo. Ekstrak *Apium graveolens* (Linn.) mengandung apiin yang menunjukkan aktivitas penghambatan yang signifikan pada nitrit oksida (NO) di mana nitrit oksida (NO) yang dihasilkan oleh *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) adalah salah satu mediator inflamasi.<sup>14</sup>

## 2.8 Kerangka teori



Gambar 4. Kerangka Teori

## 2.9 Kerangka konsep



Gambar 5. Kerangka Konsep

## 2.10 Hipotesis Penelitian

### 2.10.1 Hipotesis Mayor

Pemberian ekstrak *Apium graveolens* (Linn.) menyebabkan jumlah neutrofil menjadi lebih rendah dan jumlah angiogenesis menjadi lebih tinggi pada luka insisi tikus *Sprague Dawley*.

### 2.10.2 Hipotesis Minor

1. Jumlah neutrofil pada luka insisi tikus *Sprague Dawley* yang diberikan krim ekstrak *Apium graveolens* (Linn.) lebih rendah dibandingkan dengan yang diberikan krim tanpa ekstrak *Apium graveolens* (Linn.) dan setara dengan yang diberikan krim gentamisin 0,1%.
2. Jumlah angiogenesis pada luka insisi tikus *Sprague Dawley* yang diberikan krim ekstrak *Apium graveolens* (Linn.) lebih tinggi dibandingkan dengan yang diberikan krim tanpa ekstrak *Apium graveolens* (Linn.) dan setara dengan yang diberikan krim gentamisin 0,1%
3. Jumlah neutrofil pada luka insisi tikus *Sprague Dawley* yang diberikan ekstrak *Apium graveolens* (Linn.) 70% lebih rendah dibandingkan dengan yang diberikan ekstrak *Apium graveolens* (Linn.) 50%.

4. Jumlah angiogenesis pada luka insisi tikus *Sprague Dawley* yang diberikan ekstrak *Apium graveolens* (Linn.) 70% lebih tinggi dibandingkan dengan yang diberikan ekstrak *Apium graveolens* (Linn.) 50%.